



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA - ISB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**ESTUDOS BIOTECNOLÓGICOS DO PIQUIÁ (*Caryocar Villosum* (Aubl.)
Pers.) PARA APLICAÇÃO EM COSMÉTICO**

DIANA FRANÇA DE SOUZA

ORIENTADOR: Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Júnior

CO-ORIENTADORA: Prof.^a Dra. Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi

COARI-AM

2023

DIANA FRANÇA DE SOUZA

**ESTUDOS BIOTECNOLÓGICOS DO PIQUIÁ (*Caryocar villosum* (Aubl.)
Pers.) PARA APLICAÇÃO EM COSMÉTICO**

Dissertação apresentada ao Programa Multi-institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Júnior

Co-orientadora: Prof.^a Dra. Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi

COARI-AM

2023

DIANA FRANÇA DE SOUZA

**ESTUDOS BIOTECNOLÓGICOS DO PIQUIÁ (*Caryocar Villosum* (Aubl.)
Pers.) PARA APLICAÇÃO EM COSMÉTICO**

Dissertação apresentada ao Programa Multi-institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovado em (21/06/2023)

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Júnior- Presidente
Instituto Militar de Engenharia – IME

Prof.^a Dra. Carolina Arruda Farias - Membro
Instituto de Saúde e Biotecnologia – ISB – UFAM

Prof. Dr. Luiz Antonio, de Oliveira – Membro
Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia - INPA

Ficha Catalográfica

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

S729e Souza, Diana França de
Estudos biotecnológicos do piquiá (*Caryocar villosum* (Aubl.) Pers.) para aplicação em cosmético / Diana França de Souza, Valdir Junior. 2023
114 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Valdir Florêncio da Veiga Júnior
Coorientadora: Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

1. *Caryocar villosum*. 2. compostos fenólicos. 3. bioativos. 4. fitocosméticos. I. Junior, Valdir. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Dedico essa pesquisa aos meus queridos pais Antônio e Solange, meus irmãos e a minha querida filha Vivianny Kemelly, que foram os pilares desse mestrado. Muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força e coragem, nos momentos de desânimo, diversas vezes pensei em desistir, mas Ele não permitiu que isso acontecesse e por tantas pessoas que ele colocou em meu caminho para que essa pesquisa fosse realizada, sozinha eu jamais teria conseguido,

GRATIDÃO SENHOR!

À minha querida família, meus pais: Antônio e Solange, meus irmãos Heide, Hozana e Jackson, sobrinhos Fernanda, Karolayne, Beatricy, Bruno, Breno e Felipinho, aos meus cunhados Glauberson, Artemizia, Sidiney, Eliomara, Cleuzenir, Ivo, Lílian, Emanuele, Arielly, Rosiane e Felipe, à minha sogra, Maria da Conceição, ao meu esposo Clodair e minha querida e amada filha Vivianny Kemelly, minha eterna gratidão por todo apoio, incentivo, orações e compreensão pelos muitos momentos que estive ausente.

À Universidade Federal do Amazonas/Manaus, especialmente ao departamento de Química de Produtos Naturais Q-bioma pelo suporte durante a realização das pesquisas.

Agradeço ao professor Doutor Anderson Guimarães, pela confiança por ter permitido nosso acesso ao laboratório mesmo sem nos conhecer. Obrigada pelos conhecimentos transmitidos que jamais serão esquecidos, sua humildade é admirável.

Às doutorandas em Química pelo PPGQ, filhas do Q-BIOMA Isadora Moita e Sarah Flores, aos mestrandos Jheiffison Clemente e Midiã, pelo companheirismo e ensinamentos que foram enriquecedores durante a realização da pesquisa no Q-bioma, vocês foram fundamentais nesse processo, nossos momentos do café serão inesquecíveis.

À coordenadora do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, professora Dra. Rosany Picolloto.

Ao Instituto Leônidas e Maria Deane/FIOCRUZ Amazônia, na pessoa da Profa. Dra. Patrícia Puccinelli Orlandi Nogueira e a MSc. Ivanildes dos Santos.

Ao Instituto de Pesquisa da Amazônia na pessoa do professor Doutor Carlos Cleomir e ao senhor Souza, responsável pelo setor de liofilização do INPA, obrigada pelo apoio durante a liofilização de minhas amostras rsrs.

Ao Dr. em química Henrique, do ISB/Coari, pela colaboração.

À Universidade Federal do Amazonas, especialmente à querida diretora Professora Dra. Vera Lúcia Imbiriba Bentes pelo apoio,

À acadêmica em biotecnologia do ISB/Coari Ana Letícia pelo apoio.

Ao prof. Dr. Felipe, pelas análises espectrométricas no Laboratório de Espectrometria de Massas (LABCEM) Manaus.

Ao Prof. Dr. Emerson Silva Lima e sua equipe do laboratório Biophar Faculdade de Ciências Farmacêuticas/UFAM pelo apoio nos ensaios antioxidantes.

Aos professores da banca: Prof^ª. Dra. Carolina de Arruda Farias, Prof^ª. Dra. Waldireny Caldas e Prof. Dr. Luiz Antonio de Oliveira, obrigada, suas contribuições foram valiosas e fundamentais nesse trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior, pela paciência que teve comigo, serei eternamente grata pela orientação, pelos conhecimentos que compartilhou durante esse projeto, foram aprendizados que levarei para a minha vida.

À minha co-orientadora Prof^ª. Dra. Klenicy Yamaguchi, por sempre acreditar em mim, não mediu esforço para apoiar no que fosse preciso, obrigada pela paciência, sempre tirava um tempo para nos orientar, serei eternamente grata por todo o conhecimento, que foram fundamentais para o meu crescimento pessoal, vocês foram incríveis.

Ao meu grupo de pesquisa ABC do Instituto militar/IME/RJ, pela amizade e companheirismo: Yasmim Cunha, Suzane Leão, Suyane, Ian Gael, Fernanda, Ana Thainá, Esther, Raissa, Clícia e Josiane suas sugestões, incentivo e apoio durante esses dois anos foram enriquecedoras.

Aos meus colegas mestrandos por todo apoio e incentivo Cristiana Rodrigues, Márcia Pinheiro da Silva, Geziane Gomes, Urlânia Alves, Lucas, minha eterna gratidão a vocês que não mediram esforços, obrigada pela parceria que tivemos durante esse período, vivemos experiências incríveis que resultou em grandes aprendizados de vida.

Aos colegas professores: Clemilton Coutinho, Atacildo Fontes, Irene, Joaci Castro, Lioneuza, Ogerlane, Maria Ayane, Maria Elijane, Lidiane, Eldilene, Elioney Pereira e Elma pelo apoio, incentivo e por ouvirem com carinho sobre minha pesquisa.

Aos professores: Raimundo Nonato, Rodrigo Alves, Gerlane Lima, Francisco Pereira e Walneiza Góes, o apoio de vocês foi fundamental, serei grata eternamente a vocês.

**“Os dias prósperos não vêm por acaso; nascem de uma fadiga e persistência”
(Henry Ford)**

RESUMO

Os frutos Amazônicos são ricos em compostos bioativos, que possuem diversos benefícios à saúde humana. Esses frutos são promissores em aplicações farmacológicas e cosméticas, associando ao grande potencial antioxidante, antimicrobiano, anti-inflamatório, cicatrizante e baixa toxicidade. Destaca-se neste estudo (*Caryocar villosum*), popularmente conhecido como piquiá, um fruto nativo da região Amazônica, uma espécie que pertence à família Caryocaraceae. A polpa desse fruto após o cozimento é a parte mais explorada pela população, o óleo extraído é aplicado na medicina tradicional de alguns povos. São ricos em compostos fenólicos, dentre eles o ácido gálico e os flavonoides. Esta pesquisa investigou os constituintes químicos nos extratos hidroalcoólico obtidos a partir de cascas, polpas e semente de *Caryocar villosum*. Foram utilizados métodos de extração por exaustão para obtenção dos extratos. As substâncias fenólicas foram estimadas pelo método de *Folin*, técnicas (CCD) Cromatografia em Camada Delgada e CLAE/MS (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de massa) no modo negativo, foram empregadas para quantificar e identificar os perfis químicos dos extratos de piquiá. Foram avaliados o potencial antioxidante *in vitro* frente aos radicais DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) e ABTS*+ (Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) e testados quanto à citotoxicidade e viabilidade celular. Os resultados de CCD e CLAE/MS, revelaram a presença de íons majoritários, característicos de compostos fenólicos nos extratos: ácido gálico, ácido elágico, ácido elágico ramnosídeo, flavonoides e saponinas. Os testes de fenóis e flavonoides, bem como os ensaios antioxidantes, confirmaram a presença desses compostos correlacionando com a literatura. Através do método *Folin Ciocalteu* foi estimado um teor significativo de fenóis totais nos extratos da casca externa, 57,66%, casca interna (mesocarpo) 53,40%, polpa, 26,80% e semente, 54,50%. Os testes de flavonoides totais, revelaram maiores teores nos extratos das cascas externas, 95,41% e casca interna, 84,41%, comparados aos extratos de polpas, 27,12%, % e sementes, 44,98%. Nos ensaios antioxidantes os extratos de CE, CI, P e S demonstraram atividade frente aos radicais DPPH, apresentaram valores de IC₅₀ de 27,11; 53,48; 79,49 e 56,07 e no método ABTS*+ valores de IC₅₀ de 16,13; 33,79; 36,81 e 50,74. Os extratos ECEP, ECIP, EPP e ESP, quando submetidos ao teste de viabilidade, frente à linhagem VERO (linhagem celular sadia derivada de rins de macaco verde), apresentaram a viabilidade de 100% em relação ao controle de celular. Com base nesses resultados, foi possível elaborar fitocosmético artesanal (perfume e formulação hidratante), a partir de extrato glicólico de piquiá, os mesmos foram submetidos aos testes preliminares e ensaios físico-químicos, para verificar a estabilidade, segundo os padrões da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2012. Além disso, na análise sensorial, o produto elaborado obteve uma ótima aceitação pelos participantes convidados. Essas descobertas ressaltam o potencial dos frutos amazônicos como o piquiá (*C. villosum*), viabilizando a aplicação na indústria cosmética devido às suas propriedades antioxidantes e substâncias bioativas, como os compostos fenólicos.

Palavras-chave: *Caryocar villosum*, compostos fenólicos, bioativos, fitocosméticos.

ABSTRAT

Amazonian fruits are rich in bioactive compounds, which have several benefits to human health. These fruits are promising in pharmacological and cosmetic applications, associating the great antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory, healing and low toxicity potential. It stands out in this study (*Caryocar villosum*), popularly known as pi-quia, a native fruit of the Amazon region, species that belongs to the Caryocaraceae family. The pulp of this fruit after cooking is the part most exploited by the population, the extracted oil is applied in the traditional medicine of some peoples. They are rich in phenolic compounds, among them gallic acid and flavonoids. This research investigated the chemical constituents in the hydroalcoholic extracts obtained from the bark, pulp and seed of *Caryocar villosum*. Exhaustion extraction methods were used to obtain the extracts. The phenolic substances were estimated by the *Folin* method, techniques (CCD) Thin Layer Chromatography and HPLC/MS (High Performance Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry) in the negative mode, were used to quantify and identify the chemical profiles of the piquia extracts. The in vitro antioxidant potential against DPPH* (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazine) and ABTS*⁺ (2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radicals were evaluated and tested for cytotoxicity and cell viability. The results of TLC and HPLC/MS revealed the presence of major ions, characteristic of phenolic compounds in the extracts: gallic acid, ellagic acid, ellagic acid, rhamnoside, flavonoids and saponins. The phenolics and flavonoids tests, as well as the antioxidant tests, confirmed the presence of these compounds correlating with the literature. Through the *Folin Ciocalteu* method, a significant content of total phenols was estimated in the extracts of the outer bark, 57.66%, inner bark (mesocarp) 53.40%, pulp, 26.80% and seed, 54.50%. The total flavonoids tests revealed higher levels in the outer bark extracts, 95.41% and inner bark 84.41%, compared to the pulp extracts, 27.12%, % and seeds, 44.98%. In the antioxidant tests, the EC, CI, P and S extracts showed activity against DPPH radicals, presented IC₅₀ values of 27.11; 53.48; 79.49 and 56.07 and in the ABTS*⁺ method IC₅₀ values of 16.13; 33.79; 36.81 and 50.74. The ECEP, ECIP, EPP and ESP extracts, when submitted to the viability test against the VERO lineage (healthy cell line derived from green monkey kidneys), showed viability of 100% in relation to the cell control. Based on these results, it was possible to elaborate artisanal phytocosmetics (perfume and moisturizing formulation) from piquia glycolic extract, which were submitted to preliminary tests and physical-chemical tests, to verify stability, according to the standards of ANVISA. (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2012. Furthermore, in the sensory analysis, the elaborated product was highly accepted by the invited participants. These findings highlight the potential of Amazonian fruits such as piquia (*C. villosum*), enabling application in the cosmetic industry due to their antioxidant properties and bioactive substances, such as phenolic compounds.

Keywords: *Caryocar villosum*, phenolic compounds, bioactives, phytocosmetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição das espécies do gênero <i>Caryocar</i>	15
Figura 2 – Mapa de Ocorrências confirmadas da espécie <i>C. villosum</i> Piquiá.....	16
Figura 3 – Partes da espécie <i>C. villosum</i> (Piquiá): a- árvore inteira; b- árvore com flor; c- floração; d- árvore com fruto e- fruto inteiro.....	17
Figura 4 – Frutos de <i>Caryocar villosum</i> (piquiá) a e b - frutos inteiros; c - fruto cortado....	18
Figura 5 – Estruturas dos fenólicos presentes em algumas espécies de <i>Caryocar</i>	28
Figura 6 – Estrutura básica dos flavonoides.....	29
Figura 7 – Estrutura da quercetina.....	29
Figura 8 – Estruturas dos carotenoides em algumas espécies do gênero <i>Caryocar</i>	30
Figura 9 – Mecanismo de reação frente ao radical DPPH*.....	31
Figura 10 - Mecanismo de reação frente ao radical ABTS ⁺	32
Figura 11 – Esquema de reação entre o reagente <i>Folin-Ciocalteu</i>	33
Figura 12 – Esquema de um sistema cromatográfico.....	34
Figura 13 – Esquema básico de um equipamento de CLAE.....	35
Figura 14 – Representação do processo de espectrometria de massas.....	36
Figura 15 – Rendimento dos extratos liofilizados	54
Figura 16 – Placas cromatográficas dos extratos (EHCECIPSP).....	56
Figura 17 – Placas cromatográficas revelada com diferentes reveladores.....	56
Figura 18 – Ensaio antioxidante (colorimétrico) frente ao radical livre DPPH*	59
Figura 19 – Ensaio antioxidante (colorimétrico) frente ao radical livre ABTS ⁺	60
Figura 20 – Estimativa de FT (ensaio colorimétrico) pelo método de <i>Folin Ciocalteu</i>	62
Figura 21 – Cromatograma do extrato hidroalcoólico de casca externa de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	70
Figura 22 – Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da casca externa de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	70
Figura 23 – Cromatograma do extrato hidroalcoólico de casca Interna de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	71
Figura 24 – Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da casca externa de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	71
Figura 25 – Cromatograma do extrato hidroalcoólico de polpa de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	72

Figura 26 – Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da polpa de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	72
Figura 27– Cromatograma do extrato hidroalcoólico da semente de <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	73
Figura 28 – Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da <i>Caryocar villosum</i> no modo negativo de ionização.....	73
Figura 29 – Espectro das fragmentações dos íons 169,197,301,291 <i>m/z</i> no modo negativo.....	74
Figura 30 – Espectro das fragmentações dos íons 331,447,469,483 <i>m/z</i> no modo negativo.....	76
Figura 31 – Espectro das fragmentações dos íons 433,463,785 <i>m/z</i> no modo negativo.....	78
Figura 32 – Porcentagem de inibições de viabilidade dos extratos ECEP, ECIP, EPP e ESP, a linhagem epitelial renal derivada de rim de macaco verde africano (VERO).....	80
Figura 33– Formulação hidratante elaborada a partir da casca de piquiá.....	82
Figura 34 – Amostras de creme submetidas ao teste de estabilidade preliminar.....	85
Figura 35 – Amostras de creme submetidas a centrifugação.....	86
Figura 36 – Teste de pH da forrmulação hidratante.....	87
Figura 37 – Teste de densidade da forrmulação hidratante.....	88
Figura 38 – Teste de espalhabilidade da forrmulação hidratante.....	89
Figura 39 – Perfume de extratos glicólicos piquiá.....	90
Figura 40 – Análise sensorial do perfume e do creme hidratante de piquiá	91

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Porcentagem de fenóis totais dos extratos de <i>C. villosum</i>.....	62
Gráfico 2 – Porcentagem de flavonoide totais dos extratos de <i>C. villosum</i>.....	63
Gráfico 3 – Resultado A da análise sensorial	92
Gráfico 4 – Resultado B da análise sensorial.....	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Sistemas de eluentes testados nos extratos de <i>C. villosum</i>	42
Tabela 2 – Rendimento da extração hidroalcoólica de cascas, polpa e semente de piquiá.....	54
Tabela 3 – Atividade antioxidante de captura do radical DPPH* e ABTS*+	58
Tabela 4 – Estimativa da concentração de Fenóis e de Flavonoides Totais nos extratos de <i>C. villosum</i>	61
Tabela 5 – Identificação dos principais íons (<i>m/z</i>) nos extratos de <i>C. villosum</i>	64
Tabela 6 – Resultados preliminares de estabilidade e organoléptico da formulação.....	83
Tabela 7 – Parâmetros físico-químicos das formulações da casca do piquiá.....	86

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Estudos químicos e biológicas comprovadas do gênero <i>Caryocar</i>.....	22
Quadro 2 – Aplicações cosméticas a partir de extratos do gênero <i>Caryocar</i>.....	25
Quadro 3 – Estudos de substâncias identificadas na espécie de <i>Caryocar villosum</i>.....	38
Quadro 4 – Íons detectados nos extratos hidroalcoólico do fruto de <i>Caryocar villosum</i> (modo negativo de ionização)	65
Quadro 5 – Componentes utilizados na formulação hidratante	82

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1 – Metodologia da 1ª da etapa do projeto.....	39
Fluxograma 2 – Elaboração do perfume, do hidratante de piquiá e análises de estabilidade, físico-químicos e sensorial.....	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

Abs – Absorbância
ABTS - Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico
AcetoET – Acetato de etila
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCD – Cromatografia em Camada Delgada
CI50 – Concentração inibitória em 50% de parasitomia
CL/EM – Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas
CLAE/HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CS50 – Capacidade de sequestro em 50% dos radicais livres
DMSO – Dimetilsulfóxido
DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EM – Espectrometria de massas
EH – Extrato hidroalcoólico
EHCEP – Extrato hidroalcoólico casca externa de piquiá
EHCIP – extrato hidroalcoólico casca interna de piquiá
EHPP – Extrato hidroalcoólico polpa de piquiá
EHSP – Extrato hidroalcoólico de sementes de piquiá
EtOH – Solvente etanol
ESI – Fonte de ionização electrospray
FIOCRUZ – Fundação Instituto Oswaldo Cruz
FT - Fenólicos totais
Hex -Hexano
MeOH – Metanol
MM – Massa molecular
m/z – Razão massa carga
NP/PEG - Difenilboriloxietilamina/polietilenoglicol
pH- Potencial de hidrogênio
Q-biomA – Química de biomoléculas da Amazônia
SISGEN- Sistema de Patrimônio Genético da Amazônia
UV – Ultravioleta
UV-VIS – Ultravioleta - visível

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	8
1 OBJETIVOS	10
1.1 Objetivo Geral	10
1.2 Objetivos Específicos	10
2 REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 Recursos da Amazônia	11
2.2 Bioativos naturais	12
2.3 Antioxidantes naturais e radicais livres	13
2.4 Cosméticos	13
2.5 Gênero <i>Caryocar</i>	14
2.5.1 Espécie <i>Caryocar villosum</i> (piquiá)	16
2.5.2 Estudos químicos e atividades biológicas comprovadas do gênero <i>Caryocar</i>	19
2.5.3 Aplicações cosméticas comprovadas a partir das espécies de <i>Caryocar</i>	24
2.5.4 Principais classes químicas presentes nas espécies de <i>Caryocar</i>	26
2.5.4.1 Fenóis	27
2.5.4.2 Flavonoides	28
2.5.4.3 Carotenoides	30
2.6 Análise de capacidade antioxidante <i>in vitro</i> frente aos radicais DPPH* e ABTS⁺⁺	31
2.6.1 Análise de captura do radical livre DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidrazina)	31
2.6.2 Análise de captura do radical (ABTS ⁺⁺)	32
2.7 Fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu	32
2.8 Flavonoides totais	33
2.9 Técnicas Cromatográficas e Espectrométricas	33
2.9.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	34
2.9.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	35
2.9.3 Espectrometria de massas - <i>Full scan</i>	36
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	39
3.1 Obtenção dos frutos Piquiá	40
3.2 Obtenção dos Extratos das diferentes partes do fruto	40
3.3 Análises Cromatográficas	41
3.3.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	41

3.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massas (CLAE/MS)	42
3.4 Determinação do perfil de fenóis totais pelo método Folin-Ciocalteu	42
3.5 Determinação do perfil de Flavonoides Totais	43
3.6 Métodos para avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	43
3.6.1 Ensaio eliminação de Radical livre DPPH*	43
3.6.2 Ensaio eliminação de radical livre ABTS*+	44
3.7 Ensaio biológico <i>in vitro</i>	45
3.7.1. Avaliação da Citotoxicidade e viabilidade celular	45
3.8 Preparação para a elaboração do perfume e do creme a partir do piquiá	48
3.8.1 Processamento do material vegetal.....	48
3.8.2 Extração glicólica do material vegetal de piquiá para o perfume.....	48
3.8.3 Elaboração do perfume a partir de piquiá.....	48
3.8.4 Extração glicólica da casca do piquiá para formulação hidratante.....	49
3.9 Elaboração do fitocosmético artesanal a partir da casca do piquiá.....	49
3.10 Avaliação preliminar de estabilidade da formulação.....	49
3.10.1 Estresse térmico	49
3.10.2 Ciclo gela descongela	50
3.10.3 Fotoperíodo ou exposição luminosa (15 dias)	50
3.10.4 Sem exposição luminosa por 15 dias	50
3.11 Análises físico-químicos	50
3.11.1 Teste de pH	50
3.11.2 Teste de densidade	51
3.11.3 Teste de Centrifugação	51
3.11.4 Teste de Espalhabilidade	52
3.12 Avaliação organoléptica	52
3.13 Análise sensorial	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1 Rendimentos dos extratos de cascas, polpa e semente de piquiá.....	54
4.2 Perfil cromatográfico dos extratos de cascas e sementes de piquiá	55
4.3 Estimativa da atividade antioxidante frente aos radicais DPPH* e ABTS*+ <i>in vitro</i>...	57
4.3.1 Atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH*	58
4.3.2 Atividade antioxidante frente ao radical livre ABTS*+	60
4.4 Quantificação de Fenóis Totais nos extratos de <i>Caryocar villosum</i>.....	61

4.5	Quantificação de Flavonoides nos diferentes extratos de <i>Caryocar villosum</i>	63
4.6	Caracterização química de <i>Caryocar villosum</i> por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de massas (CLAE/MS)	64
4.7	Análise biológica	79
4.7.1	Ensaio <i>in vitro</i> citotoxicidade e viabilidade dos extratos de <i>Caryocar villosum</i>	79
4.8	Formulação do Produto Biotecnológico	82
4.8.1	Análise de estabilidade da formulação hidratante	83
4.8.2	Estresse térmico	84
4.8.3	Ciclo gela descongela	84
4.8.4	Fotoperíodo ou exposição solar	85
4.8.5	Amostra sem exposição solar	85
4.9	Parâmetros físico-químicos	85
4.9.1	Teste de Centrifugação	86
4.9.2	Teste de pH	87
4.9.3	Densidade	88
4.9.4	Teste de Espalhabilidade	88
4.10	Análise do perfume elaborado	89
4.11	Análise sensorial	90
CONCLUSÃO		95
REFERÊNCIAS		97
ANEXOS		114

INTRODUÇÃO

O envelhecimento cutâneo da população é causado por fatores externos e internos. Dessa forma, a tendência é valorizar novas opções com propriedades biológicas que propiciam à saúde da pele. Estudos indicam que haver uma grande procura por ativos da biodiversidade brasileira, o que motiva o desenvolvimento de formulações visando uma aparência jovem. A população tem demonstrado cada vez mais preferência por produtos naturais com essa potencialidade (HENRIQUE & LOPES, 2017; ROXO et al., 2020; YAMAGUCHI & SOUZA, 2020).

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor de frutas no mundo, que abrange a floresta Amazônica, detentora de uma rica biodiversidade de espécies, destacando as frutíferas, com princípios ativos antioxidantes benéficos à saúde humana, associados aos compostos fenólicos, flavonoides, saponinas e carotenoides presentes. Essas biomoléculas estimulam a pesquisa e despertam o interesse das indústrias farmacêuticas e cosméticas (LORENZO et al., 2020; CANGUSSU et al., 2021).

Dentre essas espécies está o (*Caryocar villosum* (Alb.) Pers., popularmente conhecido como piquiá, espécie nativa da Floresta Amazônica do gênero *Caryocar*, pertencente à família Caryocaraceae. Representa um enorme potencial econômico às famílias. Comumente em algumas regiões, a polpa é consumida após o cozimento, a mesma possui 60% de óleo e 17,10% de fibras, ambos são comercializados nas feiras livres, muito utilizado para fritura de peixes. A casca corresponde a 65% do fruto, parte não comestível e pouco valorizada, tradicionalmente usada em algumas enfermidades como anti-inflamatório e cicatrizante (MIRANDA et al., 2019; IBIAPINA et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2021).

Estudos na literatura demonstram que essa espécie possui propriedades antioxidantes, que promove à saúde da pele e combate ao envelhecimento precoce cutâneo. Nos trabalhos de Yamaguchi (2016), com extratos etanólico e hidroalcoólico da casca e semente do piquiá, identificaram substâncias fenólicas, como o ácido elágico, gálico e flavonoides, propiciando resultados positivos para a capacidade de eliminação de radicais livres ABTS^{*+} e DPPH^{*}, baixa citotoxicidade em fibroblastos humanos, além da elevada capacidade fotoprotetora.

Conclusões que motivaram Maciel (2018), caracterizar os extratos de cascas e sementes da mesma espécie em aplicações biotecnológicas. Os estudos revelaram semelhança no perfil químico, como a presença de fenólicos e flavonoides. Os extratos mostraram-se antioxidante e exibiram atividade moderada frente as células sadias VERO, correlacionando com o trabalho anterior.

As características química e biológica da espécie, impulsionaram também os trabalhos de Leal e colaboradores (2016), na elaboração de uma formulação à base da polpa de piquiá. E posteriormente, as cascas, polpa e semente da mesma espécie foram fontes de matéria-prima nos trabalhos de Yamaguchi & Souza (2021), no desenvolvimento de um sabonete esfoliante para a pele. O extrato da polpa liofilizada da mesma espécie possibilitou uma formulação tópica cicatrizante cutânea humana e veterinária (OLIVEIRA et al., 2020).

O interesse por este trabalho surgiu a partir de estudo com o gênero *Caryocar*, com efetividade em cosméticos e fármacos comprovados na literatura. Sendo a espécie *C. villosum* disponível na região a ser investigada. Dentre os requisitos estudados, a capacidade antioxidante foi uma das condições primordiais a ser considerada. Seguindo a linha de pesquisa do programa em biotecnologia, faz-se necessário conhecer o potencial dos ativos presentes e viabilizar a aplicabilidade em cosméticos (MIRANDA et al., 2019).

Para a caracterização química dos extratos utilizaram-se técnicas cromatográficas e espectrométricas, para os testes antioxidantes foram realizados método *in vitro* e os ensaios biológicos pelo método de Alamar Blue, na qual foi avaliado a viabilidade celular e citotoxicidade dos extratos. O presente trabalho propõe um estudo dos extratos de piquiá, visando os constituintes químicos, principalmente as substâncias fenólicas, viabilizando a aplicabilidade na formulação hidratante. Desta forma, pretende-se colaborar na investigação química e biológica dessa espécie, estimulando a pesquisa para o desenvolvimento de cosmético (CONCEIÇÃO et al., 2017; YAMAGUCHI & SOUZA, 2020).

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

- ✓ Realizar estudos biotecnológicos para identificar os principais bioativos presentes nos extratos das cascas, polpa e semente do piquiá (*Caryocar villosum*) para aplicação em cosméticos.

1.2 Objetivos Específicos:

- ✓ Caracterizar o perfil químico dos extratos de piquiá por métodos cromatográficos e espectrométricos;
- ✓ Estimar a concentração de fenóis e flavonoides dos extratos e avaliar a atividade antioxidante frente aos radicais livres DPPH e ABTS;
- ✓ Determinar a citotoxicidade e a viabilidade dos extratos mediante ensaios biológicos *in vitro*;
- ✓ Elaborar fitocosméticos (perfume, formulação hidratante) a partir de extratos glicólicos de piquiá;
- ✓ Realizar as análises físico-químicas e sensorial do produto elaborado.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Recursos da Amazônia

O bioma Amazônico, considerado detentor de um dos maiores patrimônios do planeta, possui uma riqueza que abrange outros países vizinhos, sua vegetação é extremamente rica e diversificada, superando qualquer outro ambiente tropical. É a maior floresta tropical do mundo com aproximadamente quatro milhões de quilômetros quadrados, ocupando 66% do território brasileiro: Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Roraima, Rondônia, Mato Grosso, Maranhão e Tocantins (SHANLEY & MEDINA, 2005; ASTOLFI-FILHO, SILVA & BIGI, 2014; SILVA, 2016b; PAULA-ELIAS et al., 2020; MATOS et al., 2021; MEDEIROS et al., 2022).

Entretanto, a floresta amazônica está cada vez mais ameaçada. Os habitats naturais das espécies estão sendo comprometidos. A incidência de queimadas e desmatamento se elevou nos últimos anos, com um aumento crescente entre 2019 e 2020. A falta de políticas públicas de proteção e conservação da biodiversidade comprometem as espécies que fazem parte dessa riqueza. Além de sérios prejuízos para a fauna e flora, essa prática provoca mudanças sérias no clima, ocasionando o aquecimento global e o surgimento de algumas doenças como o câncer de pele (SHANLEY & MEDINA, 2005; MIRANDA et al., 2019; MARCOVITCH & PINSKY, 2020).

A vegetação da região Amazônica está distribuída em: mata de terra firme (terra alta), onde se desenvolvem árvores de grande porte, como a castanheira (*Bertholletia excelsa*) e o piquiá (*Caryocar villosum*). Enquanto a mata da várzea e a mata de igapó são áreas de terras planícies, propícias a alagações. A vegetação da várzea tende a ser menor (arbustos). As inundações comprometem as plantações. Contudo, esse fenômeno natural proporciona diversos benefícios aos povos: a renovação do solo e o aparecimento de peixes para a sobrevivência de suas famílias (SHANLEY & MEDINA, 2005; LOPES et al., 2020).

Apesar da mega biodiversidade, verifica-se escassez de estudos sobre o potencial biológico da mesma. Milhares de espécies animais e vegetais do bioma Amazônico aguardam serem desvendadas pela ciência. Todavia, essa exploração dos recursos naturais com princípios ativos, precisa ser de forma consciente, visando contribuir com a ciência, porém com o devido respeito às comunidades locais (XAVIER, 2011; ASTOLFI-FILHO, SILVA & BIGI, 2014; YAMAGUCHI, 2017; BIAZOTTO et al., 2019; PAULA-ELIAS et al., 2020; BEZERRA, 2021; VEIGA-JUNIOR & YAMAGUCHI, 2022).

Além disso, a região é conhecida por seus extensos rios, lagos e igarapés, ambientes capazes de armazenar milhares de espécies. Pesquisas científicas têm-se destacado ao estudar os frutos da região e despertado a necessidade de explorar seu potencial (ASTOLFI-FILHO, SILVA & BIGI, 2014; MOREIRA-ARAÚJO et al., 2019; MATOS et al., 2021; LIMA et al., 2020; MEDEIROS et al., 2022; VEIGA-JUNIOR & YAMAGUCHI, 2022).

2.2 Bioativos naturais

As espécies de frutas são detentoras de substâncias biologicamente promissoras ao desenvolvimento de novos produtos biotecnológicos, que promovem a saúde e contribuem significativamente com o desenvolvimento da economia da região (SILVA et al., 2005; BARRETO et al., 2009; ASTOLFI-FILHO, SILVA & BIGI, 2014; GUAADAOUÏ et al., 2014; YAMAGUCHI et al., 2014; DING et al., 2017; SOUZA et al., 2021).

A utilização de produtos naturais para o tratamento de enfermidades da pele tem acompanhado a própria história humana. Registros mostram, os princípios ativos de substâncias oriundas de produtos naturais, que serviram de estudos para a fabricação de fármacos e cosméticos. Relatos científicos indicam, que é possível encontrar nos frutos propriedades terapêuticas: cicatrizantes, antioxidantes, anti-inflamatórios, antitumorais e antimicrobianas (FEARNSIDE, 2006; ANICETO et al., 2017; TOSTES et al., 2019; LAMARÃO et al., 2020; LORENZO, SANTOS & LANNES, 2020; PAULA-ELIAS et al., 2020; VEIGA-JUNIOR et al., 2022).

As plantas conseguem produzir, armazenar e distribuir os metabólitos secundários. Dessa forma é possível explorá-los integralmente: caule, folhas, polpas, cascas e sementes (caroços). Os resíduos dos frutos, assim como as polpas e óleo extraído da polpa ou “amêndoa” (semente) possuem alto potencial. Faz-se necessário desvendar suas potencialidades, a fim de identificar substâncias importantes como os fenólicos, flavonoides e carotenoides, conhecidos como antioxidantes ou bioativos capazes de reduzir efeitos danosos de espécies oxidativas que causam danos às células do organismo (DALARMI et al., 2012; YAMAGUCHI et al., 2014; SILVA, 2016b; LEÃO et al., 2017; MACIEL, 2018; ROXO et al., 2020; BEMFEITO et al., 2021; CANGUSSU et al., 2021).

Apesar de fazerem parte da suplementação alimentar de alguns povos, as frutas possuem características bioativas ideais para aplicação nas indústrias. A disponibilidade de ativos nas frutíferas tem motivado a pesquisa e o desenvolvimento de novas formulações. Estudos comprovam que a incorporação desses bioativos proporcionam hidratação e firmeza à

pele. Essa tendência tem crescido e aplicada em várias partes do mundo, inclusive, em países da União Europeia, Estados Unidos e Japão (ARAÚJO et al., 2005; MORAIS; GUTJAHR, 2012; PIRES; GRISOTTO & GRISOTTO, 2017; TORRES et al., 2018b; BICHARA et al., 2019; JARAMILLO et al., 2019; LOPES et al., 2020).

2.3 Antioxidantes naturais e radicais livres

Naturalmente, os produtos naturais possuem antioxidantes naturais capazes de retardar a velocidade de um processo oxidativo e combater os radicais livres. Os radicais livres são moléculas instáveis que podem causar danos celulares e contribuir para o envelhecimento celular, além de provocar diversas doenças (MIRANDA-VIELA et al., 2009; LEAL et al., 2016; GULCIN, 2020; LAMARÃO et al., 2020; SILVA et al., 2020; BEZERRA, 2021; FREITAS et al., 2021; BRAGA et al., 2022).

Os fatores ambientais são os principais responsáveis pelo envelhecimento cutâneo da população. A população de pele clara, é mais suscetível do que um indivíduo da pele morena, devido à quantidade de melanina (proteína) que faz parte da composição da pele dos seres humanos (SHAH & MAHAJAN, 2013; ROXO et al., 2020).

Pesquisas investigam os compostos antioxidantes presentes em alimentos e vegetais, como polifenóis, carotenoides, flavonoides, vitamina C e vitamina E, que protegem as células contra o estresse oxidativo (FINKEL & HOLBROOK, 2000; PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008; BARRETO et al., 2009; DEL VALLE, 2011; MINATEL et al., 2017; MACIEL, 2018; BATISTA; BOTELHO & AMARANTE, 2022; ENGWA et al., 2022).

2.4 Cosméticos

Historicamente, desde os tempos remotos, os produtos cosméticos eram usados pelo homem para embelezamento e uso pessoal. Registros revelam que os egípcios pintavam sua pele para proteger-se do sol, os mesmos utilizavam também gordura animal, vegetal, cera de abelha e mel no preparo de cremes para a pele. Atualmente no Brasil esses recursos nativos da Região Amazônica são abundantes e passaram a ser mais explorados, e a indústria farmacêutica tem ciência que o mercado é promissor e expansível em cosméticos (CHORILLI et al., 2009; SILVA, 2016b; LOPES et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020).

O termo ‘cosmético’ origina da palavra grega *kosmeticós*, que significa “hábil em adornar”. Segundo Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), cosmético se constitui

em: “preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas partes do corpo (SILVA, 2016a; SARETTA & BRANDÃO, 2021; ABIHPEC, 2022)”.

O Brasil está em quarto lugar no mercado mundial de maior consumidor em cosmético e em 3º lugar no ranking global de países que mais lançam produtos anualmente, (1º, EUA, 2º, China). A produção local é predominante, alavancando a geração de emprego entre 2020 e 2021, superando a própria dinâmica da economia nacional com oportunidade de trabalho em torno dos 5,6 milhões, conforme o anuário 2022 da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos (ABIHPEC, 2022).

Cada vez mais se busca por alternativas que proporcionem beleza e bem-estar à população. Os cuidados com a pele impulsionam o consumo por produtos que contenham formulação capaz de hidratar, que estimule a produção de colágeno e regenere os tecidos cutâneos, além de retardar o envelhecimento precoce causado pelos raios ultravioleta (UV) (FERRO et al., 2006; PIANOVSKI et al., 2008; SILVA, 2016a; HENRIQUE & LOPES, 2017; BICHARA et al., 2019; FREITAS et al., 2021; ABIHPEC, 2022).

A perspectiva do mercado aponta o crescimento de cosméticos, como uma tendência nos próximos anos, no desenvolvimento de diversos produtos utilizados pela população com ação farmacológica e cosmética: protetor, creme e loções para a pele, sabonetes, óleos de banho, xampu e condicionador para cabelos com tintura, xampu e condicionador para cabelos quebradiços, emulsões (ARAÚJO et al., 2005; LOPES et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2021).

2.5 Gênero *Caryocar*

A Caryocaraceae é uma família botânica amplamente distribuída em todo o Centro e América do Sul, compreendendo 25 espécies, divididas em dois gêneros: *Caryocar* e *Anthodiscus*. Nessa família, as árvores são de médio e grande porte, com trifolioladas, estipuladas, opostas ou folhas alternadas e flores actinomórficas, sua distribuição cobre um extenso território da Costa Rica ao Paraguai (**figura 1**). No Brasil é encontrada em maior abundância na Amazônia (MAGID et al., 2006a; MARTINS & GRIBEL, 2007; XAVIER et al., 2011; LEAL et al., 2016; TORRES et al., 2018b).

Figura 1 - Distribuição das espécies do Gênero *Caryocar*



Fonte: <http://www.discoverlife.org>.

O gênero *Caryocar* apresenta 16 espécies, das quais 12 estão presentes no Brasil. Todas endêmicas do continente americano, com ocorrência exclusiva na região neotropical. Esse nome é devido ao formato de seus frutos (do grego, *caryon* núcleo, noz) e *kara* (cabeça). Dentre as espécies estudadas destacamos *C. brasiliense*, *C. coriaceum* e *C. villosum* (PIANOVSKI et al., 2008; CHISTÉ et al., 2012a; SOARES, 2018; MACIEL, 2018; MIRANDA et al., 2019; BEZERRA, 2021).

Caryocar brasiliense Camb, popularmente conhecido como pequi ou pequiheiro, espécie frutífera nativa do cerrado brasileiro, distribuído em áreas adjacentes da Bolívia e Paraguai. Árvore de até 10 m de altura, geralmente menor, formando um arbusto. Essa espécie é rica em bioativos, sendo a mais importante fonte alimentar de carotenoides nativos do Cerrado, superior aos encontrados na espécie de *Caryocar villosum* (ROESLER et al., 2008; LEÃO et al., 2017; TORRES et al., 2018a; LEÃO et al., 2018; NASCIMENTO-SILVA & NAVES 2019; BARROS et al., 2020; CALDEIRA et al., 2020; BRITO et al., 2022; CANGUSSU et al., 2021; BRAGA et al., 2022; PRANCE & PIRANI, 2022).

Caryocar coriaceum é endêmica do Brasil e encontrada nos cerrados do Brasil Central e nordeste, sobretudo nas chapadas no domínio da caatinga, árvore de até 15 m de altura. Ambas as espécies possuem sinonímia no nome vulgar, popularmente conhecidos como pequi, pequi-branco ou piqui-preto. Pequi é uma palavra indígena, significa cobertura espinhosa (TORRES et al., 2018b; MIRANDA et al., 2019; PRANCE & PIRANI, 2022).

Os frutos desse gênero é o principal órgão explorado, sendo amplamente inserido no preparo de alimentos funcionais, como geleias, óleos, cremes e licores. Comumente a polpa do

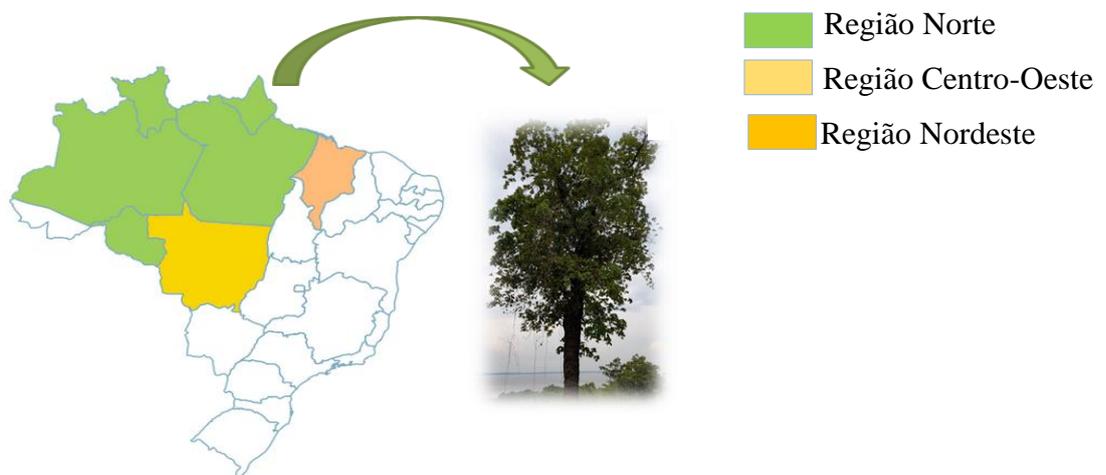
fruto é consumida após o cozimento. Tradicionalmente são utilizadas na incorporação de farinhas, cookies e no chocolate do cacau (KERNTOPF et al., 2013; TORRES et al., 2018b; MIRANDA et al., 2019; YAMAGUCHI & SOUZA, 2020; IBIAPINA et al., 2021).

A polpa dessa espécie é rica em minerais como, zinco e magnésio, rica em cálcio e polifenóis. Tanto a polpa quanto à amêndoa contém alto teor de lipídeos, proteínas, fibras alimentares e cinzas, ácidos graxos monoinsaturados. A casca do pequi (exocarpo e mesocarpo externo) também é rica em fibras, além de compostos fenólicos, principalmente ácido gálico, ácido elágico e quercetina (NASCIMENTO-SILVA & NAVES 2019; MIRANDA et al., 2019; ALMEIDA et al., 2022).

2.5.1 Espécie *Caryocar villosum* (piquiá)

Caryocar villosum, é uma espécie distribuída na Amazônia central e oriental, no Brasil: (Amazonas, Roraima, Amapá, Pará, Maranhão, Rondônia e Mato Grosso) **figura 2**, com predominância na região amazônica, sendo a maior concentração em terra firme. É comumente conhecida na região norte do Brasil como Piquiá, é uma árvore de grande porte, uma das maiores oleaginosas da região, variando de 40 a 50 metros de altura, seu tronco com até 2,5 m diâmetro, **figura 3** (MARTINS e GRIBEL, 2007; XAVIER et al., 20011; MORAIS; GUTJAHR, 2012; LEAL et al., 2016; LEANDRO et al., 2018; PRANCE & PIRANI, 2022).

Figura 2 - Mapa de Ocorrências confirmadas da espécie *C. villosum* (Piquiá)

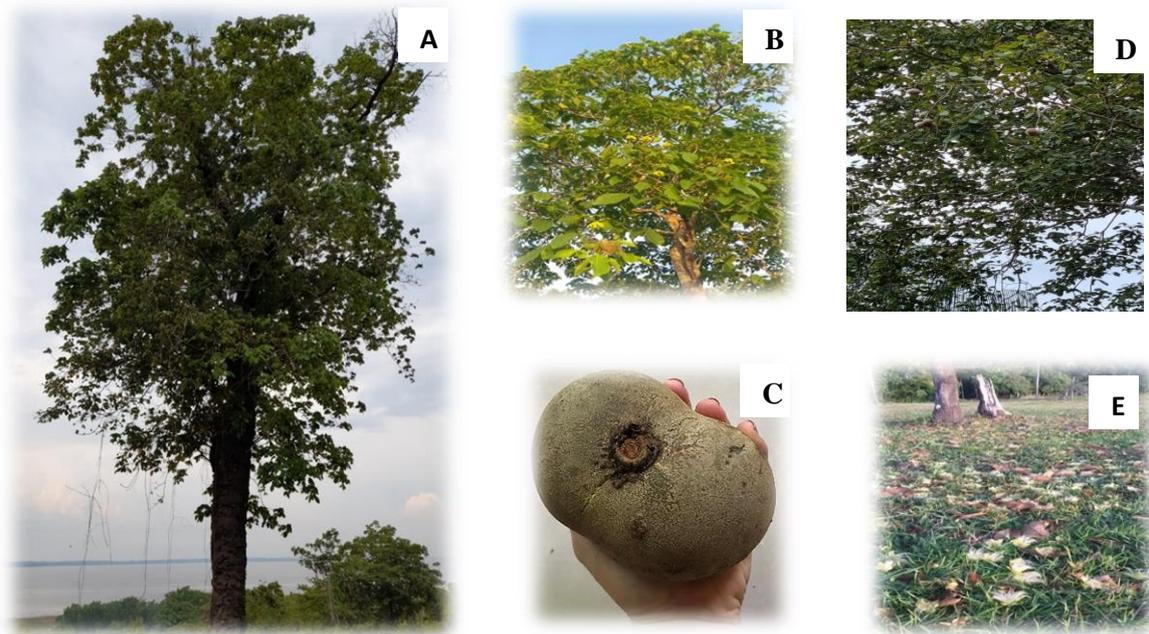


Fonte: (PRANCE & PIRANI, 2022).

O piquiazeiro, (**figura 3A**) árvore majestosa pouco conhecida da floresta primária. *C. villosum* é uma fruta exótica nativa da região amazônica rica em lipídeos e minerais que atraem os consumidores. Essa espécie possui grande significância e reflete na economia das famílias ribeirinhas e populares, uma vez que muitos componentes da árvore têm sua importância. O aproveitamento do piquiá não se limita apenas à culinária e à construção, sendo também aproveitado no uso tradicional e aplicação nas indústrias. Além disso, possui substâncias potencialmente ativas com atividades biológicas comprovadas: anti-inflamatória, antifúngica, cicatrizante, antimicrobiana, associado aos bioativos: fenólicos, flavonoides, carotenoides e vitaminas (SHANLEY & MEDINA, 2005; CHISTÉ et al., 2012a; CHISTÉ et al., 2013; ALVES et al., 2016; LEAL et al., 2016; MACIEL, 2018; TOSTES et al., 2019).

As flores de cor amarelas **figura 3E**, são polinizadas principalmente por morcegos, por marsupiais arbóreos e mariposas esfingídeas. Na Região amazônica a floração ocorre na estação da seca: julho a novembro com frutificação na estação chuvosa de março a maio. Apesar de produzir diversas flores, nem todas caracterizam a formação de frutos. Eles amadurecem a partir de fevereiro e março até maio. Uma árvore de piquiá normalmente não produz frutos todos os anos, algumas árvores “descansam” a cada ano (ARAÚJO et al., 2005; MARTINS e GRIBEL, 2007; MORAIS; GUTJAHR, 2012; CHISTÉ et al., 2012a).

Figura 3 - Partes da espécie *C. villosum* (Piquiá)



Fonte: Arquivo pessoal (2022).

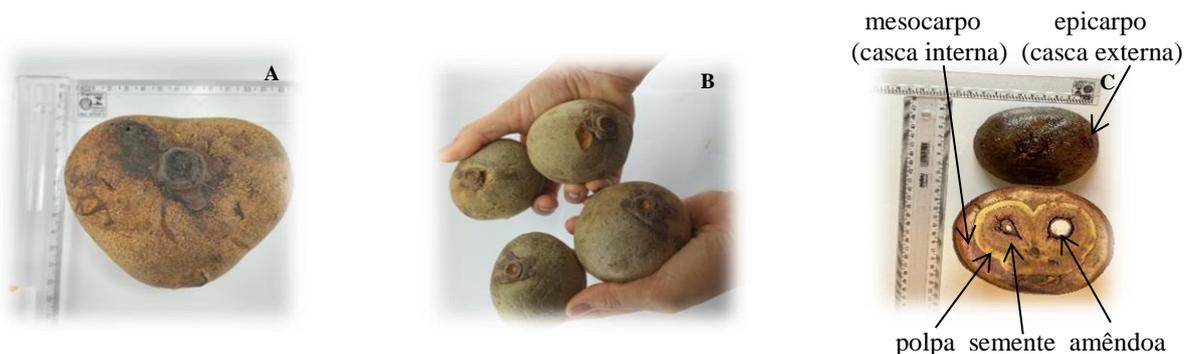
Legenda: **A**- árvore de piquiá; **B**- árvore com flor; **C**- fruto inteiro; **D**- árvore com frutos; **E**- floração.

Tradicionalmente, os povos de algumas regiões utilizam as cascas do caule e do fruto dessa espécie no tratamento de algumas enfermidades, como em tumores externos, micoses, frieiras, filarioses e cicatrização de feridas (SHANLEY et al., 2005; MAGID et al, 2006a; MARTINS e GRIBEL, 2007; CHISTÉ et al., 2012a; SOARES, 2018).

Há poucos estudos a respeito da utilização da madeira, mas é um dos materiais mais requisitados para a construção de casas e barcos, devido à resistência da matéria-prima. O tronco dessa árvore é de alta qualidade, compacto, pesado, duradouro, útil para peças de grandes dimensões (SHANLEY & MEDINA, 2005; MARTINS e GRIBEL, 2007; MIRANDA et al., 2019).

Os frutos do piquiá são coletados manualmente diretamente do chão. Possuem características aromáticas, o peso é variado de acordo com seu tamanho, em média pesam 280 a 32g, medem de 7 a 10 cm de diâmetro, sua forma arredondada oblongo-globosa irregular, (**figuras 4A, 4B**). O interior do fruto apresenta uma polpa amarela e comestível após cozimento (**figura 4C**) que constitui 23% do total do fruto, enquanto à amêndoa equivale a 6% da total. Os frutos *in natura* e cozido comercializados nas feiras livres da cidade (SHANLEY & MEDINA, 2005; MORAIS; GUTJAHR, 2012; CONCEIÇÃO et al., 2017; TORRES et al., 2018a; SOARES, 2018).

Figura 4 – Frutos de *Caryocar villosum* (piquiá)



Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Legenda: **A e B** - frutos inteiros; **C** - fruto cortado.

Economicamente, a polpa é a parte do fruto mais explorada, dela pode ser extraído um óleo comestível. Em alguns municípios do Pará, o óleo pode ser comercializado em vidros ou garrafas plásticas de 50 e 100 mL, como estratégia de venda para atrair um público e valorizar o produto final. Muito utilizado no preparo de pratos regionais, substituindo a

manteiga e óleo de soja para frituras. O fruto é consumido com farinha e café após cozimento com água e sal. Em algumas cidades é adicionado no frango e arroz para proporcionar o sabor característico dos pratos regionais (LEAL et al., 2016; CONCEIÇÃO et al., 2017; YAMAGUCHI et al., 2017).

O óleo da polpa é comumente utilizado como um anti-inflamatório natural, como na prevenção de bronquite, febre, tosse, resfriados e problemas no fígado, além de combater dores musculares e reumatismo. Ideal também em aplicação cosmética como protetor solar, loções e emulsão para pele (SHANLEY et al., 2005; MARTINS e GRIBEL, 2007; XAVIER et al., 2011; MORAIS; GUTJAHR, 2012; TORRES et al., 2018b; SOARES, 2018).

A semente do piquiá é uma parte pouco explorada, devido os espinhos pontiagudos que causam ferimentos nas mãos. A parte inferior é composta por acúleos finos, com a ponta voltada para o centro, região do fruto no qual a amêndoa está presente. O óleo da amêndoa possui ponto de fusão semelhante ao da pele humana, ideal para formulações dermatológicas (ARAÚJO et al., 2005; SOARES, 2018; BEZERRA et al., 2021).

A casca do fruto é a parte não comestível que corresponde 65% do fruto, um subproduto do fruto com maior disponibilidade, porém pouco explorada. Nas cascas contêm taninos hidrolisáveis e saponinas triterpenoides. Um estudo fitoquímico testado em *Caenorhabditis elegans* com as cascas do piquiá apresentaram propriedades antioxidante e antienvhecimento. Esse subproduto do fruto pode ser aproveitado na indústria cosmética. As cascas do tronco e do fruto são usadas para tingir redes e fios para atrair os peixes, essa coloração que possui um efeito tóxico que está relacionada à presença de saponina que causa a morte dos peixes (MARTINS & GRIBEL, 2007; MORAIS e GUTJAHR, 2012; LEAL et al., 2016; SOARES, 2018; ROXO et al., 2020; YAMAGUCHI & SOUZA, 2020; SILVA et al., 2022).

Os trabalhos de Conceição et al. (2017), demonstram o interesse dessa espécie para os habitantes do município de Santarém-PA. Os autores descrevem a cadeia produtiva do piquiá no município em questão: o extrativista; o beneficiador-comerciante; o extrativista-comerciante e o comerciante. O extrativista é o principal responsável pela coleta dos frutos na floresta, manipula os frutos até os locais de venda.

2.5.2 Estudos químicos e atividades biológicas comprovadas do gênero *Caryocar*

Foi realizado um levantamento bibliográfico sobre a composição química e atividades biológicas da espécie *Caryocar villosum*. No ANEXO 1 encontra-se a primeira folha do artigo de revisão, publicado na Revista Brasileira de Plantas Medicinais - RBPM, em 2023.

Estudos mostraram uma maior concentração de fenólicos e flavonoides totais na polpa do piquiá em comparação com as polpas de 18 frutas diferentes estudadas (BARRETO et al., 2009; Chisté et al., 2013). Posteriormente os extratos liofilizados da polpa de *C. villosum* possibilitou uma formulação tópica cicatrizante para tratar lesões teciduais em uso humano e veterinário (SILVA, 2016a; TORRES et al., 2018a; MIRANDA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2019; YAMAGUCHI & SOUZA, 2020).

Chisté & Mercadante (2012b), identificaram carotenoides e compostos fenólicos na polpa de piquiá (*C. villosum*). Por meio de análise de HPLC/DAD-ESI-MS/MS quantificaram os compostos fenólicos majoritários: ácido gálico, ácido elágico e ácido elágico ramnosídeo. Carotenoides: all-trans- antheraxanthin, all-trans- zeaxanthin e luteína. Motivados pelo mesmo objetivo, Almeida et al. (2012), identificaram compostos semelhantes, além de taninos e flavonoides.

Através do ensaio (ORAC) foi possível identificar a capacidade antioxidante da polpa de piquiá, indicando ser um ótimo sequestrante de radicais livres. O fruto contém alto conteúdo de vitamina A, que ajuda a prevenir e curar desordens dos olhos (visão embaçada), vitamina C e vitaminas do complexo B, assim como fitosteróis: o sitosterol, o estigmasterol e o lanosterol (ARAÚJO et al., 2005; CHISTÉ & MERCADANTE 2012b; MORAIS; GUTJAHR, 2012; LEAL et al., 2016).

Magid e colaboradores (2006) isolaram sete cariocariosídeos (saponina) da casca do caule de *C. villosum*, dos quais cinco eram substâncias novas. Posteriormente, Bezerra (2021) identificou substâncias fenólicas no caule da mesma espécie como, ácido gálico, ácido elágico, ácido elágico ramnosídeo, dilactona do ácido valônico, 3,6-di-O-galoil-D-glicose e 1,2,3,6-tetra-O-galoil- β -D-glicose.

As substâncias fenólicas foram identificadas nas cascas do fruto, órgão estudado por Roxo e colaboradores (2020), ao investigarem o perfil fitoquímico do extrato hidroalcoólico de cascas de piquiá por meio de análise LCMS/MS. Além de demonstrarem propriedades antienvhecimento em teste *in vivo* com *Caenorhabditis elegans* como modelo.

Nos estudos de Yamaguchi e colaboradores (2017), através da análise CLAE, obtiveram os perfis cromatográficos dos extratos etanólico e hidroalcoólico da casca, polpa e semente com porcentagens semelhantes de fenólicos e flavonoides, entretanto em maior quantidade nos extratos da polpa.

Maciel (2018), se inspirou em pesquisas anteriores para examinar extratos de sementes e cascas da mesma espécie. Por meio da espectrometria de massas utilizando a fonte eletrospray (ESI), os perfis revelaram substâncias fenólicas em ambos os extratos. Ao avaliar a atividade

citotóxica dos extratos de casca do fruto e semente do piquiá, algumas amostras mostraram atividade moderada frente às células saudáveis VERO e promoveram inibições de 66,9%, 61,1% e 59,7%. Já algumas amostras mostraram menor expressividade: 18,6% e 2,2% de inibição, respectivamente.

O gênero faz parte da prática extrativista de algumas regiões do país, com relevância econômica, visto que encontram nas espécies inúmeros efeitos terapêuticos comprovados experimentalmente por alguns pesquisadores. Tradicionalmente utilizam como antifúngicos, anti-inflamatórios, no reparo cicatrização tecidual, antidiabética e no tratamento de doenças respiratórias (MARTINS e GRIBEL, 2007; AFONSO et al., 2014; LEÃO et al., 2017; PINHEIRO et al., 2018; BERTOLINO et al., 2019; CALDEIRA et al., 2020; JUNIOR et al., 2020; BEMFEITO et al., 2021; CANGUSSU et al., 2021; SOUZA; OLIVEIRA & ANDRADE, 2021; LORENZO, SANTOS & LANNES, 2020; PEREIRA; SOUZA & LEITE, 2021).

Alguns testes pré-clínicos mostram essa potencialidade. De Oliveira et al. (2015), demonstraram propriedades terapêuticas do óleo da polpa do fruto de *C. coriaceum*. Os resultados indicaram efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios na artrite da articulação do joelho de ratos. Os efeitos anti-inflamatórios e hipolipêmicos do óleo da mesma espécie foram eficazes em testes *in vivo* e *in vitro* e promoveu diminuição significativa do colesterol sérico total e dos triglicérides e aumento do colesterol bom (HDL) (DE FIGUEIREDO et al., 2016).

O quadro 1 resume estudos do perfil químico e atividades biológicas comprovadas do gênero *caryocar*.

Quadro 1 – Estudos químicos e atividades biológicas comprovados do gênero *Caryocar* ssp.

Espécie	Compostos bioativos	Atividades Biológicas	Método de Ensaios	Referências
<i>Caryocar villosum</i> (Aubl.) Pers. (Piquiá) - (Amazônia)	Fenólicos majoritários: ácido gálico, ácido elágico ranosídeo, ácido elágico desoxihexosídeo e ácido elágico, lactona do ácido vanoleico, Carotenóides: trans-anteraxantina; antheraxanthin, all-trans- zeaxanthin e luteína; Neoxantina, violaxantina, β -caroteno e etocofeol saponinas (Cariocarosídeos) Flavonóides: quercetina e rutina Ácidos graxos: oleico, linoleico, e palmítico, esteroides, esteróis (estigmastadienol, β -sitosterol e estigmasterol) Vitaminas A; B; c e E: α -tocoferol fitosteróis: sitosterol, estigmasterol e selênio. Lipídeos 72%, e carboidratos 26,74%.	Antienvhecimento	<i>In vitro e In vivo</i>	Roxo et al., 2020.
		Antioxidante	<i>In vitro e In vivo</i>	Magid et al., 2006a; Barreto et al., 2009; Chisté et al., 2012a; Chisté & Mercadante, 2012b; Chisté et al., 2013; Leal et al., 2016; Yamaguchi et al., 2017; Soares, 2018; Maciel, 2018; Miranda et al., 2019; Yamaguchi & Souza, 2020; Bezerra, 2021; Yamaguchi & Souza, 2021.
		anti-inflamatório, cicatrizante,	<i>In vitro e In vivo</i>	Xavier et al., 2011; Morais & Gutjahr, 2012; Soares, 2018; Miranda et al., 2019; Yamaguchi et al., 2017; Maciel, 2018; Oliveira et al., 2019; Sá et al., 2020.
		antimicrobiano	<i>In vitro</i>	Yamaguchi et al., 2017; Maciel, 2018.
		Fotoprotetor	<i>In vitro</i>	Yamaguchi et al., 2017.
		Protetor cardiovascular	<i>In vivo</i>	Lorenzo et al., 2020.
		Antifúngico,	<i>In vivo</i>	Morais & Gutjahr, 2012.
		genoprotetor	<i>In vitro e In vivo</i>	Almeida et al., 2012.
<i>Caryocar brasiliense</i> (Cambess) (Pequi-cerrado)	Fenólicos majoritários: ácido gálico, galato de etila, metil shikimato, ácido quínico, florizina, 4-Oa-L ramnopiranosídeo, flavanomareina, catequeina, β -glucogalina, teogalina, vitexina, roseoside, kaempferol, ácido elagico e epigalocatequina Carotenóides: neoxantina, violaxantina, luteína, zeaxantina, rubixantina, criptoxantina, licopeno, caroteno (α , β e γ), β -criptoxantina, z-carotena, criptoflavina, anteraxantina e mutatoxantina Flavonóides: quercetina e quercetina 3-O-arabinose Ácidos graxos: oléico (50,2%) e o palmítico (44,3%) lipídeos (29,66%), carboidratos (11,40%), fibras e proteínas (3,68 e 3,39%)	Antioxidantes, Anti-inflamatório antinociceptivo	<i>In vitro e In vivo</i>	Lima et al., 2008; Roesler et al., 2008; Miranda-Viela et al., 2009; Escobar et al., 2016; Raiser et al., 2018; Roll et al., 2018; Batista et al., 2019; Torres et al., 2018b; De Sá Coutinho et al., 2020; Junior et al., 2020; Pegorin et al., 2020; Santos et al., 2020a; Santos et al., 2020b; Pinheiro et al., 2022; Miranda et al.; 2019; Nascimento-Silva & Naves 2019; Bezerra et al., 2015; Denger et al., 2020; Bemfeito et al., 2021; Almeida et al., 2022; Braga et al., 2022; Brito et al., 2022.
		antimicrobiano	<i>In vitro e In vivo</i>	Soares, 2014; Batista et al., 2019; Torres et al., 2018b.
		Cicatrizante	<i>In vitro e In vivo</i>	Bezerra et al., 2015; Oliveira et al., 2020; Torres et al., 2018b.
		Neuroprotetor	<i>In vivo</i>	Lemes et al., 2017; Oliveira et al., 2018.
		antiparasita	<i>In vivo</i>	Miranda et al., 2019.
		genoprotetor,	<i>In vivo</i>	Colombo et al., 2015.
		Antigenotóxico	<i>In vitro e In vivo</i>	Almeida et al., 2022.
		andibética	<i>In vitro e In vivo</i>	Caldeira et al., 2020; Cangussu et al., 2021.
		Antinoceptivo	<i>In vitro e In vivo</i>	Pinheiro et al., 2022.
		Anticâncer Antitumoral	<i>In vitro</i>	Miranda-Viela et al., 2009; Torres et al., 2018b; Miranda et al., 2019; Ombredane et al., 2022; Silva et., 2022; Brito et al., 2022.

<i>Caryocar coriaceum</i> Wittm. (Pequi)-Nordeste	Fenólicos majoritários: ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafeico Carotenóides: all-trans- antheraxanthin, all-trans- zeaxanthin e luteína; Flavonóides: quercetina e rutina Carboidratos (57,83%), lipídeos (33,53%), fibras totais (5,29%) e proteínas (3,28%) Ácidos graxos: oleico, palmítico, heptadecanóico, linoleico e esteárico	Antioxidantes,	<i>In vitro e In vivo</i>	Duavy, et al., 2012; Silva et al., 2016a; Torres et al., 2018b; Miranda et al., 2019; Souza et al., 2021.
		Anti-inflamatório, antimicrobiano	<i>In vitro e In vivo</i>	Paula-Junior et al., 2006; Batista et al., 2010; De Oliveira et al., 2010; Araruna et al., 2013; De Figueiredo et al., 2016; Bezerra et al., 2020; Miranda et al., 2019; Onofre et al., 2019; Torres et al., 2018b; Junior et al., 2020.
		Antiparasita	<i>In vivo</i>	Miranda et al., 2019.
		hipolipêmico,	<i>In vitro e In vivo</i>	De Figueiredo et al., 2016.
		Cicatrizante	<i>In vitro e In vivo</i>	Batista et al., 2010; Onofre et al., 2019.
		anticâncer,	<i>In vitro e In vivo</i>	Costa et al., 2011.

Fonte: Elaborado pela autora (2022) adaptado de Yamaguchi & Souza (2020).

Os estudos realizados por Bezerra, Barros e Coelho (2015), Diniz (2015); De Sá Coutinho e colaboradores; Junior et al., (2020) demonstraram que o óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Cambes) da região do Cerrado tem propriedades que ajudam a reduzir a inflamação e aliviar a dor, bem como apresenta efeitos anti-inflamatório, analgésico além de induzirem à cicatrização dérmica *in vivo* em feridas de ratos.

Nos estudos de Roesler et al., (2008) associaram o alto teor de fenóis totais (209 g equivalente ao ácido gálico) e o sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (CI de 9,44µgml), com a elevada atividade antioxidante de *C. brasiliense* capacidade de neutralizar radicais livres (moléculas instáveis e podem causar danos celulares). Isso porque o pequi possui substâncias fenólicas em quantidades significativas.

A revisão sistemática realizada por Batista et al., (2019) forneceram uma estimativa global do uso de extratos vegetais, dentre eles o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) e comprovaram o potencial antioxidante e antimicrobiano como agentes terapêuticos no combate às infecções bacterianas e fúngicas. Esses resultados sugerem que o pequi é uma opção natural no tratamento de infecções causadas por bactérias e fungos.

O efeito anti-inflamatório do óleo de pequi foram comprovados por Miranda Vilela et al. (2009), ao administrarem cápsulas de óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) 400 mg em atletas por 14 dias. Os resultados mostraram a redução do colesterol total e a lipoproteína de baixa densidade. Trabalhos semelhantes foram comprovados por Oliveira et al. (2020), os mesmos identificaram efeitos terapêuticos em uma nanoemulsão à base de óleo da mesma espécie.

De acordo com Ombredane et al. (2022), encontraram propriedades farmacológicas no óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) e sugeriram a utilização de nanoemulsão a partir dessa espécie, uma vez que a suas moléculas possuem ação anticancerígeno sobre células do câncer de mama *in vitro*. Isso significa que os componentes presentes na nanoemulsão conseguem inibir o crescimento e causar a morte das células cancerígenas específicas do câncer de mama.

2.5.3 Aplicações Cosméticas Comprovadas a partir das espécies de *Caryocar*

Os frutos oleaginosos do gênero *Caryocar* têm aplicações biotecnológicas comprovadas que vão além da culinária e da medicina tradicional. Na indústria, sementes, cascas, polpa e óleo da polpa são utilizados em produtos cosméticos que hidratam e protegem a pele como: sabonete esfoliante, nanoemulsão, loção, protetor solar e creme antienvelhecimento **quadro 2**

(PIANOVSKI et al., 2008; MIRANDA et al., 2019; PEGORIN et al., 2020; YAMAGUCHI & SOUZA, 2020; MEDEIROS et al., 2022).

Foi possível observar trabalhos que caracterizaram e identificaram as substâncias do *Caryocar* que permitem aplicações em cosméticos **quadro 2**. A composição química de diferentes ácidos graxos do pequi (*C. brasiliense*), oleico e o palmítico apresentam características que se assemelham à epiderme humana (PIANOVSKI et al., 2008; LORENZO, SANTOS & LANES, 2020; MIRANDA et al., 2019; BEMFEITO et al., 2021; VIROLI et al., 2022).

De acordo com Leal e colaboradores (2016), destaca o grande potencial de *C. villosum* para as indústrias farmacêuticas e alimentícias, todavia não identificaram estudos direcionados à fabricação de cosméticos a partir de piquiá, o que levou o desenvolvimento de uma nanoemulsão com a polpa dessa espécie.

Nos trabalhos de Santos e colaboradores (2020c), utilizaram os resíduos de pequi (*Caryocar brasiliense*) para elaborar produtos biotecnológicos para uso externo como, um creme anti-inflamatório e um protetor solar, visando a proteção da pele humana.

O quadro 2 resume algumas aplicações cosméticas comprovadas a partir gênero *Caryocar*.

Quadro 2- Aplicações cosméticas comprovadas a partir de *Caryocar*

Extrato/casca/ óleo	Cosméticos	Referências
Casca do <i>C. villosum</i> (piquiá)	Sabonete esfoliante	Yamaguchi & Souza, 2021
Óleo do <i>C. villosum</i> (piquiá)	Nanoemulsão	Leal et al., 2016
Casca do <i>C. villosum</i> (piquiá)	Pomada, gel, spray, creme e loção,	Oliveira et al., 2019 (patente*)
Polpa do <i>C. villosum</i> (piquiá)	Formulação tópica cicatrizante	Sá et al., 2020 (patente*)
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Nanoemulsão	Pinheiro et al., 2022
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Creme hidratante	Pegorin et al., 2020
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Nanoemulsão	De-Sá-Coutinho et al., 2020
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Emulsão	Raiser et al., 2018
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Sabonete em barra	Escobar et al., 2016
Óleo do <i>C. coriaceum</i> (pequi)	Creme	Batista et al., 2010
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Emulsão	Pianovski et al., 2008
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Emulsão	Silva, 1994
Óleo do <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Sabonete líquido	Soares, 2014
Casca de <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Creme em gel fotoprotetor	Santos et al., 2020 ^a (patente)*
Casca de <i>C. brasiliense</i> (pequi)	Creme em Gel anti-inflamatório	Santos et al., 2020b (patente)*

Fonte: Elaborado pela autora (2022) adaptado de Silva (2016a).

O estudo de Soares (2014) mostrou propriedades biológicas no óleo do pequi (*Caryocar coriaceum*), o que impulsionou a produção de um sabonete líquido. Costa e colaboradores (2011), identificaram outras propriedades na mesma espécie como: anticâncer e antibacteriano.

Batista et al. (2010), usando uma formulação à base de óleo de pequi (*C. coriaceum* Wittm), mostraram resultados satisfatórios no tratamento de feridas cutâneas em ratos no pós-operatório durante 14 dias. Os mesmos resultados foram comprovados por Onofre (2019); De Figueiredo e colaboradores (2016), usando o óleo da mesma espécie.

Outras pesquisas comprovaram a eficácia cicatrizante e anti-inflamatória do gênero em ferimentos, quando adicionado a uma microemulsão.

Coelho et al., (2013), Martins et al., (2019) comprovaram efeitos farmacológicos na pomada elaborada com a folha do pequi (*C. brasiliense*) na cicatrização de feridas na pele de coelhos e ratos. Oliveira e colaboradores (2020) identificaram efeitos similares nos extratos da mesma espécie na cicatrização de feridas cutâneas em coelhos. O curto período de fechamento das lesões e a presença ou ausência de edema comprovaram o efeito anti-inflamatório das folhas.

Pires e colaboradores (2020), comprovaram as propriedades cicatrizantes em feridas dérmicas do óleo de *C. brasiliense* Cambess, ao fazerem testes com a formulação e avaliação *in vivo* de nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico, carregadas com óleo dessa espécie, a qual apresenta atividades farmacológicas comprovadas no processo cicatricial.

Escobar e colaboradores (2016), utilizaram o óleo da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense*) para a produção de sabonetes em barra. Raiser e colaboradores (2018), utilizando o óleo da mesma espécie, verificaram a estabilidade do óleo e incorporaram em emulsões aniônicas de 5 a 10% demonstrando estabilidade positiva. Características vistas anteriormente por Silva et al. (1994), no preparo de emulsões cosméticas utilizando a mesma espécie.

Nos trabalhos de Yamaguchi & Souza, (2021) com casca, polpa e semente de piquiá demonstraram a viabilidade de aplicação em cosméticos. A prospecção fitoquímica mostrou a presença de substâncias: fenólicas, saponina, flavononas, chalconas e antocianinas (benéficos à saúde). Os resultados motivaram a produção de um sabonete esfoliante para a pele.

2.5.4 Principais classes químicas presentes nas espécies de *Caryocar*

Os pesquisadores demonstram grande interesse pelo gênero *Caryocar*, devido às substâncias bioativas (fenólicos) responsáveis por diversas ações terapêuticas. As propriedades biológicas são atribuídas à presença desses compostos. Essas substâncias presentes promovem

a coloração das plantas, absorvem intensamente à luz ultravioleta. Além disso, protegem as plantas contra estresses ambientais (AHMED et al., 2017).

2.5.4.1 Fenóis

Os compostos fenólicos compreendem uma classe formada por um anel aromático, representados pelos ácidos fenólicos e pelos polifenóis, com grupos substituintes de hidroxilas em suas estruturas, **figura 5**. Os fenólicos são classificados em subclasses, conforme o tipo de esqueleto, ou seja, a quantidade de fenólicos e substituintes ligados ao anel da sua estrutura básica. O poder antioxidante é atribuído a esses grupos de ácidos fenólicos com um grupo heterogêneo. A posição dos grupos hidroxilas e a proximidade do CO₂H com o grupo fenil têm um impacto significativo na capacidade antioxidante da substância. Quanto mais próximo esse grupo estiver do grupo fenil, maior a capacidade antioxidante (MINATEL et al., 2017; MACIEL, 2018; NASCIMENTO-SILVA et al., 2020).

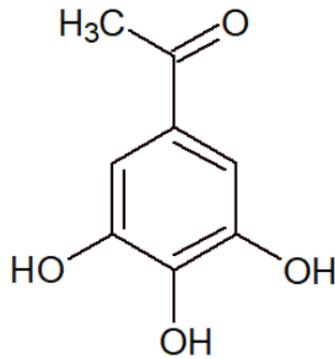
Ácido gálico é uma substância fenólica encontrada nas frutas. Estudos mostram que a mesma tem propriedades que protegem as células contra os danos causados pelos radicais livres. Os radicais livres são moléculas instáveis que causam estresse oxidativo e contribui para a ocorrência de diversas enfermidades. Possui ação anti-inflamatória: diminui a produção de substâncias inflamatórias no organismo, o que resulta numa diminuição da inflamação (BARRETO et al., 2009; CHISTÉ et al., 2012a; CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b; CHISTÉ et al., 2013; LEAL et al., 2016; JUNIOR et al., 2020; PEGORIN et al., 2020; SANTOS et al., 2020a; SANTOS et al., 2020b; PINHEIRO et al., 2022).

O ácido gálico possui capacidade antimicrobiana. A sua ação antimicrobiana auxilia na diminuição do crescimento de microorganismos, como bactérias e fungos (ARARUNA et al., 2013; SOARES, 2014; DE FIGUEIREDO et al., 2016; YAMAGUCHI et al., 2017; MACIEL, 2018; BATISTA et al., 2019; MIRANDA et al., 2019; ONOFRE et al., 2019; JUNIOR et al., 2020; BEZERRA et al., 2020).

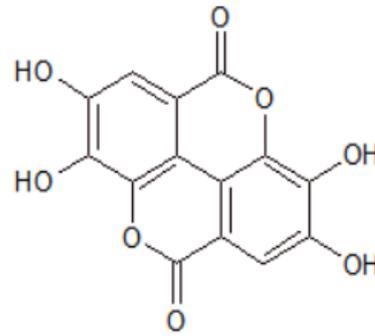
Atividade antitumoral: ajuda a impedir o crescimento de células cancerígenas e induzir a morte programada das células cancerígenas. No entanto, mais estudos são necessários para compreender o seu mecanismo de ação e potencial terapêutico (MIRANDA-VIELA et al., 2009; COSTA et al., 2011; CHEN et al., 2009; LU et al., 2010; BATISTA et al., 2010; ROCHA et al., 2015; TORRES et al., 2018b; MIRANDA et al., 2019; OMBREDANE et al., 2022; SILVA et., 2022; BRITO et al., 2022).

A **figura 5** representa algumas estruturas de fenólicos encontrados no gênero *Caryocar*.

Figura 5 - Estruturas dos fenólicos presentes em algumas espécies do gênero *Caryocar*



ácido gálico



ácido elágico



ácido vanílico

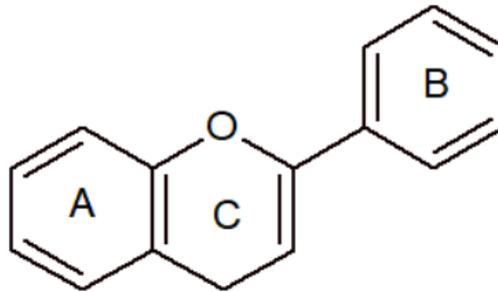
Fonte: Autora (2022).

2.5.4.2 Flavonoides

Os flavonoides são compostos fenólicos que estão presentes na composição química de frutas e vegetais. Existem diversas variações dessa classe, sendo as principais: flavonóis, flavonas, isoflavonoides, flavanonas, antocianos e chalconas. Os pigmentos naturais têm uma função importante, como proteger as plantas contra alguns patógenos, além de atrair animais para a polinização. Esses compostos de origem vegetal são oxigenados ou combinados com açúcares, sendo chamados de heterosídeo e de O-heterosídeo. Sua estrutura é composta por

dois anéis aromáticos, ligados por três carbonos (SILVA et al., 2010; MACIEL, 2018). A **figura 6** mostra a estrutura básica dos flavonoides

Figura 6 - Estrutura básica dos flavonoides

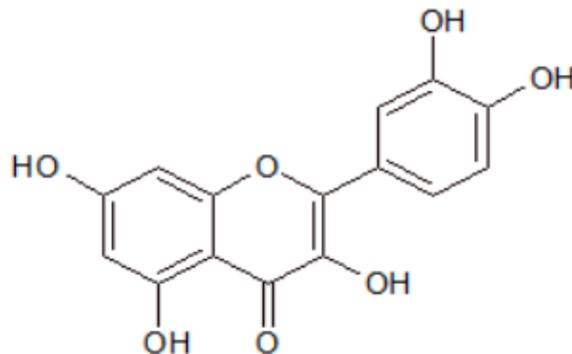


Fonte: Autora (2022).

Existem algumas classes de flavonoides, como: flavonóis, antocianina e principalmente a quercetina, responsáveis por diversas propriedades terapêuticas. A **figura 7**, ilustra a estrutura da quercetina, uma substância antioxidante, anticarcinogênico e possui efeitos protetores nos sistemas renal, cardiovascular e hepático. Essas substâncias se destacam pelas suas cores ou fluorescências, que podem ser identificadas em cromatograma à luz UV (LOPES et al., 2017).

A presença dos grupos hidroxilas na estrutura dessas substâncias é um dos principais responsáveis pela atividade biológica. Junior et al. (2020), associa os efeitos analgésicos e anti-inflamatórios do óleo do pequi (*Caryocar brasiliense*) aos flavonoides e terpenoides presentes. As propriedades antioxidantes dos flavonoides nas frutíferas tem efeito anticancerígeno (HENRIQUE & LOPES, 2017).

Figura 7 - Estrutura da quercetina



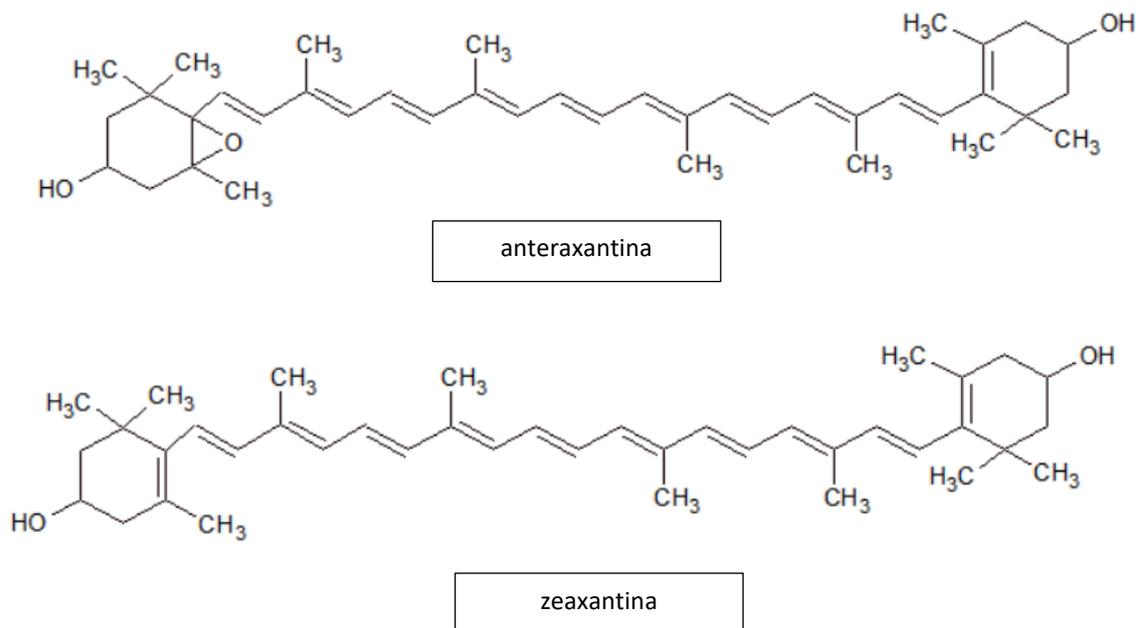
Fonte: Autora (2022).

2.5.4.3 Carotenoides

Os carotenoides são compostos químicos encontrados em frutos e legumes. A presença de pigmentos principalmente zeaxantina, anteraxantina e luteína nessa classe química indica funções relevantes: fotoprotetores na fotossíntese, fixadores de oxigênio durante os processos químicos, responsáveis pela cor em flores e frutos e agem como antioxidantes, prevenindo danos às células dos organismos vivos. Esse composto identificado no óleo na espécie *C. brasiliense* contribui com a função cognitiva global, memória, fluência verbal e aprendizado de indivíduos. Além de apresentar efeitos anti-inflamatórios e analgésicos (HARBORNE, 1984; JUNIOR et al., 2020; NASCIMENTO-SILVA & NAVES, 2019; NASCIMENTO-SILVA et al., 2020).

Esses compostos são cíclicos como o licopeno, ou possuem 5 ou 6 estruturas nas extremidades de uma cadeia com carbono (γ e β -caroteno, denominado provitamina A). Há dois grupos principais nessa categoria: os carotenos, compostos com carbono e hidrogênio (como β -caroteno e licopeno) e as xantofilas, que são derivados oxigenados dos carotenos (luteína, zeaxantina e astaxantina), conforme mostrado na **figura 8** (SILVA et al., 2010).

Figura 8 - Estruturas dos carotenoides em algumas espécies do gênero *Caryocar*



Fonte: Autora (2022).

2.6 Análise da capacidade antioxidante *in vitro* frente aos radicais DPPH* e ABTS⁺

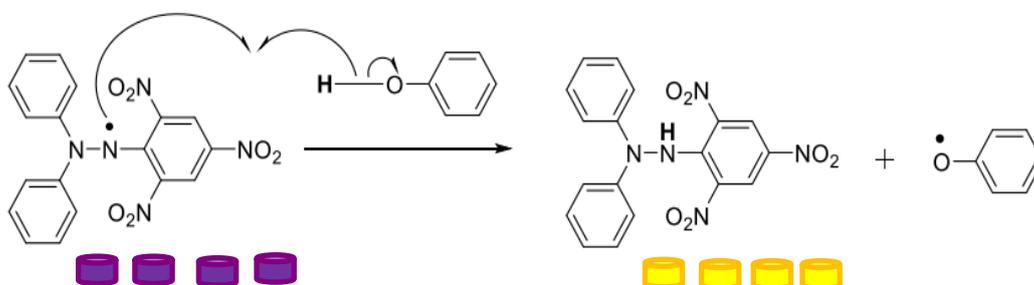
É possível por meio de ensaios *in vitro*, verificar a capacidade antioxidante dos produtos naturais, utilizando métodos adequados. Os mesmos são baseados na captura dos radicais livres, os quais estão entre os testes mais usados para determinar a atividade antioxidante e podem ser detetados por meio do método de espectrofotometria (RUFINO et al., 2007; YAMAGUCHI, 2017; NEELAM & KRISHNA, 2019; GULCIN, 2020; MUNTEANU et al., 2021; WOLOSIAK et al., 2021).

2.6.1 Análise de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina)

O DPPH é um radical estável, disponível comercialmente e muito utilizado em testes para determinar o potencial antioxidante de polifenóis presentes em algumas substâncias. Dentre os métodos antioxidantes *in vitro*, o da captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) é um dos bastante simples, preciso, rápido, além de apresentar boa estabilidade na avaliação (RUFINO et al., 2007; BEZERRA, 2021).

Este processo consiste na transferência de elétrons, por atividade de um antioxidante ou ação de uma espécie radicalar, o DPPH 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, reduzido a difenil-picril-hidrazina, alterando a coloração, conforme observado na **figura 9**. Como consequência ocorre o desaparecimento da absorção, podendo ser monitorada provocando um decréscimo da absorbância a 515 nm. O radical da molécula apresenta cor violeta-escuro e após a reação com substância antioxidante torna-se amarelo ou violeta-claro (RUFINO et al., 2007; SILVEIRA et al., 2018; FREITAS et al., 2021).

Figura 9 – Mecanismo de reação frente ao radical DPPH



Fonte: (Adaptado de BEZERRA, 2021).

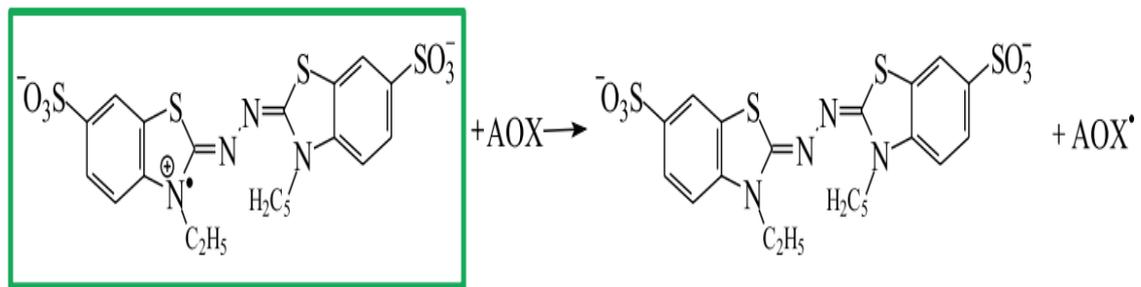
Atualmente esse método é amplamente empregado, pois utiliza a desativação do radical DPPH (2,2'-difenil-1-picrilhidrazil). A simplicidade de seu uso tem diversas vantagens

como, a redução do tempo de reação e a alta reprodutibilidade. Um radical livre pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico, sendo o mais indicado, a utilização de solvente de baixa toxicidade (RUFINO et al., 2007; SILVEIRA et al., 2018; WOLOSIAK et al., 2021).

2.6.2 Análise de captura do radical livre ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS)

O método ABTS é um dos ensaios mais populares atualmente para avaliar a atividade antioxidante. Ele consiste em neutralizar o cátion radical estável 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico), um cromóforo azul-esverdeado de absorção máxima em 734 nm. Se houver um antioxidante, essa intensidade tende a diminuir, conforme mostrado na **figura 10** (WOLOSIAK et al., 2021; MUNTEANU et al., 2021).

Figura 10 – Mecanismo de reação frente ao radical ABTS



ABTS radical (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
blue green color

ABTS

Fonte: (Adaptado de MUNTEANU et al., 2021).

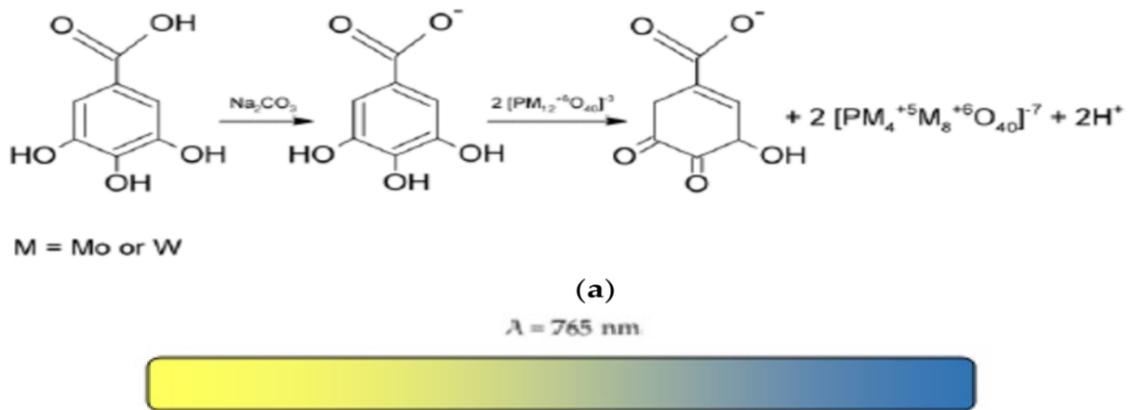
Nos estudos de Yamaguchi et al. (2017), identificaram nos extratos da casca e polpa de piquiá elevada capacidade de sequestro dos radicais livres ABTS. A capacidade antioxidante está associada à quantidade de bioativos, correlacionado com os dados da literatura.

2.7 Fenóis totais pelo método *Folin-Ciocalteu*

Através do método de *Folin-Ciocalteu*, uma técnica amplamente empregada capaz de determinar a concentração de compostos fenólicos em amostras de diversas partes vegetais, uma vez que se baseia na transferência de elétrons em meio alcalino dos compostos fenólicos.

É viável identificar os elementos químicos benéficos e promissores nas indústrias farmacêutica e cosmética. A reação de óxido-redução entre o reagente de *Folin-Ciocalteu* e substâncias fenólicas (ácido gálico) resulta num complexo do ácido fosfotungstato azul, conforme mostrado na **figura 11** (AINSWORTH & GILLESPIE, 2007; BEZERRA, 2021; MUNTEANU et al., 2021).

Figura 11 - Esquema de reação entre o reagente de *Folin-Ciocalteu* com substância fenólica



Fonte: (Adaptado de MUNTEANU et al., 2021).

2.8 Flavonoides totais

Existem diversas maneiras de identificar os flavonoides presentes em produtos naturais, bem como examinar o seu poder antioxidante e os benefícios para os seres vivos. Long et al. (2020), identificaram e quantificaram, por meio de CLAE, os principais flavonoides individuais dos extratos analisados. Outro método de quantificação dos flavonoides é o espectrofotométrico, uma técnica comumente empregada para estimar os flavonoides totais devido à capacidade de absorção na região ultravioleta. Através desse método, Yamaguchi et al., (2017) quantificaram os flavonoides totais nos resíduos de diversas frutas.

2.9 Técnicas Cromatográficas e Espectrométricas

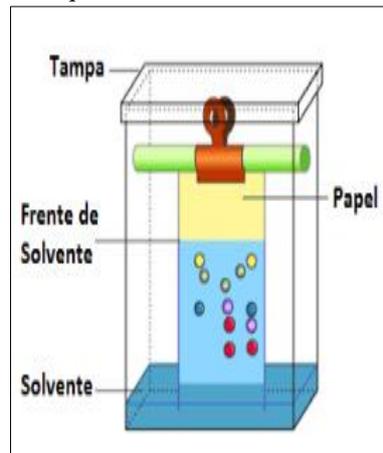
Essas análises são responsáveis pela identificação, caracterização de substâncias nos produtos naturais, bem como na purificação de compostos indesejáveis ou na separação dos componentes de uma mistura. Essas técnicas são essenciais em diversas áreas, como química, bioquímica, farmacologia, ciências ambientais, entre outras (AQUINO-NETO, 2003).

2.9.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

A técnica cromatográfica é bastante prática e econômica, realiza a separação de forma rápida e com identificação visual. Este método consiste na separação de elementos de uma mistura sólida-líquida, na qual a fase líquida se move sobre a camada delgada de adsorvente retido em uma superfície plana (fase estacionária/sólida). A fase estacionária é composta por uma camada delgada de um sólido fino, como a sílica, sendo o método mais utilizado na separação de compostos fenólicos. Porém, essa técnica não tem a mesma eficácia que outras técnicas cromatográficas, como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) ou a cromatografia gasosa (CG) (COLLINS, 1997).

Essa técnica fornece dados como, a polaridade das substâncias nos extratos. A aplicação da amostra pode ser em forma de pontos ou bandas numa placa revestida com um material adsorvente, como um sílica-gel ou uma fase estacionária semelhante. Pode ser aplicada uma pequena gota ou linha da amostra no fundo da placa. Em seguida, a placa com as amostras aplicadas é colocada verticalmente num recipiente fechado contendo um solvente adequado, conhecido como fase móvel, sem permitir que a região da amostra entre em contato com a fase móvel (COLLINS, 1997; ROCHA & ALEXANDRE, 2017).

Figura 12 -Esquema de um sistema cromatográfico



Fonte: Adaptado de Degani et al. (1998).

A medida que a fase móvel se move através da placa, as substâncias separam-se com base nas diferentes afinidades com o material adsorvente. As substâncias solúveis na fase móvel tendem a mover-se com maior rapidez, enquanto as substâncias pouco solúveis são abrandadas e aproximam-se do ponto de aplicação **figura 12**. Assim, ocorre a separação das substâncias

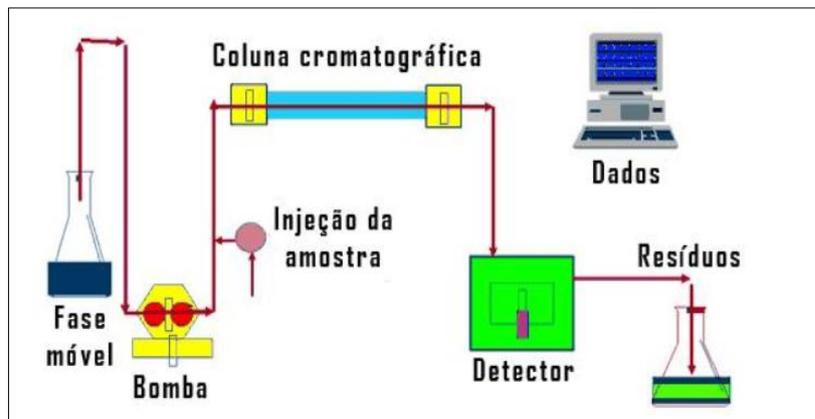
com tons ou bandas ao longo da placa. Esses tons escuros, podem ser visualizados com a ajuda de reveladores específicos com técnicas de revelação adequadas (DEGANI et al., 1998).

2.9.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência, é uma técnica analítica amplamente empregada nas indústrias. Utilizada para separar, identificar e quantificar componentes presentes em compostos orgânicos simples até biomoléculas complexas. Seu alto desempenho apresenta diversas vantagens durante uma análise. A automatização e a sensibilidade do equipamento favorecem alta resolução e precisão da análise. O equipamento possui bombas de alta pressão, responsáveis por impulsionar a fase móvel, o detector monitora a fase móvel acoplado a um computador que fornece os dados em forma de cromatograma (DEGANI et al. 1998; GOSETTI et al., 2013).

A técnica baseia-se nas regras da cromatografia, que envolvem separar uma amostra em seus componentes individuais, usando uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase estacionária é uma coluna cromatográfica de aço inoxidável polido, preenchida com partículas pequenas e porosas, geralmente de sílica ou polímeros, com alta capacidade de interagir com os componentes da amostra. Já a fase móvel é um solvente líquido ou uma mistura de solventes que flui através da coluna. A amostra a ser analisada é injetada na fase móvel e, ao atravessar a coluna, diversos elementos interagem com a fase estacionária em diferentes graus, conforme mostrado na **figura 13** (COLLINS et al., 1997; AQUINO-NETO, 2003).

Figura 13 - Esquema básico de um equipamento de CLAE



Fonte: (adaptado de Collins, 1997).

Os solventes das fases móveis utilizados em HPLC devem ser ultrapuros. A amostra precisa ser solúvel para não haver interferências nos resultados, uma vez que a formação de precipitação pode ser um dos principais fatores. A técnica pode ser acoplada a espectrometria de massas HPLC-DAD-MS/MS, fornecendo resultados com maior precisão (CIOLA, 2000; GOSETTI et al., 2013; DE MIRANDA et al., 2021).

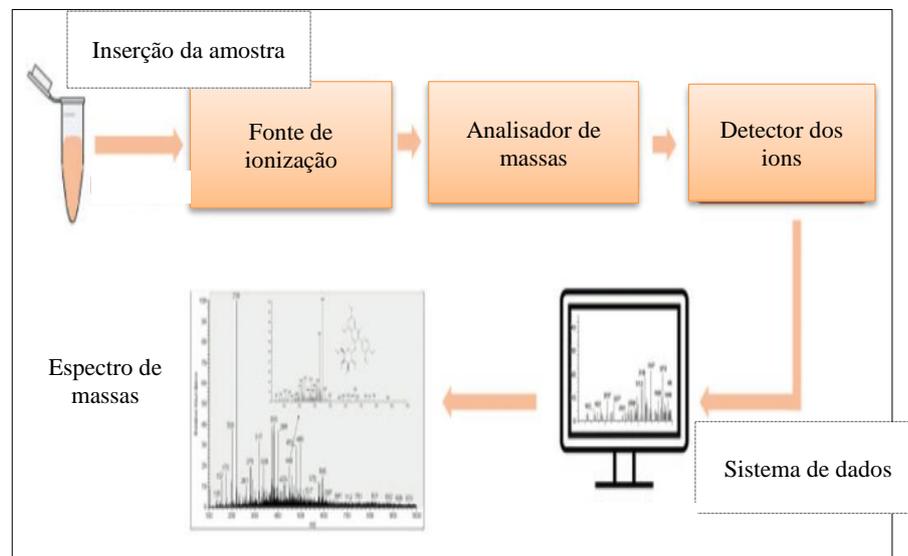
Essa técnica é bastante usada para identificar e comparar perfis químicos de substâncias. Chisté & Mercadante (2012b), Yamaguchi et al., (2017), aplicaram HPLC/DAD-MS/MS e quantificaram substâncias fenólicas como, ácido elágico e ácido gálico em *C. villosum*.

2.9.3 Espectrometria de massas - *Full scan*

A espectrometria de massa é uma técnica analítica altamente sensível e de elevado rendimento. Amplamente usada para determinar a massa molecular de compostos fornece informações sobre a estrutura molecular em produtos naturais. Aplicada na determinação de perfis e estruturas químicas, fornecendo indicações sobre o padrão de fragmentação que podem contribuir para a localização de certos grupos funcionais e cadeias laterais **figura 14** (GOSETTI et al., 2013; KIRÁRY et al., 2016; MACIEL, 2018).

Nos últimos anos, as buscas por técnicas analíticas avançadas na identificação de compostos químicos têm aumentado. Com os avanços tecnológicos, a utilização dessa técnica está sendo cada vez mais expandida e valorizada, sendo aplicada em vários campos da ciência e tecnologia, por ser altamente sensível e de alto rendimento (GOSETTI et al., 2013; KIRÁRY et al., 2016).

Figura 14 - Representação do processo de espectrometria de massas



Fonte: Degani et al. (1998).

Atualmente, essa técnica possui uma gama de aplicações, tais como a avaliação de compostos orgânicos e inorgânicos, avaliação de proteínas e peptídeos, estudos metabolômicos, e controle de qualidade em indústrias farmacêuticas. A utilização de técnicas analíticas modernas como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada à Espectrometria de Massa (HPLC/DAD-MS/MS) fornecem dados bastante úteis na identificação de substâncias químicas (SILVA et al., 2019; LOOS et al., 2016).

Nesta técnica analítica, é realizada a análise da matéria por meio da ionização dos compostos em fase gasosa, seguida da separação e identificação dos compostos, utilizando a relação massa/carga, possibilitando a determinação da massa molecular dos compostos e informações sobre a sua estrutura e composição. Os íons formados provocam a perda e o ganho de carga elétrica a partir de uma espécie neutra. Após a geração desses íons, são eletrostaticamente direcionados para um analisador de massa, onde são separados conforme a relação m/z . As espécies observadas são conhecidas como protonadas $[M-H]^+$, desprotonadas $[M-H]^-$ (CHIARADIA et al., 2008; YAMAGUCHI, 2015).

As principais fontes de ionização são: Ionização por Eletrospray (ESI) e Ionização Química à Pressão Atmosférica (APCI), que operam a pressão atmosférica de forma positiva e negativa (MACIEL, 2018). A ionização por electrospray é uma técnica bastante utilizada em análises de produtos naturais, sobretudo na identificação de substâncias fenólicas. É ideal para análises de moléculas polares e com grande massa molecular, mas não se limita a essas biomoléculas grandes. Por meio do ESI-MS, outras moléculas com massa molecular menor podem ser identificadas. Essa fonte gera um feixe eletrostático, no qual os íons presentes são transferidos para a fase gasosa (PAVIA et al., 2009).

Um espectrômetro de massas possui uma fonte de íons, um analisador de massas, onde os íons são detectados e selecionados e um computador que processa os sinais com um software específico, o qual também se obtém os cálculos do espectro de massas. Inicialmente a amostra é injetada na fonte de íon e convertida em íons por meio de uma fonte de ionização. Após essa separação, os íons gerados são separados com base na sua relação (m/z). Os íons separados são detectados e sua intensidade é registrada. Isso resulta em um espectro de massas, que representa a distribuição dos íons em relação à sua massa e intensidade (CHIARADIA et al., 2008; HARRIS & LUCY, 2012).

Através dessa técnica, detectaram pela primeira vez compostos fenólicos na polpa de *Caryocar villosum*, ácido gálico e o ácido elágico ramnosídeo de ácido elágico e carotenoides (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

O quadro 3 ilustra algumas substâncias identificadas na espécie de *Caryocar villosum*.

Quadro 3- Estudos de algumas substâncias identificadas na espécie de *Caryocar villosum*

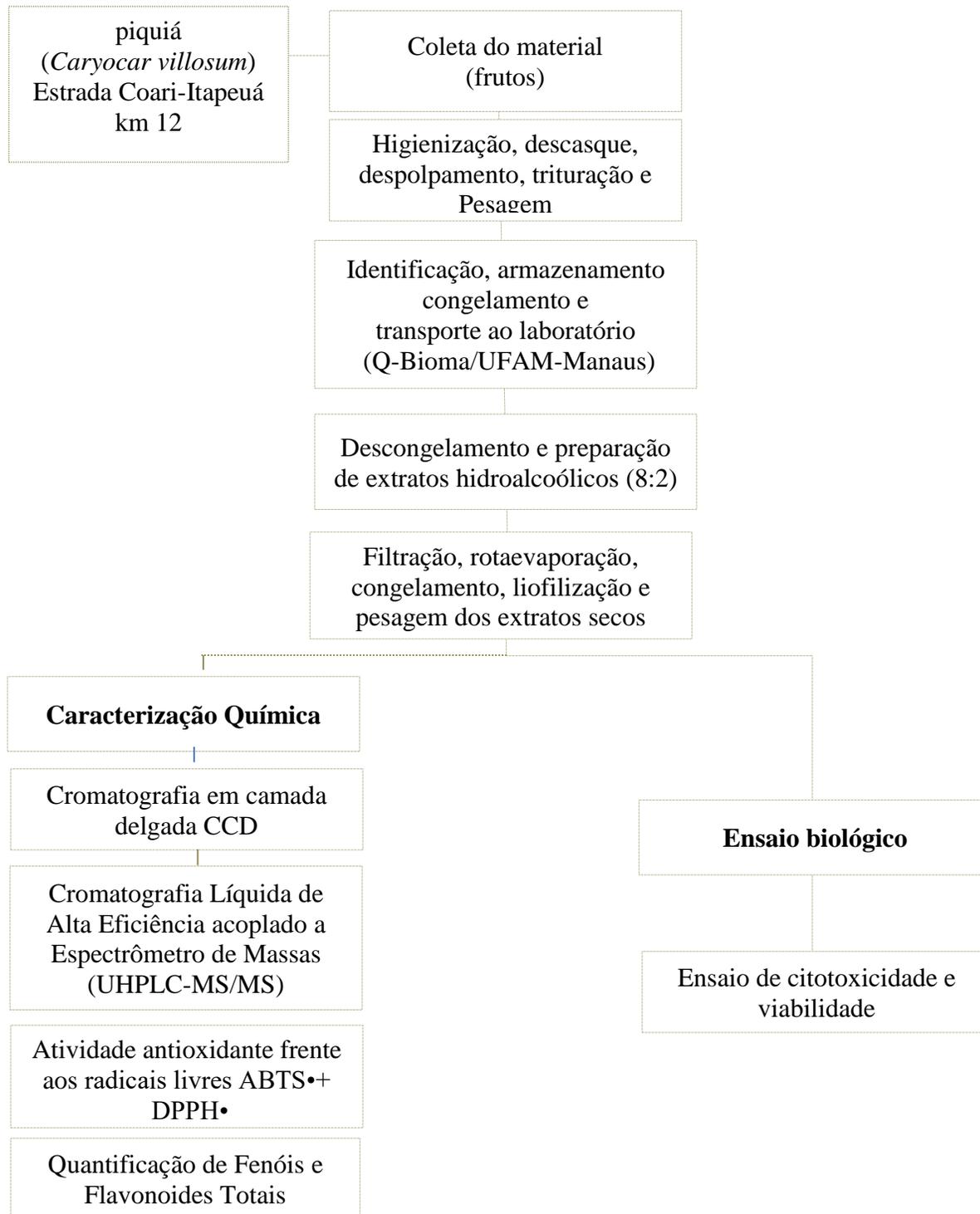
Espécie	Substâncias	m/z	Parte da planta	Referências
<i>Caryocar villosum</i>	ácido gálico	169,01	Casca do caule	BEZERRA, 2021
			Casca do fruto	ROXO et al., 2020 MACIEL, 2018
			Casca, polpa e semente do fruto	YAMAGUCHI et al., 2017; SOARES, 2018
			Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
	ácido elágico	301,01	Casca do caule	BEZERRA, 2021
			Casca do fruto	MACIEL, 2018; ROXO et al., 2020
			Casca, polpa e semente do fruto	YAMAGUCHI et al., 2017
			Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
	monogalloil hexosídeo	331	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
			Casca do fruto	ROXO et al., 2020
	ácido cafeoil chiquimico	335,25	Casca e polpa	SOARES, 2018
	ácido cumaroil quínico	337	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
	quercetina-hexosídeo	432,23	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
	ácido elágico ramnosídeo	447	Casca do caule	BEZERRA, 2021
			Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
	dilactona do ácido vanoléico	469	Casca do caule Casca do fruto	BEZERRA, 2021; MACIEL, 2018; ROXO et al., 2020
	dimetil elágico pentose	461,19	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012; SOARES, 2018
	quercetina-hexosídeo	463,23	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012; SOARES, 2018
	HHDP-hexosídeo	481	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
			Casca do fruto	ROXO et al., 2020
	3,6-di-O-galoil-D- glicose	483	Casca do caule	BEZERRA, 2021
			Casca do fruto	ROXO et al., 2020
			Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012
	3,4,6-tri-O-galoil-D- glicose	635	Casca do caule	BEZERRA, 2021
	metil quercetina dihexosídeo	639,82	Polpa	CHISTÉ & MERCADANTE, 2012;
	1,2,3,6-tetra-O-galoil-β- D-glicose	787	Casca do caule	BEZERRA, 2021
	galoil-HHDP-hexose	633	Casca do fruto	MACIEL, 2018; ROXO et al., 2020
Polpa			CHISTÉ & MERCADANTE, 2012	
galoil-HHDP- DHHDP –hexosídeo	951	Casca do fruto	ROXO et al., 2020; CHISTÉ & MERCADANTE, 2012	
Isômero de galoil-valoneolglucosídeo	801	Casca do fruto	ROXO et al., 2020	

Fonte: Elaborado pela autora (2022) adaptado de Maciel (2018) e Bezerra (2021).

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O presente trabalho foi desenvolvido conforme representado no fluxograma a seguir:

Fluxograma 1 – Metodologia da 1ª Etapa do projeto



3.1 Obtenção dos frutos Piquiá

O fluxograma 1 mostra o processo de aquisição e processamento do piquiá (*Caryocar villosum*). Os frutos frescos foram adquiridos em época de safra, nos meses de janeiro e fevereiro de 2022, no sítio particular na estrada do Coari, itapeuá, km 12, em Coari-AM, médio Solimões.

Os frutos foram levados ao laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) campus Coari, onde foram higienizados com água destilada para remover as sujidades em solução de hipoclorito de sódio a 2%. Foram secos em temperatura ambiente e, pesados numa balança analítica (martel). Em seguida, foram descascados e despulpados manualmente com uma faca, para obter as partes separadas (casca externa, casca interna e polpa).

Apenas a parte externa da semente (região anterior aos espinhos pontiagudos e a amêndoa) foi retirada com o auxílio de um ralo doméstico, visando obter tamanhos menores. Em seguida, todas as partes do fruto foram pesadas e armazenadas em recipientes apropriados, etiquetados e submetidas ao congelamento no freezer cânsul a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ para o processo de extração.

Todas as etapas foram realizadas de forma rápida para evitar a oxidação, devido à ação enzimática. As amostras foram mantidas congeladas no freezer cânsul, à temperatura de $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e encaminhadas ao Q-Bioma/Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal do Amazonas, Manaus. Alguns frutos secos inteiros foram depositados na Carpoteca do Instituto Federal do Amazonas-IFAM/Manaus com o número de registro C1395 e cadastrado no Sistema de Patrimônio Genético – SisGen, sob o número de registro ADB72F4.

3.2 Obtenção dos Extratos das diferentes partes do fruto

A seguir, as amostras devidamente pesadas foram submetidas ao processo de extração: maceração a frio por exaustão hidroalcoólico 8:2 (etanol/água). Depois, foram transferidas para um Erlenmeyer onde foram homogeneizadas, ficando em repouso no escuro à temperatura ambiente sem a presença de luz por (72h) e filtradas a cada maceração (24h, 42h e 72h).

Foi montado um sistema de filtração com o auxílio de um funil de vidro, suporte universal, argola, becker e uma fina camada de algodão, em seguida levados para à capela (Quimis) onde os extratos tiveram seus volumes reduzidos por evaporação do etanol.

Após serem filtrados, os extratos hidroalcoólicos foram rotaevaporados para retirada total do etanol, em um evaporador rotativo (fisaton), conectado a uma bomba de vácuo-sl (061

solab), acompanhado de uma manta aquecedora (Fisaton), com temperatura controlada de 20 °C e 30 °C. A cada rotaevaporação as amostras foram depositadas em recipientes adequados, etiquetados e submetidos ao congelamento no freezer cômputo, à temperatura de -2 °C.

Depois de serem congeladas (24h), as amostras em recipientes adequados passaram por processo de secagem em um liofilizador (LS 3000- terroni), até a secagem completa da água. O produto resultante foi pesado na balança analítica (Shimadzu), para obter os rendimentos de cada extrato, em seguida foram depositados em pote de vidro identificados devidamente pesados e armazenados na geladeira até o início das próximas análises.

3.3 Análises Cromatográficas

3.3.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Após serem liofilizados, os extratos de piquiá foram submetidos à análise qualitativa de Cromatografia em Camada Delgada. As placas cromatográficas de fase normal de gel de sílica (TLC, Sílica, gel 60, UV254, Aluminium-sheets, Macherey-Nagel) com dimensões de 10×5 cm foram marcadas cerca de 0,6 cm da base inferior da placa e 0,4 cm da base superior. Antes das amostras serem aplicadas, as placas foram limpas com eluição completa três vezes em metanol (CH₃OH) e ativadas em estufa (Nova Ética) por 1h a 100 °C, a fim de remover completamente a água.

Para este processo, os extratos hidroalcoólicos liofilizados da casca externa (epicarpo), casca interna (mesocarpo), polpa e semente foram pesadas separadamente na balança analítica (Shimadzu), na concentração de 5 mg/mL de metanol (CH₃OH).

Os eluentes preparados foram escolhidos conforme a natureza das amostras, a fim de obter a melhor separação cromatográfica como os listados na **tabela 1** (WAGNER & BLADT 1996). Dentre os sistemas testados optou-se pelo sistema de eluente **B**, que obteve melhor separação das substâncias: acetato de etila, hexano, ácido fórmico, ácido acético e água na proporção de 90:10:11:11:26 respectivamente, visando melhor separação dos constituintes químicos.

Após a ativação das placas, 5 µL de cada amostra foram aplicados na base inferior da placa 10 × 5 cm, limpa e ativada a 100 °C na estufa. Posteriormente, foram inseridas verticalmente numa cuba cromatográfica e eluídas em um sistema adequado.

Tabela 1 - Sistemas de eluentes testados nos extratos de de *C. villosum*

Sistema	Solventes	Proporção
A	(AcetoEt: Ác. Acético: Ác. Fórmico: Água)	(100:11:11:26)
B	(AcetoEt: Hex. Ác. Acético: Ác. Fórmico: Água)	(90:10:11:11:26)
C	(AcetoEt: Hex. Ác. Acético: Ác. Fórmico)	(90:11:11:11)
D	(AcetoEt: Hex. Ác. Acético: Ác. Fórmico: Água)	(95:05:11:11:26)

Fonte: adaptado de Wagner & Bladt (1996).

As placas foram reveladas com luz ultravioleta (254 e 365 nm), vanilina sulfúrica, NP-PEG, cloreto férrico a 3%, anisaldeído e DPPH. A revelação em luz ultravioleta foi feita em uma câmara TLC vizualizer da marca CAMAG. Para a obtenção do cálculo do fator de retenção (R_f) foi utilizado o software WinCats (versão 1.4.9.2001) (GUIMARÃES, 2005).

3.3.2 Cromatografia Líquida Acoplada ao Espectrômetro de Massas (UHPLC-MS/MS)

As análises foram realizadas no laboratório LADETEC da UFRJ. O programa Xcalibur 3.0.1 foi empregado no processamento dos dados. O procedimento foi realizado de acordo com Brito et al. (2022), com algumas adaptações. As amostras foram analisadas na concentração de 1 mg/mL de metanol grau CLAE e filtradas com o filtro PTFE de 13 mm com poro 0,45 μ m.

Os extratos foram analisados em um cromatógrafo Dionex Ultimate 3000 UHPLC (Thermo Scientific, Bremen, Germany) acoplado a um espectrômetro de alta resolução Q-Exactiva (Thermo Scientific, Bremen, Germany). A fase estacionária foi uma coluna Synchronis C18 (2.1 \times 50 mm, 100 Å – Thermofisher Scientific, Waltham, United States), com temperatura de 40 $^{\circ}$ C, e uma fase móvel com ácido fórmico 0,1% em água deionizada, formiato de amônio 5 mM (solvente A) e metanol acidificado com 0,1% de ácido fórmico (solvente B), com fluxo de 0,4 mL min⁻¹ por 11 minutos.

As análises de dados full scan e ms² foram obtidos usando a fonte de ionização eletrospray (ESI) operando no modo negativo, as amostras foram injetadas por injeção por inserção direta com fluxo de 100 μ L/min, na faixa de detecção de 150 - 800 m/z.

3.4 Determinação do perfil de fenóis totais pelo método *Folin-Ciocalteu*

A quantificação de fenólicos totais (FT) foi realizada pelo método de *Folin-Ciocalteu*, adaptado de Dobrinhas & Soceanu (2021). Inicialmente, 10 μ L de extratos, (com concentração 1 mg/mL) de DMSO foram inseridos em placas de 90 poços, em seguida adicionado 50 μ L do reagente *Folin Ciocalteu* a 10% e incubados sob proteção de luz por 8 minutos a temperatura ambiente. Logo após, adicionou-se 240 μ L de carbonato de sódio e (Na₂CO₃) a 0,4% e incubado

novamente por 3 minutos. A absorvância da mistura dos extratos foi medida em comprimento de onda de 620 nm no leitor de microplaca (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman).

O teor das substâncias fenólicas baseou-se na mudança da coloração amarela do meio para a coloração azul (escuro). As análises aconteceram em triplicata. Os resultados do conteúdo fenólico das amostras foram calculados conforme a equação 1, expressa em porcentagem e em μg equivalente de ácido gálico (padrão).

$$\text{Equação 1: Fenólicos totais (\%)} = \text{Abs (amostra)} / \text{Abs (padrão)} \times 100$$

3.5 Determinação do perfil de Flavonoides Totais

Para a quantificação de flavonoides totais foi realizada conforme o método de Denger et al. (2020), com adaptações. Inicialmente 30 μL de cada extrato com concentração de 1 mg/mL de DMSO foram depositados em placas de 96 poços e adicionados 90 μL de etanol, foi posteriormente realizada a primeira leitura em leitor de microplaca a 405 nm. Foi adicionado em cada poço 6 μL de cloreto de alumínio a 10%, 6 μL de acetato de potássio 1 M e 168 μL de água destilada. Feito isso, a placa foi incubada em ambiente escuro por 30 min a temperatura ambiente e realizada a leitura da placa, a fim de determinar a absorvância no comprimento de onda de 405 nm no leitor de microplaca (Multimode Detetor DTX 800 da Beckman).

Os resultados foram obtidos utilizando-se primeiramente, a diferença das absorvâncias das amostras e do padrão pela absorvância dos respectivos brancos. Em seguida determinada a concentração de flavonoides. Foi utilizada a quercetina como padrão. Todos os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados expressos em porcentagem. O cálculo do teor de flavonoides foi baseado na seguinte fórmula:

$$\text{Equação 2: \% flavonoides} = (\text{Absamostra} / \text{Abspadrão}) \times 100$$

3.6 Métodos para avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

3.6.1 Ensaio de eliminação do Radical livre DPPH

A determinação da atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH, foi realizado segundo a metodologia de Peixoto et al. (2018), com algumas modificações, em que se baseia na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o à hidrazina. A capacidade antioxidante das amostras foi avaliada pelo método de captura de radicais livres 1,1-diphenyl-1,2-picrylhydrazyl (DPPH). Inicialmente, pesou-se 1 mg de DPPH, diluído em 12 mL de etanol (P.A.) e verificado a absorvância da solução inferior 1,0.

Cerca de 200 μL das amostras de piquiá com concentração de 1 mg/mL de DMSO foi depositado no poço da placa de ELISA de 96 poços, em seguida foi adicionado no poço 1b 100 μL de DMSO, retirou-se 100 μL do poço e realizadas diluições sucessivas nos demais poços desprezando 100 μL ao final.

Foram retirados 90 μL do poço 1.^a e transferidos 30 μL aos poços 2.^a, 3.^a e 4.^a, repetiu-se o procedimento para os demais poços acrescentando 270 μL da solução de DPPH•. Em seguida a placa foi incubada e mantida sob reação por 30 minutos, sob proteção de luz, usou-se metanol (grau HPLC), como branco e a solução de DPPH (0,3 mM), como controle negativo.

A leitura da absorbância foi realizada no comprimento de onda de 515 nm em leitor de microplacas (Bio-Rad, modelo 3550 UV). Os resultados obtidos nesta pesquisa correspondem ao cálculo da média da triplicata e seu desvio padrão. A fórmula a seguir é utilizada para calcular a porcentagem da atividade antioxidante (% AA):

$$\% \text{ AA} = 100 - [(\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{extrato}})] \times 100$$

Onde Abscontrole é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH e Absamostra é a absorbância da mistura reacional (DPPH + amostra).

3.6.2 Ensaio eliminação de Radical livre ABTS

O método selecionado, foi baseado nos métodos de Brito et al. (2022), com algumas modificações. Inicialmente, preparou-se a solução, pesando 5 mg de ABTS e 6 mg de Persulfato de Potássio, diluído em 5 mL de água deionizada. Cerca de 30 μL de cada solução de extrato diluído em MeOH grau HPLC na concentração (1 mg/mL) foi transferida para uma placa de ELISA de 96 poços e acrescida de 270 μL de ABTS.

A determinação da porcentagem de inibição de ABTS foi concluída em triplicatas, logo depois encubadas, mantidas sob reação por 15 minutos e sob proteção de luz, foram utilizados metanol (grau HPLC), como branco e a solução de ABTS, como controle negativo. Após incubação a 30 °C, a absorbância foi lida a 734 nm em um espectrofotômetro (Kasuki UV-VIS) e comparada com uma curva do padrão ácido gálico.

As análises foram realizadas em triplicata e após os resultados obtidos, determinou-se a porcentagem de ABTS•+. Para o cálculo da concentração de inibição foi utilizada a fórmula:

$$\% \text{ Inibição} = 100 - [(\text{Acont} - \text{Aextr}) / \text{Acont}] \times 100$$

Onde: Acont foi a absorbância do controle, Aextr a absorbância da amostra em solução.

As análises estatísticas utilizadas, para obtenção dos dados desta pesquisa, dos testes realizados: antioxidantes (ABTS* DPPH) e de Fenóis e flavonoides teve como suporte o Software GraphPad Prism Versão 7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA).

3.7 Ensaio biológico *in vitro*

3.7.1 Avaliação da Citotoxicidade e viabilidade celular

O teste de citotoxicidade pelo método do Alamar Blue é uma técnica comumente utilizada para avaliar a viabilidade celular e a citotoxicidade de substâncias em culturas de células. Esse ensaio é baseado na capacidade das células viáveis de reduzir o reagente Alamar Blue, resultando em uma mudança de cor observável (NAKAYAMA et al., 1997).

O teste de viabilidade e citotoxicidade dos extratos, foram avaliados pelo método de alamar blue Nakayama et al. (1997), com modificações. As amostras foram solubilizadas em H₂O e testadas em oito concentrações: 100 µg/mL a 0,78 µg/mL frente a linhagem epitelial renal derivada de rim de macaco verde africano (VERO). Nesse processo, a linhagem VERO foi cultivada em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado com 10% de soro fetal bovino inativado (Gibco), e antibióticos penicilina (50µg/mL). Todos os ensaios realizados em triplicata.

As células plaqueadas na concentração de $1,0 \times 10^4$ células/poço em placa de 96 poços. A partir das 24 horas de incubação, as células foram tratadas com os extratos nas concentrações que variaram de 100 µg/mL a 0,78 µg/mL. Em seguida, as placas foram mantidas em uma incubadora de CO₂ por 72 horas a 5% de CO₂ a 37 °C. Em seguida, foi adicionado 10 µL de resazurina 0,4% (diluída 1:20) em cada poço. As placas foram incubadas em condições ambientais adequadas, em uma incubadora de cultura celular, por um determinado tempo.

Durante a incubação, as células vivas reduzem o reagente Alamar Blue (Sigma-Aldrich, Brasil), levando a uma mudança de cor. Durante esse processo foi realizada a medição da absorbância da solução usando um espectrofotômetro (GloMax Explorer) no comprimento de onda na faixa de 580 – 640 nm.

A intensidade da cor resultante está diretamente relacionada à viabilidade celular. Como controle positivo foi utilizado o crescimento celular; e como negativo o DMSO 0,1%. Como controle de droga foi utilizado a doxorrubicina e testadas nas mesmas concentrações dos peptídeos. Os dados obtidos foram calculados estatisticamente e comparados com um controle negativo (sem tratamento) e um controle positivo (alta citotoxicidade) para determinar a

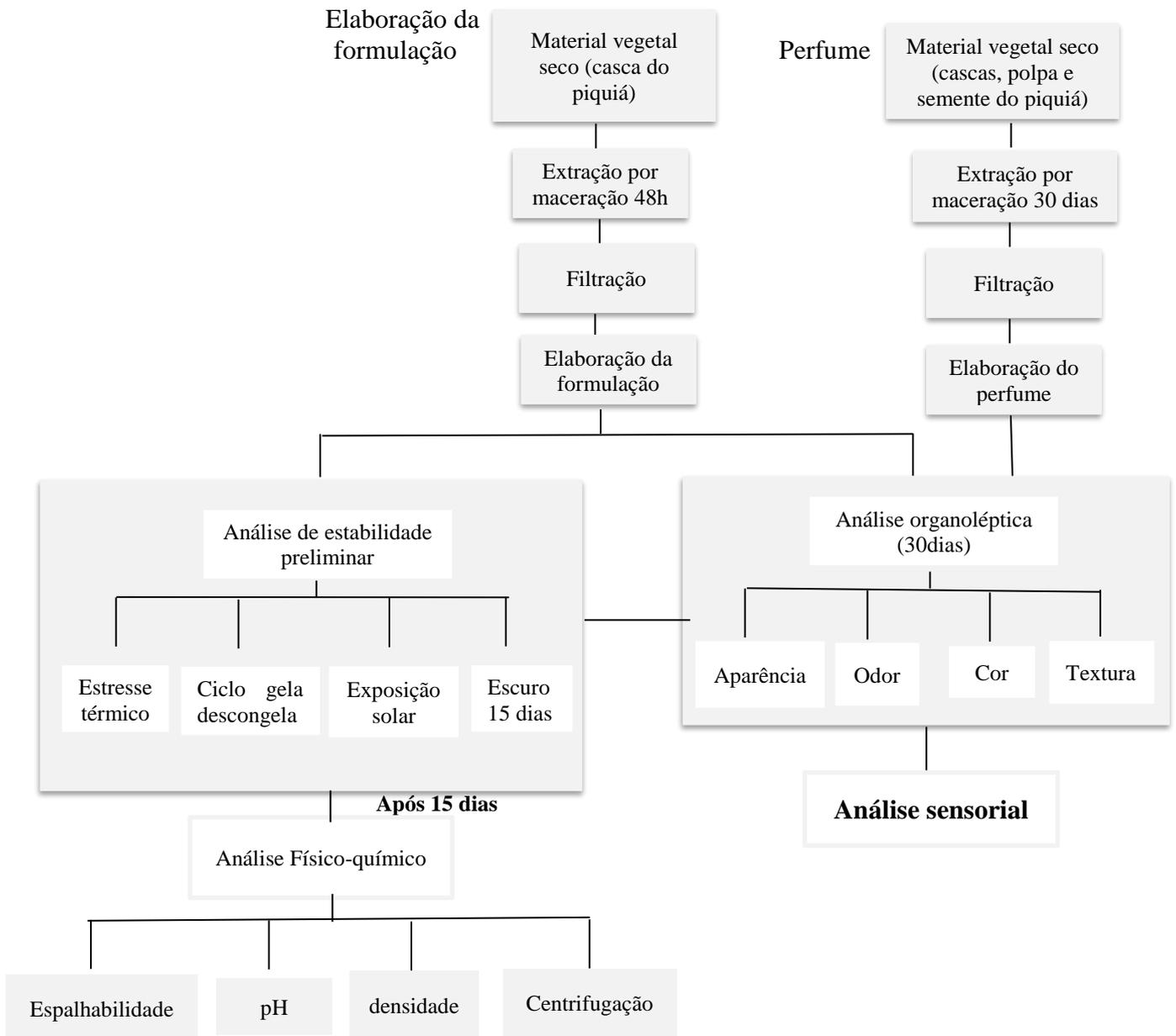
viabilidade e citotoxicidade das células em diferentes condições experimentais. A porcentagem de viabilidade celular foi calculada conforme a fórmula:

$$\% \text{ Viabilidade} = Ft \times 100 / Fb,$$

onde Ft= (fluorescência da célula + meio + substância + resazurina)

e Fb= (fluorescência da célula + meio + resazurina).

Fluxograma 2 – Elaboração do perfume, da formulação hidratante do piquiá, análises de estabilidade, físico-químico e sensorial



Fonte: Autora (2023).

3.8 Preparação para elaboração do perfume e do creme de piquiá

Os produtos cosméticos (perfume e Hidratante) foram elaborados no Laboratório de Química Orgânica do Instituto de Saúde e Biotecnologia do ISB/UFAM-Coari.

3.8.1 Processamento do material vegetal

O fluxograma 2 mostra o processo de preparação do extrato glicólico do material vegetal seco do piquiá e posteriormente a elaboração do perfume e da formulação em creme artesanal. Primeiramente foi realizada a higienização do fruto com água destilada e hipoclorito para a retirada das sujidades e secados a temperatura ambiente. Logo após foram descascados, despulpados e submetidos à secagem em uma estufa de ar circulante a 40 °C por 72h até a retirada completa da água. Após esse período as partes secas foram trituradas separadamente em tamanhos menores em um moinho de facas marca Willey (CALDEIRA et al., 2020).

3.8.2 Extração glicólica do material vegetal de piquiá para o perfume

Para a obtenção da essência do piquiá, pesou-se 10 g do material vegetal (casca externa, casca interna, polpa e semente) individualmente em uma balança analítica Shymadzu e transferida para um recipiente âmbar. Para o preparo da solução foi medido 400 mL de propileno glicol e adicionado à amostra devidamente pesada. O processo de extração por exaustão durou 30 dias sem luminosidade a temperatura ambiente. Após esse período, foi realizada a filtragem da amostra com o auxílio de um funil de vidro, suporte universal, argola, frasco âmbar e uma fina camada de algodão a fim de obter um filtrado eficiente. A essência foi conservada na geladeira marca cònsul a -5 ± 2 °C até a elaboração do perfume.

3.8.3 Elaboração do perfume a partir do piquiá

Para a elaboração do perfume, foi medido 1 mL de cada amostra em um vidro âmbar adequado para perfume, em seguida foi acrescentado 5 mL de veículo para o perfume sobre a essência, até a homogeneização completa. O perfume elaborado permaneceu em repouso no armário por 30 dias, sem a presença de luz à temperatura ambiente. Após esse período, o perfume elaborado foi alternado por 10 dias em ciclos de 24 horas, permanecendo na geladeira marca cònsul a -5 ± 2 °C e à temperatura ambiente. Após esse período, o produto permaneceu em repouso na geladeira por 7 dias consecutivos. Ao término do processo o perfume foi filtrado com auxílio de um funil e algodão para a retirada das partículas presentes.

3.8.4 Extração glicólica da casca do piquiá para a formulação hidratante

Para a obtenção do extrato glicólico do piquiá, 50 g do material vegetal seco (cascas) foi pesado em uma balança analítica Shymadzu e transferida para um recipiente âmbar, logo após foi medido com o auxílio de uma proveta 100 mL de álcool de cereais, 400 mL de propileno glicol e adicionado à amostra devidamente pesada. O processo de extração durou 48h. Ao final desse período foi realizada a filtração do extrato com a ajuda de um funil de vidro e algodão para obter um filtrado eficiente. O extrato foi conservado na geladeira cânsul à -5 ± 2 °C até a elaboração da formulação.

3.9 Elaboração do fitocosmético artesanal a partir da casca de piquiá

A elaboração da formulação hidratante corporal artesanal foi baseada nos métodos de Torres et al., (2018a); Raiser et al., (2018); Pegorin et al., (2020) com adaptações. Inicialmente a ureia foi adicionada em água desmineralizada a 20 ± 25 °C, em seguida foram adicionados os demais componentes da formulação: base em creme a frio, propileno glicol, extrato glicólico da casca do piquiá, miristato de isopropila, nipagin, essência a gosto e água desmineralizada, o processo se deu sob constante agitação, para obtenção da consistência desejada do creme até a homogeneização completa dos componentes.

3.10 Avaliação preliminar de estabilidade da formulação

Após 24 horas da criação da formulação artesanal, o produto foi submetido a uma avaliação preliminar de estabilidade. Nesse processo foram separados 8 (oito) recipientes de vidro diferentes, devidamente pesados e identificados. Posteriormente, foram adicionados 200g de creme artesanal em cada recipiente para a realização dos testes escolhidos neste estudo. Os testes foram executados em duplicata e tiveram duração de 15 dias consecutivos (PIANOVSKI et al., 2008; TORRES et al., 2018a; PEGORIN et al., 2020).

3.10.1 Estresse térmico

Para esta avaliação, as amostras em duplicata contendo 200g de formulação cada foram mantidas em recipientes de vidro apropriados, onde foram submetidas a um estresse térmico com elevação de temperatura em uma estufa de ventilação. A temperatura inicial foi de 40 °C, e a cada 30 minutos a temperatura era elevada em 5 °C até atingir 80 °C (ISAAC et al., 2008).

3.10.2 Ciclo gela descongela

Durante esse procedimento, as amostras duplicadas contendo cerca de 200g de formulação foram inseridas em recipientes de vidro devidamente fechados. Essas amostras foram submetidas a ciclos alternados a cada 24 horas, nos quais as formulações foram mantidas em temperatura baixa em geladeira marca cònsul com temperatura de -5 ± 2 °C e estufa de ar circular com temperatura de 45 ± 2 °C por 15 dias (PIANOVSKI et al., 2008; ISAAC et al., 2008).

3.10.3 Fotoperíodo ou exposição luminosa (15 dias)

Para esta análise foram pesadas 200g de formulações em recipientes de vidro adequados em duplicata. Em seguida, foram submetidas ao efeito da luz solar por 15 dias consecutivos, visando verificar sinais de instabilidade da formulação hidratante elaborada após a exposição ao sol (PEGORIN et al., 2020).

3.10.4 Sem exposição luminosa por 15 dias

Esse procedimento foi adaptado pelo método de Isaac et al., (2008) e posteriormente Raiser et al., (2018). O processo consistiu em observar, por 15 dias, as formulações a base de piquiá que foram armazenadas em recipientes adequados em local escuro à temperatura ambiente sem a luz do sol.

3.11 Análises físico-químicos

Segundo as normas da ANVISA (2004), esses parâmetros físico-químicos são fundamentais para a verificação de instabilidade das formulações. O objetivo é verificar se ocorrem alterações nas características das formulações após serem submetidas a testes preliminares de estabilidade, com variações de temperaturas e condições de armazenamento diferentes por determinado tempo, decorrentes dos componentes da formulação ou do processo de fabricação adequado (ANVISA, 2004; ISAAC et al., 2008).

3.11.1 Teste de pH

O método foi aplicado consoante a ANVISA (2004), para verificar o pH da formulação. A solução a 10% (m/v) foi preparada com 10g de formulação pesada na balança analítica (marTE AD330), depois diluída em 100 mL de água destilada com a ajuda de um agitador magnético (LUTECH). Em seguida, foi utilizado um pH-metro modelo (pH-5000 Instrutherm), calibrado

com soluções-tampão de pH 4 e pH 7. Após a calibração do pH-metro verificou-se o pH das amostras submetidas ao estresse térmico, ciclo gela degela, as amostras expostas à luz e armazenadas à temperatura ambiente (20 – 25 °C) na ausência de luz por 15 dias (ISAAC et al., 2008; RAISER et al., 2018; TORRES et al., 2018a).

3.11.2 Teste de densidade

As densidades das amostras foram determinadas segundo o método estabelecido pela Farmacopeia Brasileira, (2019) e por Raiser et al., (2018) com algumas modificações, após serem submetidas aos testes de estabilidade preliminar com variações bruscas de temperaturas. A densidade relativa da substância pode ser avaliada com um picnômetro limpo e seco, que tenha sido previamente calibrado.

A calibração consiste na determinação da massa do picnômetro vazio (M_0) e da massa de seu conteúdo com água (M_1), recentemente destilada e fervida a 20 °C. Para a padronização da densidade, foi utilizado um picnômetro de vidro seco e vazio de 100 mL. Posteriormente foram inseridas amostras no picnômetro (limpo e seco) cuidadosamente, até que o recipiente estivesse completamente preenchido, sem permitir a formação de bolhas. Em seguida, a amostra (M_2) foi pesada. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As densidades foram calculadas conforme a seguinte equação:

$$d = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

Onde:

d = densidade

M_0 = massa do picnômetro vazio, em gramas

M_1 = massa do picnômetro com água destilada, em gramas

M_2 = massa do picnômetro com a amostra, em gramas

3.11.3 Teste de Centrifugação

Para verificar a separação de fases, as formulações foram centrifugadas numa máquina centrífuga (QUIMIS) a 24 °C. Foram pesadas 10g de cada amostra em 8 microtubos falcom de 15 mL, as quais foram submetidas a rotações de 1000, 2500 e 3500rpm, gradativamente por 30 minutos para averiguar a estabilidade do produto. Em seguida, as amostras foram armazenadas à temperatura 20 \pm 24 °C, sem a presença de luz (RAISER et al., 2018; TORRES et al., 2018a).

3.11.4 Teste de Espalhabilidade

Para avaliar a espalhabilidade da formulação elaborada, utilizou-se o método de Isaac e colaboradores (2008) e, posteriormente, Raiser et al., (2018). Cerca de 1g de creme foi adicionado ao centro de uma placa de petri de 15 cm de diâmetro, sobre um papel milimetrado. Em seguida, a cada 5 minutos, foram inseridos pesos registrados de 100, 200, 300 e 500g, o que permitiu a distribuição das amostras. O diâmetro médio (média aritmética de dois diâmetros opostos) atingido pelo creme espalhado na placa era determinado pela adição de peso. Em seguida, foi calculada a espalhabilidade das amostras de creme conforme a equação a seguir. Os valores da espalhabilidade foram determinados em duplicatas, calculando-se a média e o desvio padrão.

$$E_i = D^2 \times \pi / 4.$$

Onde: E_i = espalhabilidade da amostra para peso i (mm²),

D = diâmetro médio (mm),

$\pi = 3,14$.

3.12 Avaliação organoléptica

Durante 15 dias, a formulação hidratante foi examinada de forma macroscópica, conforme a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2004) como, cor (opaco/marrom/amarelo/escuro), odor (cheiro), textura (cremoso/arenato/liso/pastoso) e aparência (homogênea/heterogênea).

Os testes foram conduzidos por meio da comparação com uma amostra de referência, em condições ambientais controladas para evitar alterações nas suas propriedades organolépticas (ANVISA, 2004). Ao ser exposto à luz branca natural, o produto foi avaliado macroscopicamente, em relação à cor, aparência homogênea/heterogênea, aspecto ou textura, se estava cremoso/arenato/liso/pastoso, para identificar se havia materiais sólidos ou sujeiras presentes ou ausentes. O sentido do olfato foi utilizado para determinar o parâmetro de odor para o parâmetro de odor.

3.13 Análise sensorial

A avaliação sensorial é uma técnica empregada para examinar as qualidades de um produto, ou seja, suas propriedades percebidas pelos sentidos, tais como aroma, aparência,

sensação após o uso, cremosidade, habilidade de limpeza e intenção de compra, além de investigar o conhecimento dos avaliadores sobre os produtos produzidos com a matéria-prima em questão.

Após a aprovação do Comitê de Ética (CAAE: 23318819.9.0000.5020), o perfume e o creme hidratante artesanal da casca de piquiá foram submetidos à avaliação sensorial no Laboratório de Química Orgânica do ISB — UFAM/Coari.

Os participantes do sexo feminino e masculino tiveram a oportunidade experimentar, as amostras de perfume e da formulação hidratante disponíveis na bancada. Todos os convidados participaram da pesquisa e responderam os questionários sugeridos nesta pesquisa.

A avaliação sensorial é uma forma de avaliar a aceitação dos consumidores. Um grupo de pessoas selecionados foi convidado a experimentar o produto para avaliar a qualidade. A avaliação foi realizada subjetivamente, por meio de questionários com escalas de avaliação. Os consumidores descreveram sobre as características do produto e deram *feedback* sobre suas experiências.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento dos extratos de cascas (epicarpo e mesocarpo), polpa e sementes de piquiá

As amostras de cascas, polpas e sementes submetidas ao processo de extração por maceração a frio por exaustão, em solução hidroalcoólica 8:2, apresentaram rendimentos satisfatórios. Conforme mostra a **figura 15** e a **tabela 2**.

Figura 15 – Rendimento dos extratos liofilizados



Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Tabela 2 - Rendimento da extração hidroalcoólica de cascas, polpas e sementes de piquiá

Parte do fruto (Piquiá)	Material vegetal utilizado (g) (fresco)	Rendimento (%) (Extrato liofilizado)
EHCEPL	100g	17,18
EHCIPL	100g	19,32
EHPPL	100g	15,47
EHSPL	50g	7,21

Fonte: Autora (2022).

Legenda: (EHCEPL) Extrato hidroalcoólico da casca externa piquiá liofilizado; (EHCIPL) Extrato hidroalcoólico da casca interna piquiá liofilizado; (EHPPL) Extrato hidroalcoólico polpa piquiá liofilizado; (EHSPL) Extrato hidroalcoólico semente de piquiá liofilizado.

A tabela 2 apresenta os resultados da extração hidroalcoólica de diferentes partes do piquiá. O material vegetal resultou em extratos adequados às análises químicas e biológicas. Apresentaram rendimento: epicarpo, 17,18%, mesocarpo, 19,32%, seguido da polpa, 15,47% e sementes, 7,21%.

Estudos anteriores obtiveram resultados similares aos encontrados nesta pesquisa. Yamaguchi (2015), teve resultados semelhantes nos extratos etanólicos obtidos por maceração das cascas de piquiá, com um rendimento de 11,76%, enquanto nas extrações hidroalcoólicas houve um rendimento de 14,73%. Maciel (2018), teve um rendimento das cascas de 13,36%

nos extratos etanólicos por método de Soxhlet e nos extratos da semente em hexano de 41,31%, indicando a presença de abundantes moléculas polares.

Vale destacar, que a obtenção dos rendimentos no processo de extração de compostos bioativos pode variar conforme o método de cada processo de extração. Alguns fatores podem influenciar nesse procedimento, como o tipo de extração, época de coleta do material a serem extraídos, condições ambientais do solo, manuseio do material no período da coleta. Para a este trabalho optou-se em utilizar um solvente de baixo custo e maior disponibilidade no mercado (etanol e água), em comparação com outros solventes, reduzindo prejuízos à saúde humana e ao meio ambiente e consequentemente proporciona maiores rendimentos nos extratos (CHISTÉ et al., 2013; YAMAGUCHI, 2015; MACIEL, 2018; JARAMILLO et al., 2019).

4.2 Perfil cromatográfico dos extratos de cascas, polpa e sementes de piquiá

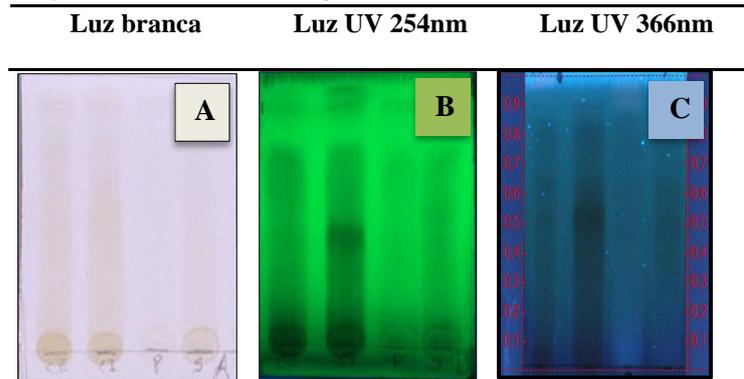
Por meio do método de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), foram comparados qualitativamente os extratos liofilizados das diferentes partes do fruto piquiá: a casca externa (epicarpo) CE e a casca interna CI (mesocarpo), a polpa P e as sementes S.

A escolha do eluente foi apropriada, uma vez que possibilitou uma separação mais precisa das substâncias analisadas na placa cromatográfica, além de ter uma melhor seletividade para AcOET, hexano, ácido acético, ácido fórmico e água, nas proporções de 90:10:11:11:26, respectivamente (WAGNER & BLADT, 1996).

Os extratos preparados na concentração de 5 mg/mL de metanol foram aplicados em bandas a 0,5 cm da base inferior da placa, que foi previamente limpa e ativada, permitindo a interação com a fase móvel e a eluição das placas cromatográficas.

A utilização de reveladores específicos permitiu a identificação de diversos compostos fenólicos e flavonoides presentes nos extratos de *C. villosum*, como NP-PEG, DPPH, vanilina sulfúrica, Cloreto Férrico 3% e Anisaldeído, conforme ilustrado na **figura 16** (A, B, C, D e E) (GUIMARÃES, 2005).

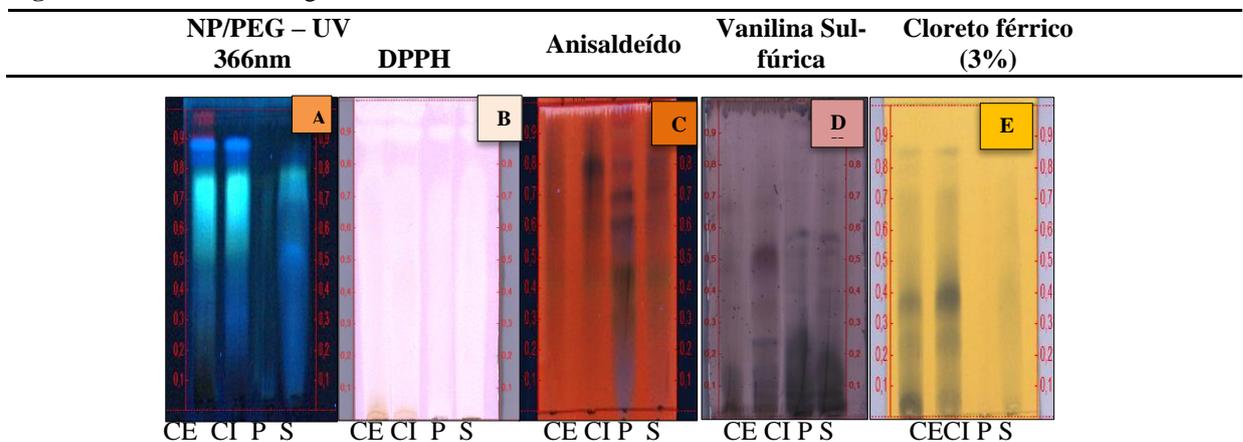
A **Figura 16-B**, mostra substâncias escuras características de compostos fenólicos, presentes nos extratos de piquiá, com destaque nos extratos da casca externa (CE) e da casca interna (CI) com *fator de retenção* (Rf: 0,4, 0,6 e 0,8) e semente (S) de Rf (0,8), enquanto o extrato da polpa foi pouco observado. Quando se observa a luz UV 366 nm na Figura 16-C, percebe-se que as cores escuras e as fluorescências são características de substâncias fenólicas, com valores de Rfs próximos aos obtidos nos trabalhos de Maciel (2018) estudando a mesma espécie.

Figura 16 - Placas cromatográficas dos extratos (EHCECIPSP)

Fonte: Autora (2022).

Legenda: Revelada na luz branca (A), UV 254nm (B) e UV 366nm (C) Legenda: (EHCEP) Extrato hidroalcoólico da casca externa piquiá; (EHCIP) Extrato hidroalcoólico da casca interna piquiá; (EHPP) Extrato hidroalcoólico polpa piquiá; (EHSP) Extrato hidroalcoólico semente de piquiá.

A figura (17) mostra as placas cromatográficas dos extratos de piquiá, com perfis químicos distintos, que são característicos dos fenólicos presentes nos extratos do fruto (JORK et al., 1990; GUIMARÃES, 2005).

Figura 17 - Placas cromatográficas revelada com diferentes reveladores

Fonte: Autora (2022).

Legenda: Placas com reveladores, A-NP/PEG, B- DPPH, C-Anisaldeído, D-Vanilina Sulfúrica, E- Cloreto férrico (CEP) Extrato hidroalcoólico da casca externa piquiá; (CIP) Extrato hidroalcoólico da casca interna piquiá; (P) Extrato hidroalcoólico polpa piquiá; (S) Extrato hidroalcoólico semente de piquiá.

As cromatoplasmas reveladas com o difenilborato aminoetanol/PEG ou NP/PEG, apresentaram fluorescência intensas de tons roxo, azul-esverdeado e amarelo, nos extratos das cascas do fruto (epicarpo e mesocarpo) (CE e CI) com Rfs (0,4 0,5, 0,6, 0,7 e 0,8), e na semente (S) com fator de retenção (0,5, 0,6). Os complexos fluorescentes formados são resultados do

contato do revelador com os flavonoides, e quando expostos à radiação em $\lambda=366$ nm os flavonoides exibem fluorescência com cores bem acentuadas devido à formação desses complexos, indicando a presença de flavonoides glicosilados (WAGNER & BLADT, 1996).

Os extratos revelados com o DPPH mostraram atividade antioxidante na figura 17 (B). Esse teste é usado para determinar o potencial antioxidante de polifenóis presentes nos extratos. A revelação com este revelador apresentou rastros amarelo-claros, indicando substâncias antioxidantes, como os fenólicos, presentes em todos os extratos do fruto. Este dado indica substâncias que neutralizam radicais livres, em concentrações menores no extrato da polpa em comparação com os extratos das cascas e sementes. Resultados que foram comprovados na análise quantitativa nos testes antioxidantes (DENGER et al., 2020).

Quando revelados com reveladores universais: anisaldeído e vanilina sulfúrica, os extratos mostraram substâncias de tons roxo ou azul-violeta, indicando a presença de saponinas e/ou terpenos glicosilados (substâncias fenólicas), sobretudo nos extratos de casca externa e casca interna e na polpa, enquanto o extrato da semente apresentou uma concentração menor. Correlacionando com os dados de Maciel, (2018) ao analisar o perfil cromatográfico da fração da casca do fruto de piquiá em CCD, utilizando mesmo revelador vanilina.

O perfil químico revelado com cloreto férrico a 3% indicou a presença de fenóis com maior intensidade nos extratos da casca do fruto (epicarpo e mesocarpo), (CE e CI), com *R_fs* (0,3, 0,4, 0,5, 0,6 e 0,8). O aparecimento de cores acentuadas de tons verde intenso, roxo, azul-violeta e preto pode ser observada nos extratos da semente, com menor intensidade no extrato da polpa **figura 17 (E)**. Esses resultados foram comprovados na análise quantitativa de fenóis totais pelo método de *Folin & Ciocalteu* (WAGNER & BLADT, 1996; LEAL et al., 2016; YAMAGUCHI et al., 2017).

Denger e colaboradores (2020), relacionaram a presença dos fenólicos nas amostras de *C. brasiliense* com a alta capacidade de sequestrar radicais livres pelo método DPPH, uma vez que os extratos com maior concentração de fenóis totais foram os que apresentaram maior atividade antioxidante.

4.3 Estimativa da atividade antioxidante frente aos radicais DPPH* e ABTS⁺ *in vitro*

Os testes DPPH* e ABTS⁺ permitem identificar a capacidade antioxidante dos produtos naturais. Esses métodos rápidos consistem em avaliar a capacidade da amostra de reduzir os radicais livres através da transferência de elétrons (DENGER et al., 2020).

Nesta pesquisa foi estimada a atividade antioxidante através da varredura dos radicais livres DPPH dos extratos liofilizados das quatro partes do piquiá: casca externa (CE), a casca interna (CI), a polpa (P) e a semente (S). Os extratos apresentaram alta atividade de eliminação de radicais livres, quando comparados ao padrão (ácido gálico), antioxidante usado como controle positivo. A **tabela 3**, ilustra a porcentagem antioxidante presente nos extratos de piquiá e a capacidade de sequestro dos radicais DPPH• e ABTS^{•+} em 50% da concentração de inibição das amostras.

Tabela 3 - Atividade antioxidante dos extratos de piquiá frente aos radicais DPPH* e ABTS^{•+}

Extratos de piquiá (µg/mL)	% de DPPH*	DPPH*/IC ₅₀ (µg/mL)	% ABTS ^{•+}	ABTS ^{•+} /IC ₅₀ (µg/mL)
EHCEPL	79,77±0,49	27,11 ± 1,56	90,78±0,30	16,13±1,18
EHCIPL	77,92±0,77	53,48± 1,92	92,20±0,26	33,79±2,14
EHPPL	61,12±1,80	79,49 ± 2,97	91,39±0,23	36,81±3,7
EHSPL	72,50±3,15	56,07 ± 2,88	91,54±0,39	50,74±0,81
Ácido gálico (padrão)	80,54±1,34	14,7 ± 1,35	91,13±0,48	10,11±0,18

Fonte: Autora (2022).

Legenda: (EHCEPL) Extrato hidroalcoólico da casca externa do piquiá liofilizado; (EHCIPL) Extrato hidroalcoólico da casca interna do piquiá liofilizado; (EHPPL) Extrato hidroalcoólico da polpa do piquiá liofilizado; (EHSPL) Extrato hidroalcoólico da semente de piquiá liofilizado.

A forma mais comum de expressar os resultados deste método é calcular o IC₅₀. Quanto menor for o IC₅₀ apresentado pelo extrato, menor a quantidade do extrato necessário para reduzir 50% do DPPH radical, e maior sua atividade antioxidante (MONTEIRO et al., 2015).

4.3.1 Atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH*

Segundo o método de varredura do radical DPPH*, os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram a casca externa, (79,4% com IC₅₀ 27,11 ± 1,56 de µg/mL) de concentração efetiva, seguido da casca interna, (77,4% com IC₅₀ 53,48± 1,92 µg/mL), comparando com o padrão (ácido gálico) IC₅₀ 14,7 ± 1,35 µg/mL de concentração efetiva. Já os extratos da semente exibiu, (72,50% com IC₅₀ 56,07 ± 2,88 de µg/mL) de concentração efetiva. Em contrapartida, o extrato da polpa exibiu, (61,12±1,80% µg.mL) com (IC₅₀ 79,49 ± 2,97 µg.mL) de concentração efetiva.

Esses resultados foram sinalizados na análise qualitativa realizado em CCD. Os dados obtidos correlacionam com a literatura. Monteiro et al., (2015) ao investigarem as cascas da espécie *C. brasiliense*, identificaram (93,90±0,40% µg.mL), com (CE₅₀37,96±0,19 µg.mL) de concentração efetiva.

Os resultados realizados neste trabalho correlacionam com os dados de Ferreira et al. (2011), avaliaram o potencial antioxidante DPPH em porcentagem total dos extratos da espécie *C. brasiliense* e obtiveram valores de inibição do radical acima de 90% em todos os extratos testados (aquoso, etanólico, hexânico, diclorometano e acetato de etila).

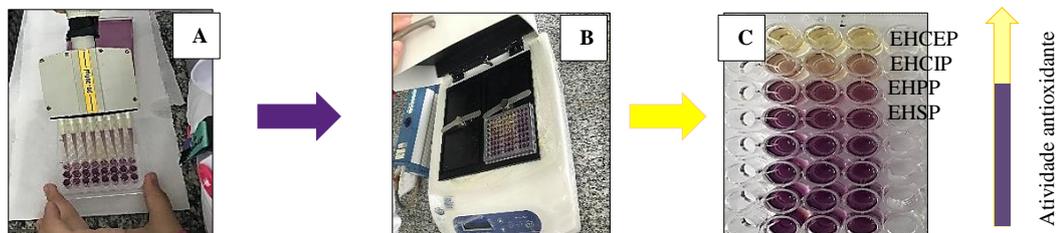
Roesler e colaboradores (2008), investigaram os extratos de *C. brasiliense* e comprovaram atividade de eliminação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil com, (CE_{50} 9,44 μ g.ml⁻¹). Eles relacionaram esse potencial ao alto teor de fenol total (209g como ácido gálico equivalente kg⁻¹), sendo mais abundante nas cascas do fruto, por meio do método relevante de peroxidação lipídica induzida (ROCHA et al., 2015).

Nos estudos de Roll et al., (2018) ao investigarem a atividade antioxidante do óleo da polpa de *C. brasiliense* identificaram (CE_{50} 26,26 μ g.mL) de concentração efetiva. Enquanto Ferreira et al., (2011); Morais et al., (2013) estudando a mesma espécie, identificaram (CE_{50} 188,50 e CE_{50} 15,54 μ g.mL) de concentração efetiva.

Na **figura 18**, é possível notar no ensaio colorimétrico, uma mudança na coloração dos extratos de roxo para amarelo-claro, o que corrobora com as informações encontradas na literatura referente às espécies do gênero. A mudança de coloração durante a reação entre o radical e uma substância antioxidante é um indicador de que a substância investigada tem uma elevada habilidade de sequestrar radicais livres presentes (DPPH•) (RUFINO et al., 2007; CHISTÉ et al., 2012a; LEÃO et al., 2017).

Esses resultados correlacionam com os dados que ficaram evidenciados em CCD, CLAE/EM, nos testes de fenóis pelo método de *Folin Ciocalteu* e flavonoides totais. Vale destacar a importância da utilização de outros métodos de avaliação para a obtenção de maiores resultados desta atividade.

Figura 18 – Ensaio antioxidante (colorimétrico) frente ao radical livre DPPH•



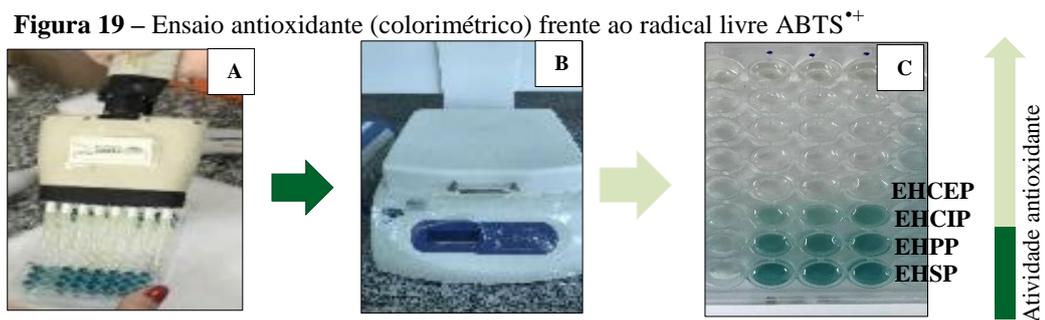
Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Legenda: (A)- concentrações dos extratos nas placas elisa; (B) incubação da amostra (30 min), (C)- (EHCEP) Extrato hidroalcoólico da casca externa do piquiá; (EHCIP) Extrato hidroalcoólico da casca interna do piquiá; (EHPP) Extrato hidroalcoólico da polpa do piquiá; (EHSP) Extrato hidroalcoólico da semente de piquiá.

Os estudos de Roxo et al. (2020), evidenciaram uma intensa atividade de eliminação de radicais livres, semelhante à do ácido ascórbico. Eles associaram à alta capacidade antioxidante ao composto majoritário, ácido gálico, presente nos extratos de *C. villosum*.

4.3.2 Atividade antioxidante frente ao radical livre ABTS^{•+}

Quanto à captura do radical livre ABTS^{•+}, a maioria dos extratos hidroalcoólicos das partes do fruto apresentaram alta atividade antioxidante frente ao radical ABTS^{•+}, os resultados foram sinalizados no ensaio colorimétrico **figura 19**. Dentre as amostras de piquiá, que apresentaram maior capacidade de sequestrar os radicais livres foram os extratos da casca externa, (90,78±0,30%) e (CE₅₀ 16,13±1,18 µg.mL), seguido da casca interna, (92,20±0,26%) e (CE₅₀ 33,79±2,14 µg.mL), enquanto os extratos da semente, (91,54±0,39%) e (CE₅₀ 50,74±0,81 µg.mL) e os extratos da polpa, (91,39±0,23%) e (CE₅₀ 36,81±3,7 µg.mL), conforme ilustrados na **tabela 3**.



Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Legenda: A-aplicação das amostras nas placas elisa; B-incubação das amostras; C-(EHCEP) Extrato hidroalcoólico da casca externa do piquiá; (EHCIP) Extrato hidroalcoólico da casca interna do piquiá; (EHPP) Extrato hidroalcoólico da polpa do piquiá; (EHSP) Extrato hidroalcoólico da semente de piquiá.

Os estudos de Yamaguchi (2015), revelaram alta atividade antioxidante nos extratos hidroalcoólico de cascas, polpa e sementes de piquiá frente aos radicais livres DPPH^{*} e ABTS^{•+}, e associaram os resultados da atividade *in vitro* em linhagem celular com a elevada atividade antioxidante dos extratos. Através dos testes espectrofotométricos dos extratos hidroalcoólicos, as amostras apresentaram alta capacidade em sequestrar os radiais livres.

Outros estudos realizados com a espécie correlacionam a atividade antioxidante com a espécie estudada nesta pesquisa. Bezerra, (2021) ao investigar a atividade antioxidante dos extratos das cascas do caule de *C. villosum* por meio do ensaio colorimétrico *in vitro*, identificou alta porcentagem total de inibição entre 91,3 a 95,3% para a maioria dos extratos. Todavia, as substâncias isoladas apresentaram porcentagens totais de inibição de (76,7% a 73,2%).

Braga e colaboradores (2022) comprovaram que o extrato hidroalcoólico da casca de pequi (*C. brasiliense*) rico em polifenóis, tem o poder de aumentar as enzimas antioxidantes e reduzir os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) em células endoteliais de artéria coronária humana.

4.4 Quantificação de Fenóis Totais nos diferentes extratos de *Caryocar villosum*

A tabela 4, expõe os valores obtidos de fenólicos e Flavonoides nos extratos das diferentes partes do piquiá (cascas, polpa e semente).

Tabela 4 - Estimativa da concentração de **Fenóis e Flavonoides** nos extratos de *C. villosum*

Extratos (1mg/mL)	% de Fenóis totais mgEAG/g	% de flavonoides mgQCE/g
EHCEPL	57,66±0,9	95,41±0,16
EHCIPL	53,40±3,1	84,41±0,18
EHPPL	28,80±2,46	27,12±0,02
EHSPL	54,50±0,83	44,98±0,16
Padrão ác. Gálico	76,37±4,00	
Padrão quercetina		99,47±2,7,41

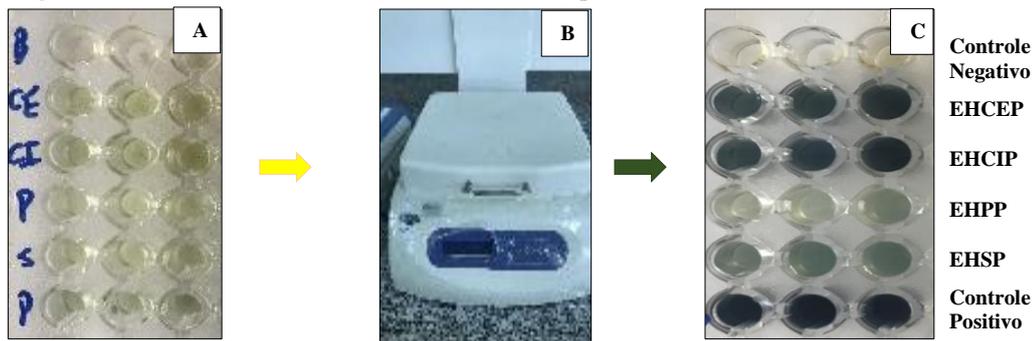
Fonte: Autora (2022).

Legenda: (EHCEPL) Extrato hidroalcoólico da casca externa do piquiá liofilizado; (EHCIPL) Extrato hidroalcoólico da casca interna do piquiá liofilizado; (EHPPL) Extrato h hidroalcoólico da polpa do piquiá liofilizado; (EHSPL) Extrato hidroalcoólico da semente de piquiá liofilizado.

Os compostos fenólicos estão envolvidos na formação da lignina, (polímero) presente na parede celular dos vegetais. Esses compostos são abundantes em várias partes das plantas, incluindo sementes, cascas de frutas, caules e folhas. Eles desempenham papéis importantes nas plantas, como defesa contra patógenos, proteção contra danos causados pela radiação ultravioleta e interações com polinizadores (YAMAGUCHI et al., 2017; MACIEL, 2018; SOARES et al., 2018; BEZERRA, 2021).

Os extratos de piquiá *C. villosum*, ao serem submetidos aos ensaios *in vitro* pelo método de *Folin Ciocalteu* indicaram concentrações de fenóis totais nos extratos e apresentaram valores próximos do padrão (ácido gálico). Por meio do ensaio colorimétrico foi observado uma mudança de coloração do amarelo-claro para azul-esverdeado durante a reação (BEZERRA, 2021) conforme **figura 20**, os dados estão expressos na **tabela 4** e no **gráfico 1**.

Figura 20 - Estimativa de FT (ensaio colorimétrico) pelo método de *Folin Ciocalteu*



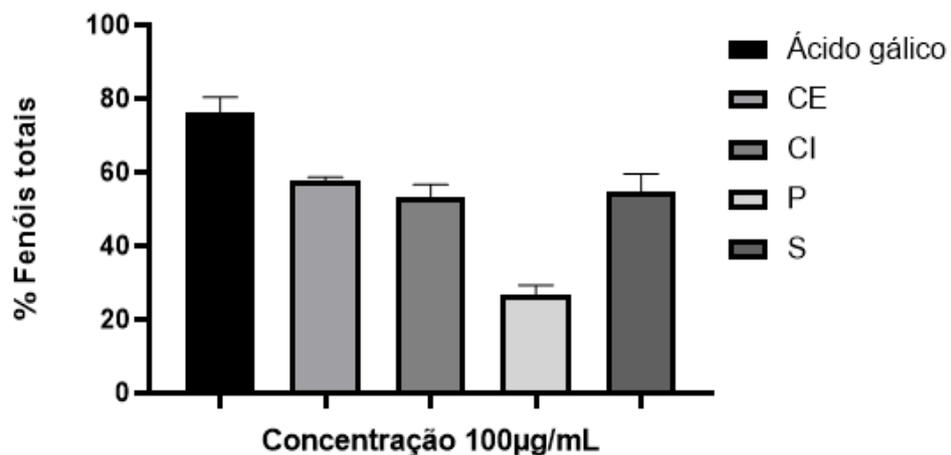
Fonte: Arquivo pessoal (2022).

Legenda: Aplicação das amostras nas placas elisa; B-incubação das amostras; C- Extratos de piquiá; controle positivo (padrão ác. gálico); controle negativo (amostra sem o padrão ác. gálico).

Estudos demonstram que os resíduos de frutos apresentam fenólicos em grandes concentrações. Os efeitos biológicos das espécies de *Caryocar* são atribuídos à presença desses bioativos (fenóis totais) com ação terapêutica usados na medicina popular devido aos seus efeitos anti-inflamatórios e antitumorais (AMARAL et al., 2014; DENGGER et al., 2020; NAVAJAS-PORRAS et al., 2020; DENGGER et al., 2020; ZHANG et al., 2020; BEZERRA, 2021; BATISTA et al., 2022).

O **gráfico 1**, expõe a % de fenóis totais (FT) dos extratos de piquiá. O extrato da casca externa exibiu 57,66% de teor de FT, seguido do extrato da semente, 54,50% e da casca interna, 53,40%. Todavia, o extrato da polpa exibiu menor teor de fenóis totais, 26,80% comparados com extratos das demais partes do fruto. Esses resultados foram sinalizados na análise qualitativa em CCD e posteriormente em CLAE/MS, com predominância nos extratos das cascas do fruto.

Gráfico 1 – Concentração de Fenóis totais dos extratos de piquiá



Fonte: Autora (2022).

Legenda: CE-casca externa; CI-casca interna; P-polpa do piquiá; S-semente; ácido gálico (padrão).

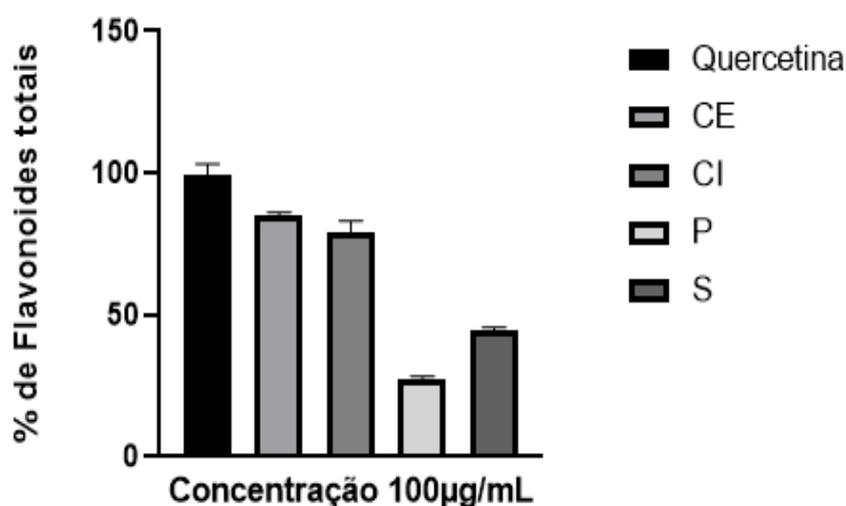
Ao estudar diversos frutos da Amazônia, Yamaguchi (2015) demonstrou que o piquiá possui uma maior porcentagem de substâncias fenólicas dentre os frutos investigados em seus estudos. As cascas apresentaram maiores quantidades de fenóis (50,57 e 46,34%) e flavonoides (4,56 e 4,09%) em extrato etanólico e hidroalcoólico respectivamente.

Estudos com espécies do gênero apresentam valores variados de fenólicos. Rocha et al., (2015) identificaram ($26,54 \pm 1,13$ mg/g) de ácido gálico nas cascas de pequi *Caryocar brasiliense*. Posteriormente, Cangussu et al., (2021) por meio de HPLC identificaram elevados teores de fenóis na casca da mesma espécie: ácido gálico (11,52–418,67 mg/100g), galato de etila (2026,75–5205,90 mg/100 g), ácido elágico (509,47–1630,66 mg/100 g).

4.5 Quantificação de flavonoides totais nos diferentes extratos de *Caryocar villosum*

Por meio dos testes de flavonoides totais dos extratos de piquiá foi identificado diferentes concentrações em ambas as partes do fruto, **tabela 4** e no **gráfico 2**. O extrato da casca externa apresentou maior teor de flavonoides, 95,41%, seguido da casca interna, 84,41% valores próximos ao padrão de quercetina, 99,47%. Enquanto o extrato da semente exibiu 44,98% de flavonoides e o extrato da polpa, 27,12%. Resultados correlacionados aos de Cangussu et al., (2021) ao investigar a espécie *C. brasiliense* obteve teores de flavonoides que variaram de 19,67 a 87,61 mg/100 g.

Gráfico 2 – Concentração de flavonoides totais dos extratos de piquiá



Fonte: Autora (2022).

Legenda: CE-casca externa; CI-casca interna; P-polpa; S-semente; quercetina (padrão).

Com base nos resultados apresentados neste estudo, é possível notar uma correlação significativa entre a presença de flavonoides quando os extratos foram analisados de maneira qualitativa por meio de CCD, utilizando o revelador NP/PEG, que foi revelado no comprimento de onda 366 nm. Por meio de fluorescências vistas nas cromatoplasas evidenciaram a presença de flavonoides, principalmente nas cascas dos frutos. Os dados estão relacionados à porcentagem desses antioxidantes identificados por meio da captura dos radicais ABTS⁺ e DPPH*, ambos possuem mecanismos de ação similares (transmissão de elétrons) (CHISTÉ et al., 2012a; YAMAGUCHI, 2015).

4.6 Caracterização química do *Caryocar villosum* por CLAE/MS

Os espectros de massas foram obtidos usando a fonte eletrospray (ESI) e operando em modo negativo. Foram identificados alguns íons majoritários nos extratos de casca externa (epicarpo), casca interna (mesocarpo), polpa e semente de piquiá na caracterização por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à espectrometria de massas.

Os resultados desta pesquisa correlacionam com os Yamaguchi et al., (2017) estudando extratos da mesma espécie, identificando perfis semelhantes de massa carga (m/z), características de substâncias fenólicas, incluindo os derivados de ácido gálico e ácido elágico.

Tabela 5 - Identificação dos principais íons em *C. villosum* (modo negativo de ionização)

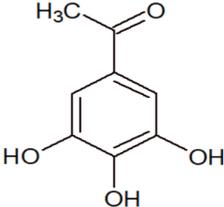
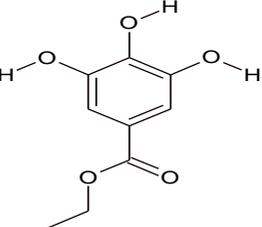
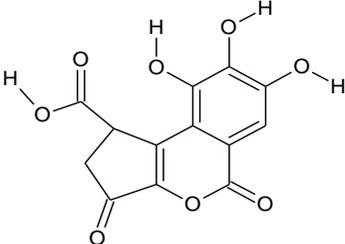
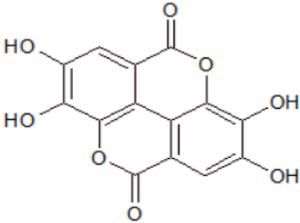
Extrato	Íons (m/z)
EHCEPL	169, 197, 291, 301, 331, 447, 469, 483
EHCIPL	169, 197, 291, 301, 331, 433, 447, 483, 785
EHPPL	169, 197, 301, 447
EHSPL	169, 197, 301, 331, 433, 447, 463, 483

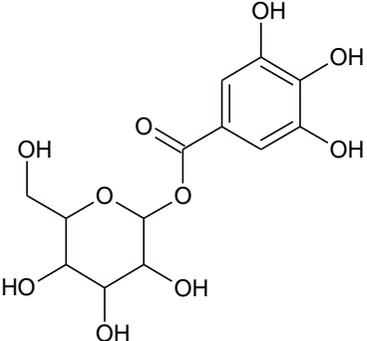
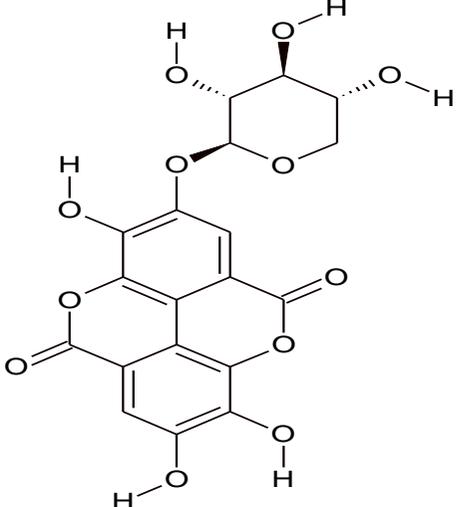
Fonte: Autora (2022).

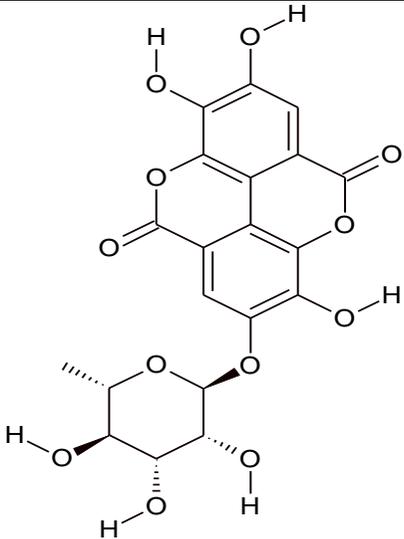
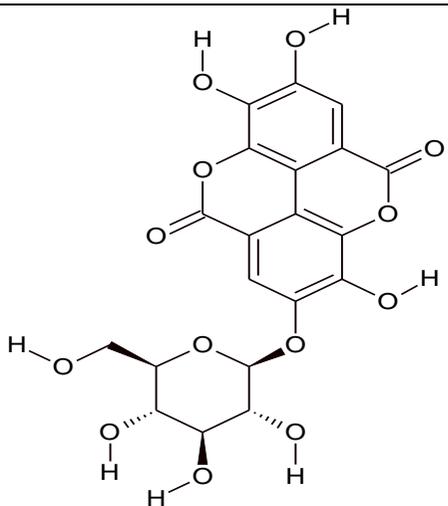
Legenda: (EHCEPL) Extrato hidroalcoólico da casca externa do piquiá liofilizado; (EHCIPL) Extrato hidroalcoólico da casca interna do piquiá liofilizado; (EHPPL) Extrato hidroalcoólico da polpa do piquiá liofilizado; (EHSPL) Extrato hidroalcoólico da semente de piquiá liofilizado.

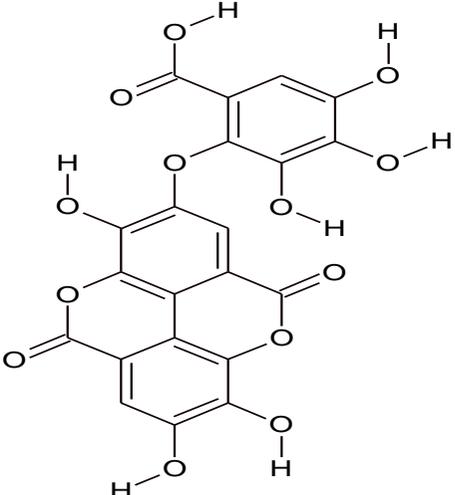
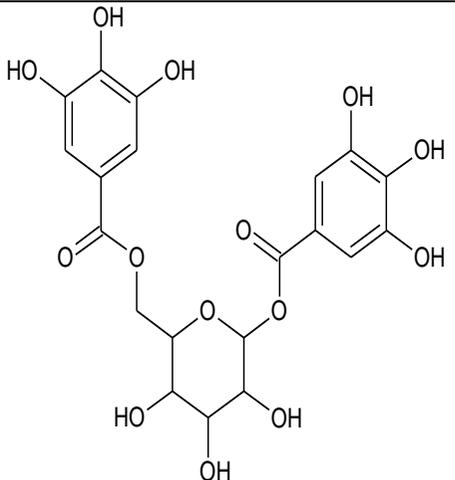
Caldeira e seus colaboradores (2020) investigaram a composição química do extrato de casca da espécie *C. brasiliense* (pequi), por meio da espectrometria no modo de ionização negativo, detectaram ácido gálico e ácido elágico e associaram esses compostos como os principais responsáveis pelo potencial da atividade antidiabética, realizado em seus trabalhos. Resultados semelhantes foram vistos nos trabalhos de Cangussu e colaboradores (2021), encontrando fenólicos extraíveis e não extraíveis de farinhas de subprodutos de pequi.

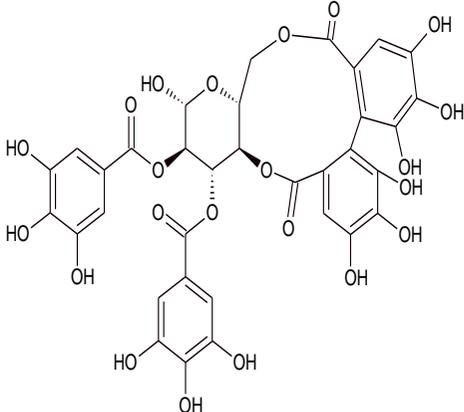
Quadro 4 - Íons detectados nos extratos hidroalcoólico do fruto de *Caryocar villosum* (modo negativo de ionização)

Parte do fruto analisado	Íon ESI -	MS ² modo -	Substância	Estrutura química	Parte do fruto	Referências
Casca externa, casca interna, polpa e semente	169	125	ácido gálico		Polpa e casca <i>Caryocar villosum</i>	Chisté & Mercadante, 2012a; Almeida et al., 2012; Yamaguchi et al., 2017, Roxo et al., 2020.
Casca externa, casca interna, polpa e semente	197	169 e 125	galato de etila		epicarpo e mesocarpo de <i>C. brasiliense</i>	Ascari et al., 2013
Casca externa e casca interna	291	247	ácido brevifolina carboxílico		casca da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Roxo et al, 2020
Casca externa, casca interna, polpa e semente	301	257, 229 e 185	ácido elágico		casca da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Roxo et al, 2020

Casca externa, casca interna e semente	331	271, 241, 211, 193, 169, 151 e 125	monogaloil hexosídeo		cascas da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Chisté & Mercadante, 2012
Casca interna e semente	433	301	ácido elágico pentosídeo		polpa da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Chisté & Mercadante, 2012

Casca externa, casca interna, polpa e semente	447	301 e 299	eschweilenol C		na polpa da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Chisté & Mercadante, 2012
Semente	463	301	ácido elágico- hexosídeo		na polpa da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Chisté & Mercadante, 2012

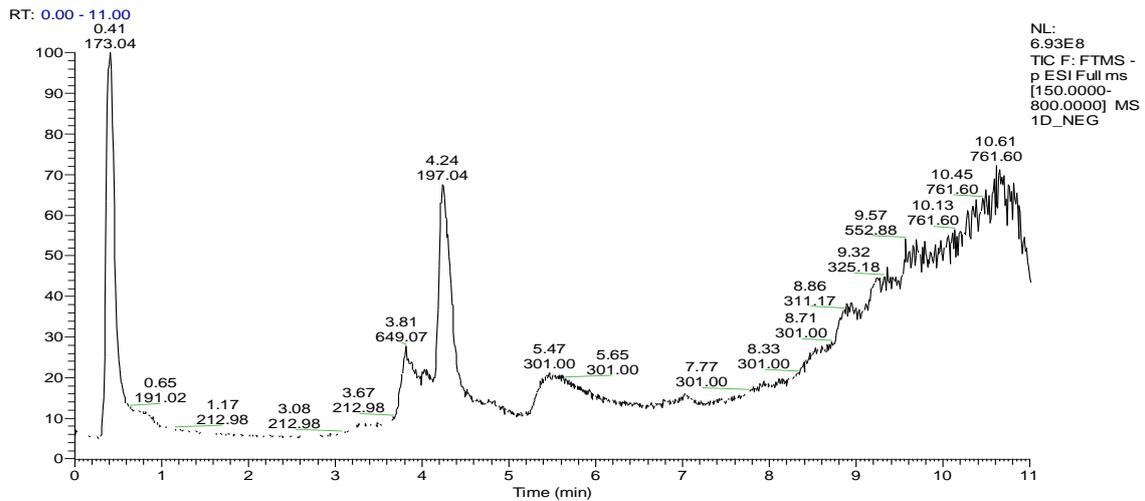
Casca externa	469	425, 407, 301, 299, 289, 251, 169 e 125	ácido valoneico dilactona		na casca da espécie <i>Caryocar villosum</i>	Roxo et al., 2020
Casca externa, casca interna e semente	483	331, 313, 271, 193, 169	digaloil hexosídeo		polpa <i>Caryocar villosum</i>	Chisté & Mercadante, 2012

Casca interna	785	633, 615, 463, 419, 301, 275, 249	digaloiil- HHDP-glicose		cascas da espécie <i>Caryocar</i> <i>villosum</i>	Roxo et al, 2020
---------------	-----	--------------------------------------	----------------------------	---	--	------------------

Fonte: Elaborado pela autora (2023) adaptado de Bezerra, 2021.

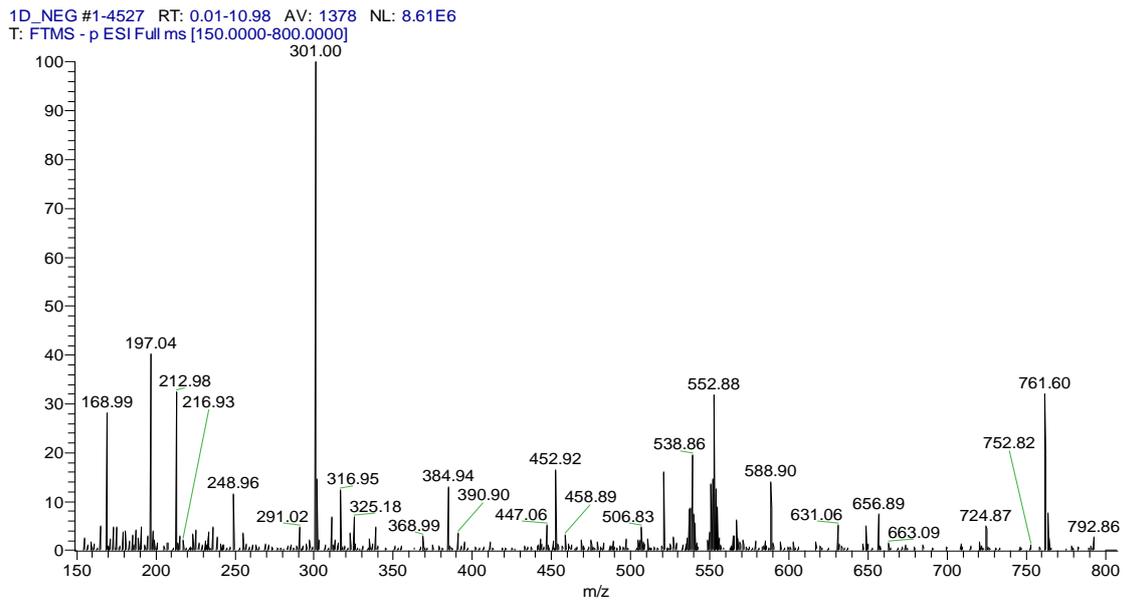
As figuras a seguir ilustram espectros e cromatogramas de diferentes partes do piquiá, os quais indicam os resultados das análises por CLAE/MS desses extratos. Através dessa técnica, foram examinadas as substâncias polares presentes no extrato hidroalcoólico do piquiá, o que resultou na descoberta de componentes bioativos importantes já descritos na literatura, como ácido gálico, ácido elágico e galato de etila, evidenciando maior atividade antioxidante.

Figura 21 - Cromatograma do extrato hidroalcoólico de casca externa de *piquiá* no modo negativo de ionização



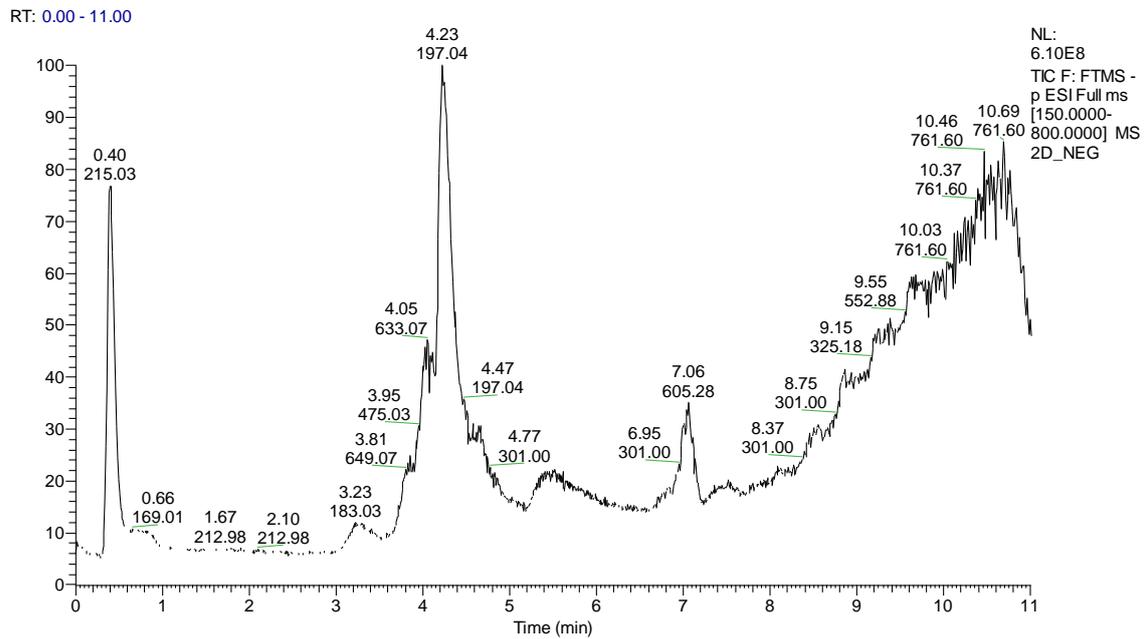
Fonte: Autora (2023).

Figura 22 - Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da casca externa de piquiá no modo negativo de ionização



Fonte: Autora (2023).

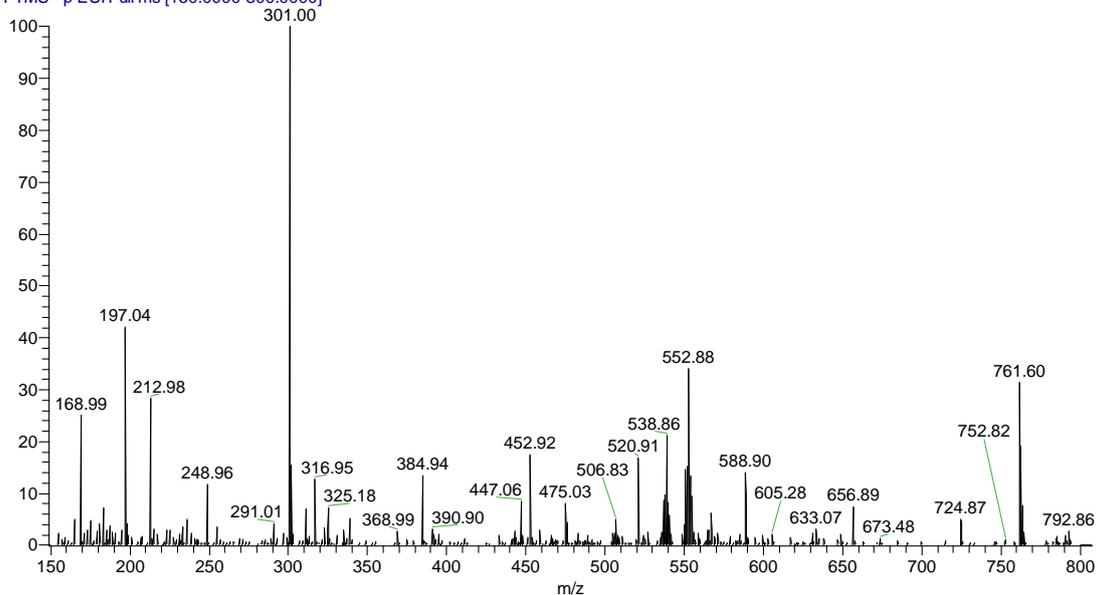
Figura 23 - Cromatograma do extrato hidroalcoólico da casca interna de *Caryocar villosum* no modo negativo de ionização



Fonte: Autora (2023).

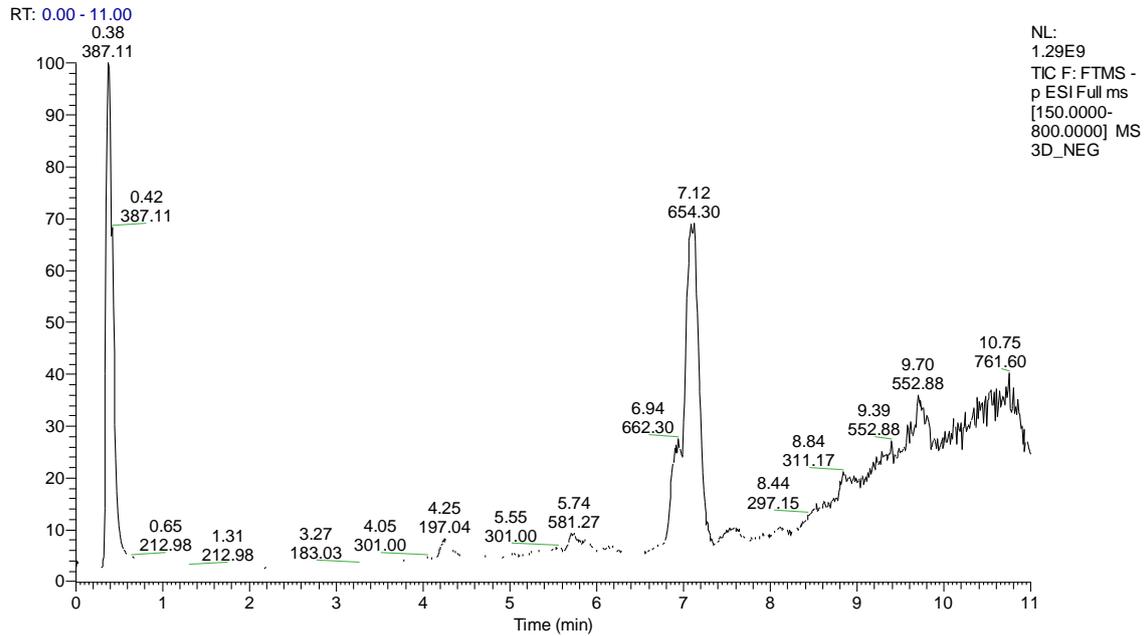
Figura 24 - Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da casca interna de *Caryocar villosum* no modo negativo de ionização

2D_NEG #20-4555 RT: 0.05-11.00 AV: 1362 NL: 8.63E6
T: FTMS - p ESI Full ms [150.0000-800.0000]



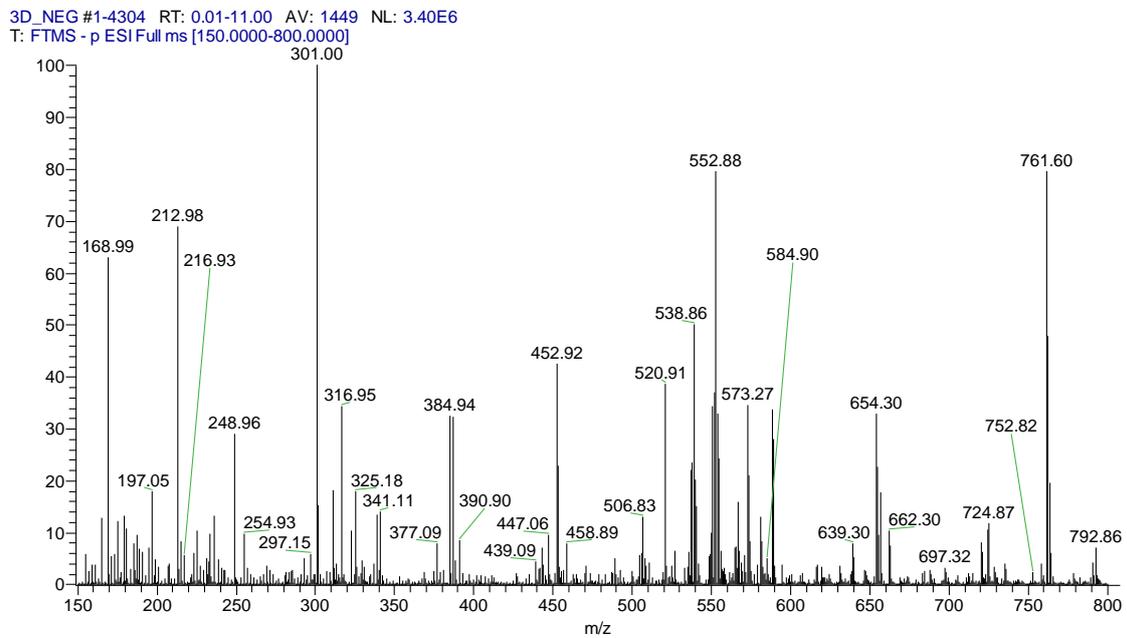
Fonte: Autora (2023).

Figura 25 - Cromatograma do extrato hidroalcoólico da polpa de *Caryocar villosum* no modo negativo de ionização



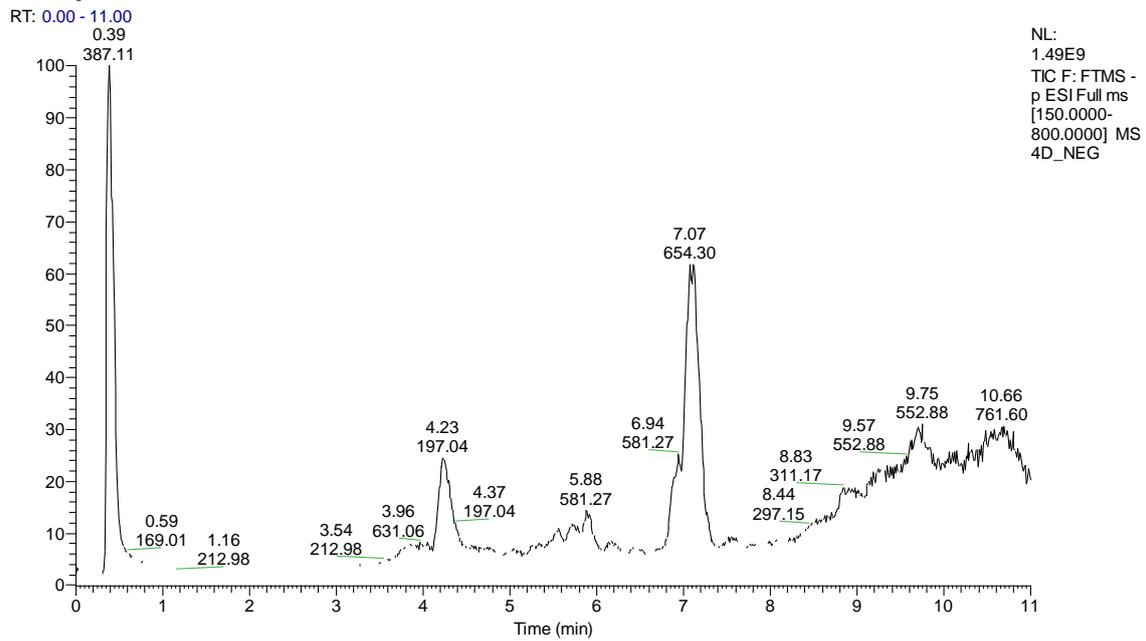
Fonte: Autora (2023).

Figura 26 - Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da polpa *Caryocar villosum* no modo negativo de ionização



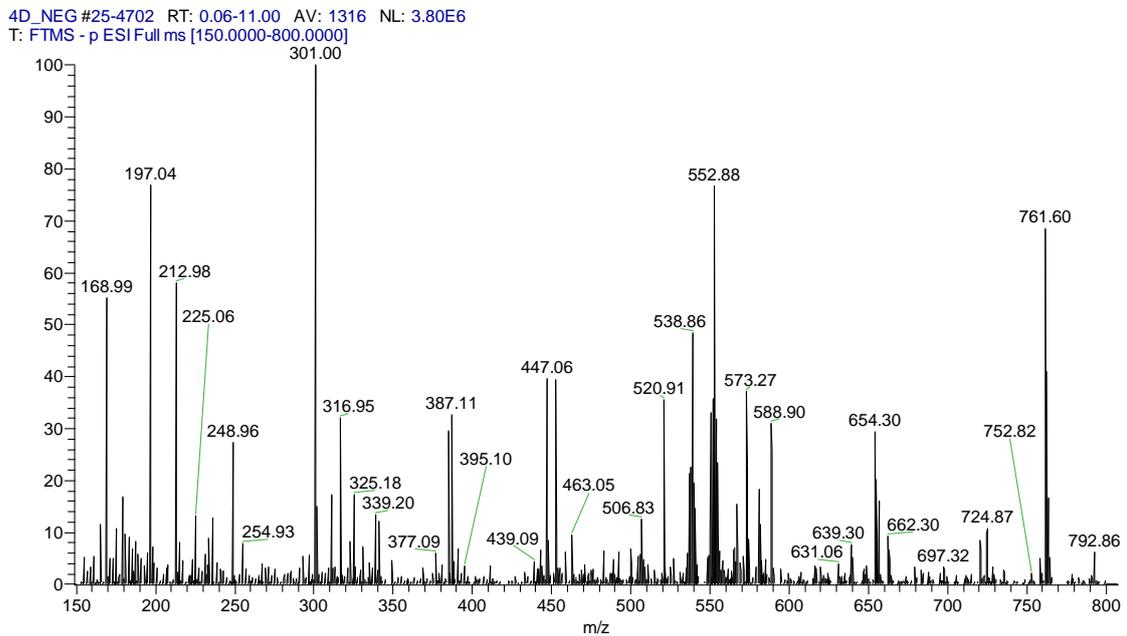
Fonte: Autora (2023).

Figura 27 - Cromatograma do extrato hidroalcoólico da semente *Caryocar villosum* no modo negativo de ionização



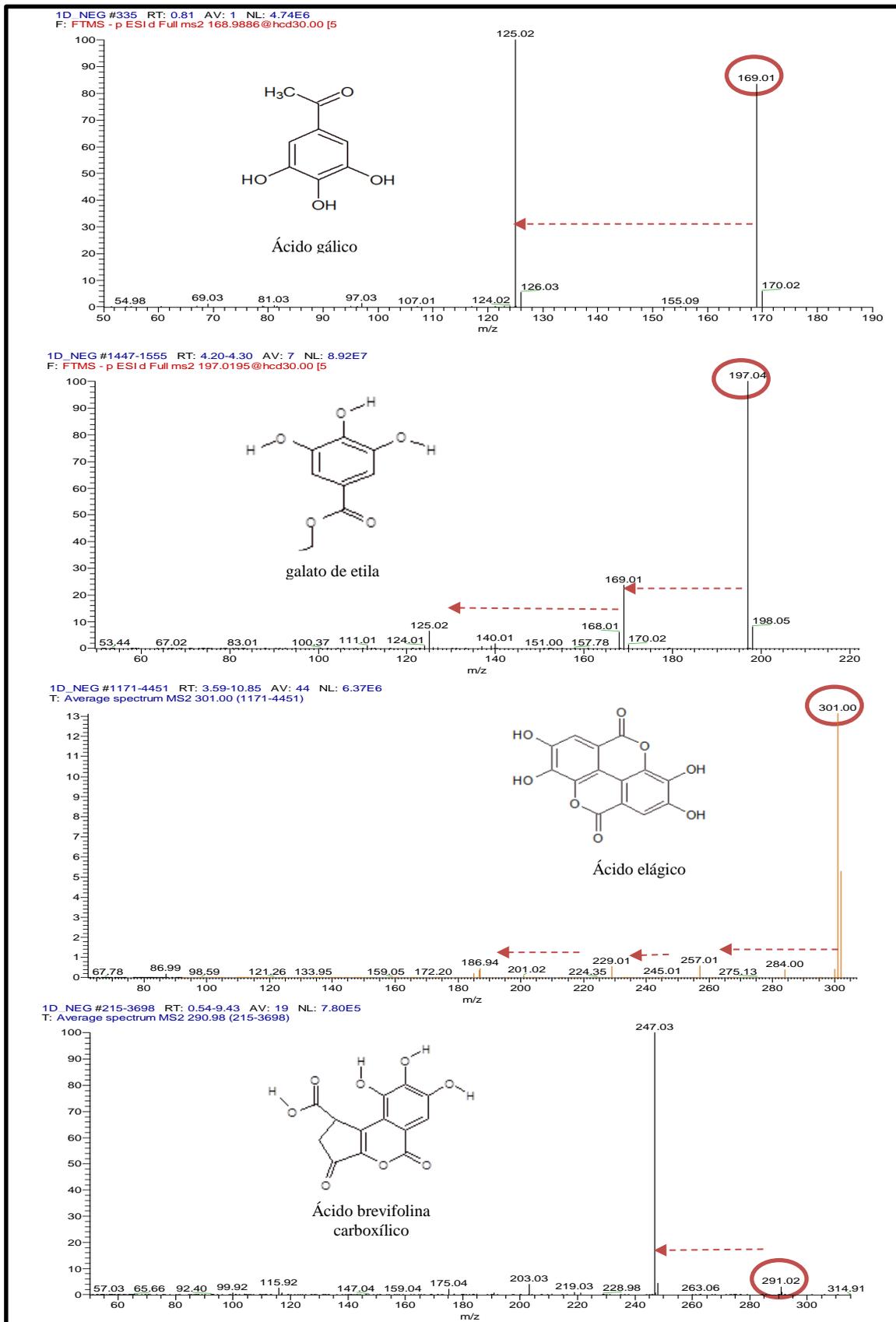
Fonte: Autora (2023).

Figura 28 - Espectro de massas full scan do extrato hidroalcoólico da semente de *Caryocar villosum* no modo negativo de ionização



Fonte: Autora (2023).

Figura 29 – Fragmentações dos íons 169, 197, 301 e 291 m/z no modo negativo



Fonte: Autora (2023).

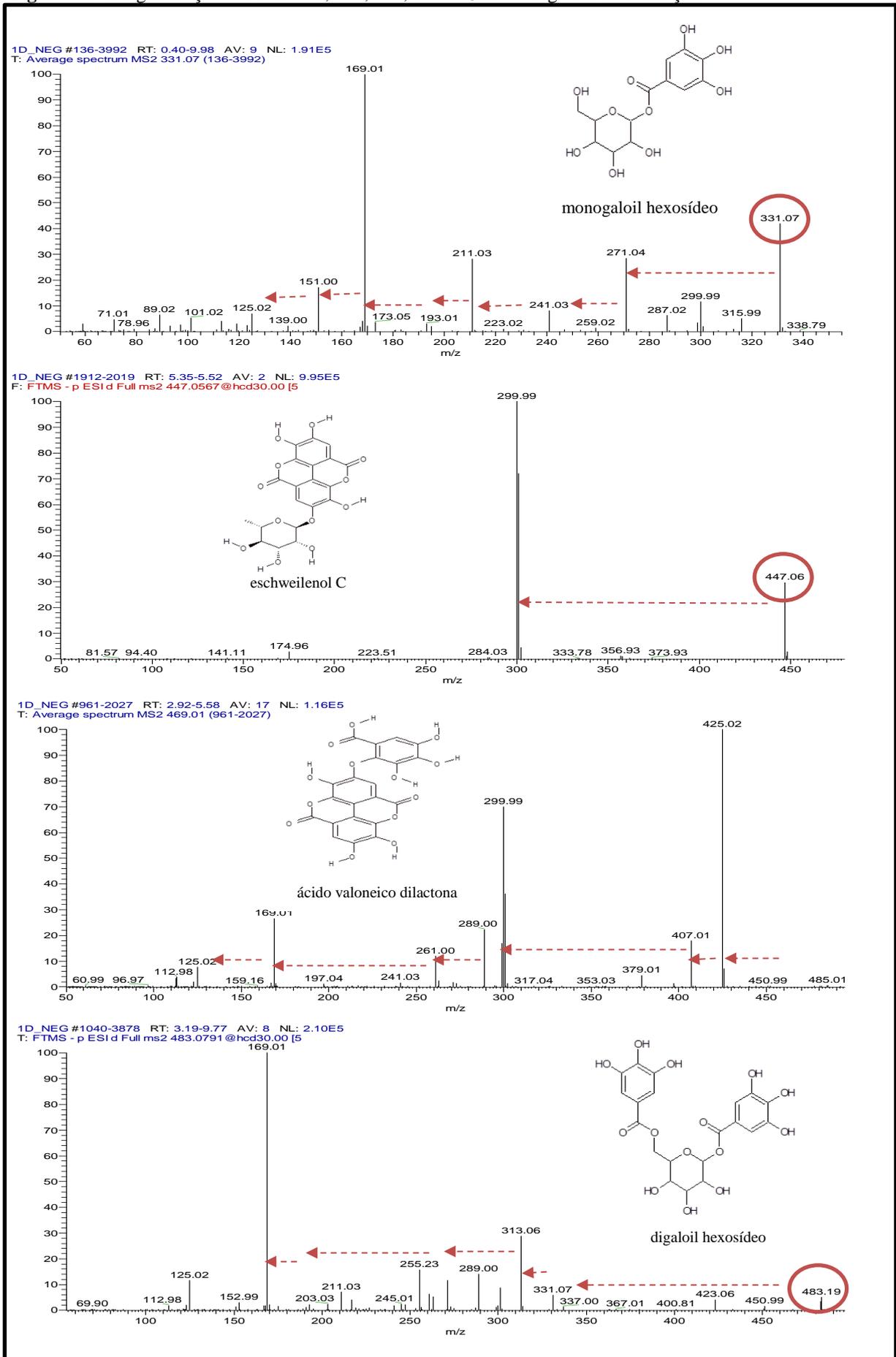
No espectro de massas [M-H], foram detectados íons característicos de fenólicos nos extratos de piquiá, como o íon molecular 169 m/z (figura 29), um dos principais achados nos extratos das cascas, polpa e semente de *C. villosum*. Essa molécula pode ser associada ao ácido gálico, que já foi detectado nas cascas e na polpa de *C. villosum*, por Sun et al., (2007) e Yamaguchi et al., (2017). O fragmento 125 m/z confirmou a estrutura do íon 169 m/z , detectado no espectro, e pode estar relacionado à perda de CO₂ 44 Da. É considerado o principal antioxidante presente nas cascas de *C. brasiliense* (ROESLER et al., 2008; ROCHA et al., 2015; CANGUSSU et al., 2021).

Outro íon molecular identificado nos extratos das cascas, polpa e semente de *C. villosum*, foi o 301 m/z , (**figura 29**) com estrutura que pode ser associado ao ácido elágico, que já foi relatado nas cascas da espécie *C. villosum* Roxo et al., (2020) e nas cascas de *C. brasiliense* (CANGUSSU et al., 2021). O espectro de fragmentação do íon 301 m/z resultou nos íons 257, 229 e 185; o íon 257 m/z pode estar ligado à perda do grupo CO₂ 44 Da. O íon 229 m/z pode estar relacionado à perda de CO₂ 28 Da e o íon 185 m/z pode estar relacionado à perda de CO₂ 44 Da (SUN et al., 2007; CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

Nos extratos de cascas, polpa e semente, foi identificado o íon molecular 197 m/z , (figura 29), que pode estar relacionado à estrutura do galato de etila, que já foi descrito para a família Caryocaraceae, especialmente no epicarpo e mesocarpo de *C. brasiliense* (ASCARI et al., 2013; CANGUSSU et al., 2021). O espectro de fragmentação do íon 197 m/z resultou nos íons 169 e 125, sendo o íon 169 m/z relacionado à perda do grupo etila 28 Da e o íon 125 m/z relacionado à perda de CO₂ 44 Da (SUN et al., 2007).

O espectro de massas [M-H] indicou o íon molecular 291 m/z , (**figura 29**) nas cascas do fruto, não sendo identificado na polpa e semente, essa estrutura está associada ao ácido brevifolina carboxílico, que já foi relatado nas cascas da espécie *Caryocar villosum* (ROXO et al., 2020). O espectro de fragmentação do íon 291 m/z , gerou o íon 247 m/z que pode ser relacionado à perda do grupo CO₂ 44 Da.

Figura 30 – Fragmentação dos íons 331, 447, 469, 483 m/z modo negativo de ionização

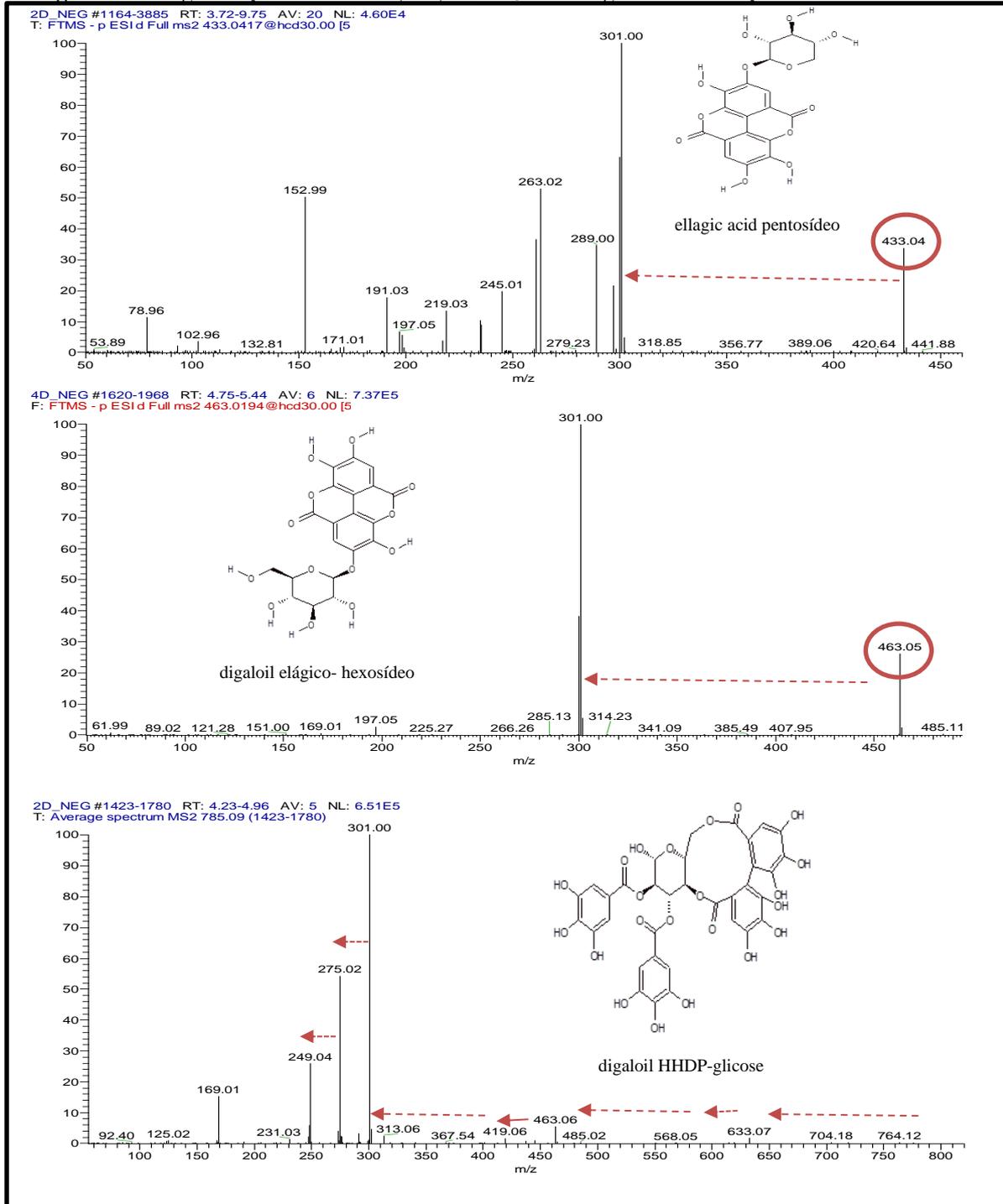


O espectro de massas [M-H] indicou o íon molecular 331 m/z (**figura 30**) nas cascas, e sementes, não identificado na polpa. Essa estrutura pode ser associada ao monogaloil hexosídeo, relatado nas cascas da espécie *C. villosum* (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b). O espectro de fragmentação do íon 331 m/z , gerou os íons 271, 241, 211, 169, 151 e 125, confirmando a estrutura do monogaloil hexosídeo. Os fragmentos 271, 241 e 211 podem ser associados à clivagem do anel da glicose. Os fragmentos 169 e 125 podem ser ligados à fragmentação do ácido gálico. O íon 169 evidencia a perda de 162 Da correspondente à glicose, e o fragmento 125 pode ser correlacionado à perda de 44 Da que corresponde ao CO₂ do galoil (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

Foi identificado nos extratos do fruto, o íon molecular 447 m/z , (**figura 30**) como um dos picos majoritários encontrados, podendo ser associado às estruturas eschweilenol C e ácido metil elágico pentosídeo, que já foi relatado na polpa da espécie *C. villosum* (Chisté & Mercadante, 2012b). Por meio da análise dos espectros de massas de fragmentação, gerou os íons 301 e 299 m/z , confirmando a estrutura do íon molecular 447 m/z , nas cascas de *C. villosum*. O íon 301 m/z evidencia a perda de 146 Da correspondente à desoxihexose (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

O íon molecular 469 m/z (**figura 30**) foi identificado somente nos extratos da casca externa do fruto, não sendo encontrado nos extratos da casca interna, polpa e semente, essa estrutura pode ser equivalente à do ácido valoneico dilactona, que já foi relatado na casca da espécie *C. villosum* por Roxo et al., (2020). Por meio da análise dos espectros de massa fragmentação, o íon molecular 469 m/z , gerou os íons 425, 407, 301, 299, 289, 251, 169 e 125 m/z , sendo possível confirmar a estrutura do ácido valoneico dilactona. O íon 425 m/z evidencia a perda de 44 Da que pode estar ligada à perda CO₂ (ROXO et al., 2020).

O espectro de massas [M-H] indicou o íon molecular 483 m/z , (**figura 30**) associado à estrutura do digaloil hexosídeo, encontrado somente nas cascas e sementes do fruto, apesar de ter sido descrito na polpa de *C. villosum* nos estudos de (CHISTÉ E & MERCADANTE, 2012b). A fragmentação do íon 483 m/z resultou nos íons 331, 169 e 125. O íon 331 m/z pode estar relacionado à quebra de um grupo galoil 152; o íon 169 m/z pode ser comparado à perda da hexose, que corresponde a 162; e o íon 125 m/z pode estar relacionado à perda de CO₂ 44 Da gerado pela fragmentação do grupo galoil (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

Figura 31 – Fragmentação dos íons 433,463, 785 m/z modo negativo de ionização

Fonte: Autora (2023).

Foi constatado no espectro de massas [M-H] que o íon molecular 433 m/z é um dos picos predominantes encontrados somente nos extratos da casca interna e sementes do fruto, não sendo detectado nos extratos da casca externa e polpas. Essa estrutura pode estar relacionada à estrutura do ácido elágico pentosídeo, que já foi descrita na polpa de *C. villosum*. O espectro de fragmentação do íon 433 m/z , gerou o íon 301 m/z , o mais frequente do espectro, que pode estar relacionado à perda da pentose 132 Da (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

O íon molecular 463 m/z (**figura 31**) foi identificado somente nos extratos da semente, não sendo detectado nos extratos das demais partes do fruto investigados neste estudo. Essa estrutura pode ser associada à estrutura do ácido elágico hexosídeo, que já foi descrito na polpa de *C. villosum*. O espectro de fragmentação do íon 463 m/z gerou o íon 301 m/z , com maior abundância do espectro, ligado à perda da hexose 162 Da (CHISTÉ & MERCADANTE, 2012b).

Enquanto o íon molecular 785 m/z (**figura 31**) foi indicado no espectro de massas [M-H], somente nos extratos da casca interna, e pode ser associado à estrutura digaloil-HHDP-glicosídeo, que já foi relatada na casca da espécie *C. villosum* (ROXO et al., 2020). Por meio da análise dos espectros de massas de fragmentação, o íon molecular 785 m/z , gerou os íons 633, 615, 463, 419, 301, 275, 249 e 169 m/z , sendo possível confirmar a estrutura do digaloil-HHDP-glicose. O íon 633 m/z evidencia a perda de 170 Da que pode ser associado à perda de um grupo galoil (ROXO et al., 2020).

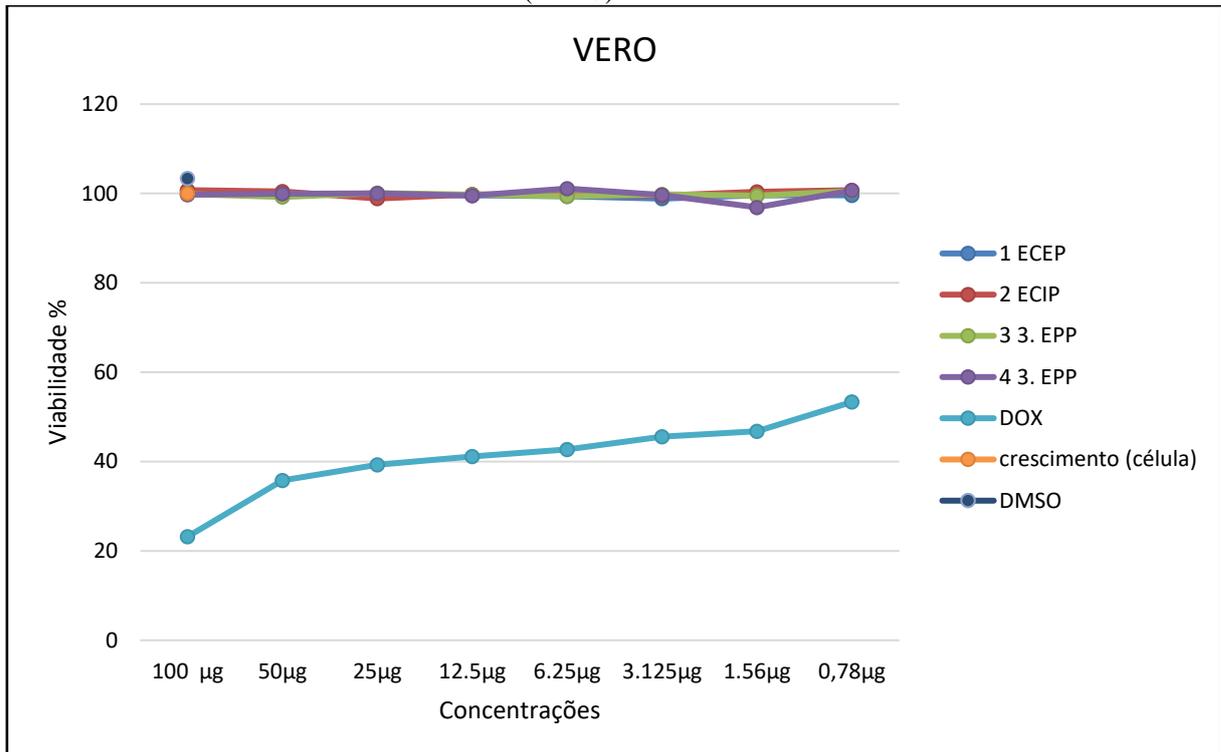
No contexto do desenvolvimento de um novo cosmético à base de produto natural, essa técnica, viabiliza a identificação de compostos, que são bioativos presentes nos frutos e que tem aplicação cosmética com diversas ações biológicas (MOREIRA et al., 2017).

4.7 Análise Biológica

4.7.1 Ensaio *in vitro* Citotoxicidade e viabilidade dos extratos de *Caryocar villosum*

Com relação ao ensaio biológico, os extratos ECEP, ECIP, EPP e ESP, quando submetidos ao teste de viabilidade, frente à linhagem VERO (linhagem celular sadia derivada de rins de macaco verde) e testadas nas concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$ a 0,78 $\mu\text{g/mL}$ apresentaram resultados promissores. Verifica-se na **figura 32**, os resultados da viabilidade de (100% em relação ao controle de células). Quando os extratos de piquiá foram avaliados, observa-se que todos eles apresentaram média de viabilidade acima de 100%, não demonstrando citotoxicidade e apresentando 100% de viabilidade (YAMAGUCHI, 2015; MACIEL, 2018).

Figura 32 - Porcentagem de inibições de viabilidade dos extratos ECEP, ECIP, EPP e ESP, a linhagem epitelial renal derivada de rim de macaco verde africano (VERO)



Fonte: Plataforma Fiocruz (2022).

Legenda: (ECEP) Extrato da casca externa do piquiá; (ECIP) Extrato da casca interna do piquiá; (EPP) Extrato da polpa do piquiá; (ESP) Extrato da semente de piquiá; (DOX) doxorubicina; (DMSO) controle negativo; (célula) controle positivo.

Yamaguchi et al. (2017), ao analisarem extratos de cascas, polpa e semente de piquiá. Posteriormente Maciel (2018), ao investigar os extratos de cascas e sementes da mesma espécie, verificaram baixa toxicidade em ambas as partes do fruto, uma vez que não identificaram danos e morte celular quando comparados por meio de ensaio *in vitro*, correlacionando com os resultados desta pesquisa.

Alguns estudos avaliaram a citotoxicidade de outras espécies do gênero. Traesel et al. (2017), ao analisarem a citotoxicidade de pequi *C. brasiliense*, através do teste de viabilidade celular, comprovaram que o óleo da polpa não apresentou riscos citotóxicos. Resultados semelhantes foram relatados por Pegorin et al. (2020), ao analisarem a mesma espécie, visando criar um fitocosmético a partir do óleo da polpa.

Amaral e colaboradores (2014), ao analisarem os extratos das folhas dessa espécie, não identificaram riscos citotóxicos e fototóxicos. Os resultados mostram que essa espécie é uma boa opção para produtos cosméticos e/ou farmacêuticos. Contudo, é crucial salientar que a segurança e eficácia de um extrato vegetal em composições de cosméticos devem ser avaliadas minuciosamente, considerando os aspectos como concentração, estabilidade, interação com outros ingredientes e compatibilidade com diferentes tipos de pele (ANVISA, 2004).

A partir de uma revisão integrativa realizada por Pereira e colaboradores (2021), sobre testes *in vitro* e *in vivo* com o óleo da espécie *C. brasiliense*, não houve estudos sobre os efeitos adversos e reações de citotoxicidade, mas sim ações terapêuticas, especialmente a cicatrização de feridas. Fatores ligados à atividade antimicrobiana e antioxidante do extrato contra bactérias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*.

Barros et al., (2017) examinaram o óleo da polpa de *C. coriaceum* em concentrações experimentais e constataram que não houve citotoxicidade significativa. A concentração mais elevada testada, 250 µg/mL, inibiu apenas 11% do crescimento celular.

É importante salientar que a avaliação da toxicidade é crucial para assegurar a segurança e eficácia dos produtos naturais utilizados em cosméticos. Existem diversos critérios para avaliar a toxicidade, como os testes com células que podem ser usadas com células humanas ou linhagens celulares. No estudo, é avaliado se a substância em questão causa a morte celular (ANVISA, 2012; SILVA, 2019).

Os frutos da Amazônia apresentam características relevantes, e as publicações enfatizam a relevância e o aumento do uso desses elementos nos últimos anos, evidenciando sua capacidade e múltiplos efeitos biológicos. Este estudo possibilita perspectivas para novas investigações da espécie *C. villosum*.

4.8 Formulação do produto biotecnológico

O **quadro 5** destaca as principais características dos componentes utilizados na elaboração da formulação hidratante corporal. A metodologia foi baseada nos estudos de (PIANOVSKI et al., 2008; Leal et al., 2016; TORRES et al., 2018a; RAISER et al., 2018 e PEGORIN et al., 2020).

Quadro 5 – Componentes utilizados na formulação hidratante artesanal

Componentes	Função
Extrato glicólico de piquiá	Compostos fenólicos com propriedades antioxidantes
Ureia	Efeito hidratante prolongado, capaz de possibilitar o aumento da hidratação
Base em creme	Efeito hidratante com características emulsionante e emoliente para cremes e loções que fixam a água
Propileno glicol	Aspecto líquido, viscoso, umectante e hipoalérgico, proporciona toque sedoso às formulações
Essência	Possibilita o odor
Nipangin	Conservante de formulação que ajuda na integridade da formulação e evita qualquer tipo de contaminação
Água desmineralizada	Veículo e umectante
Miristato de isopropila	Componente oleoso, engordurante, excelente dispersão sobre a pele

Fonte: Elaborado pela autora (2023) adaptado de Torres e colaboradores (2018a); Pianoviski et al. (2008); Raiser e colaboradores (2018) e Farmacopeia (2019).

A escolha dos componentes, aliado ao extrato glicólico da casca do piquiá, favoreceram os resultados esperados nas expectativas iniciais para um hidratante **figura 33**. Os extratos glicólicos de produtos naturais são indicados no desenvolvimento de formulações cosméticas, uma vez que esses elementos naturais oferecem diversos benefícios (BALOGH et al., 2011).

Figura 33 – Formulação hidratante elaborada a partir da casca de piquiá



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

4.8.1 Análise de estabilidade da formulação hidratante

Diversos fatores podem alterar a estabilidade de hidratantes. A temperatura e a radiação luminosa interferem diretamente na instabilidade física de qualquer formulação cosmética, alterando o pH, a viscosidade, a textura e as fases nos produtos. Manter a estabilidade nas emulsões é um parâmetro importante (PIANOVSKI et al., 2008; TORRES et al., 2018a; RAISER et al., 2018; PEGORIN et al., 2020).

Após 24h de elaboração da formulação (figura 33), foram realizadas análises macroscópicas para verificar a existência de instabilidade na formulação. As amostras foram examinadas novamente após serem submetidas a condições de temperatura e armazenamento distintas por 15 dias: estresse térmico a 80 °C, fotoperíodo, ciclo gela degela e ausência de iluminação. Foi possível observar resultados satisfatórios, conforme demonstrado na tabela 6 (ANVISA, 2004; TORRES e COLABORADORES 2018a; PIANOVISKI e COLABORADORES 2008; RAISER e COLABORADORES 2018 & FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

Depois dos primeiros testes de estabilidade, foram avaliados os aspectos de cor, odor, formação de fases e precipitação. De todos os parâmetros verificados na formulação elaborada, apenas a cor foi alterada, de amarelo-claro para amarelo-escuro. Os fenóis presentes nas cascas são utilizados pelas indústrias na fabricação de corantes (ROCHA et al., 2015).

Outras características das amostras analisadas permaneceram estáveis: textura, viscosidade, aparência e formação de fases, conforme a tabela 6. Outra característica observada foi a fragrância, a essência escolhida proporcionou um cheiro agradável à formulação, adequado ao uso sobre a pele (TORRES et al., 2018a).

Tabela 6 – Resultados dos testes preliminares de estabilidade da formulação hidratante

Testes organolépticos	Formulação da casca do piquiá			
	Estresse térmico	Ciclo gela e descongela	Fotoperíodo	Sem iluminação
Cor	A	A	A	A
Odor	E	E	E	E
Viscosidade	E	E	E	E
Aparência	E	E	E	E
Formação de fase	E	E	E	E

Fonte: Autora (2023).

Legenda: (A) alteração; (E) estável.

Raiser e colaboradores (2018) avaliaram a emulsão contendo óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) em diferentes concentrações. A adição do óleo em emulsões aniônicas nas proporções de 5 e 10% apresentaram estabilidade preliminar e potencial atividade antioxidante

avaliada pelo método DPPH, apresentando características adequadas durante todo o estudo, mesmo sob temperaturas elevadas.

Conforme os padrões da Farmacopeia brasileira (2019), a estabilidade é a duração nos quais as propriedades da formulação permanecem estáveis, ou seja, se elas não sofrem alterações na fabricação e durante os testes de estabilidade.

4.8.2 Estresse térmico

Ao serem submetidas ao estresse térmico, as amostras de creme apresentaram estabilidade macroscópica, em condições extremas de temperatura numa estufa de ventilação com temperatura inicial de 40 °C, variando 5 °C a cada 30 minutos até a temperatura de 80 °C. A formulação não apresentou separação de fases, mantendo suas características iniciais.

Nos trabalhos de Pianovski e colaboradores (2008), avaliaram a estabilidade física da emulsão cosmética a base de óleo de pequi (*C. brasiliense*) após 24h, quando as amostras foram submetidas ao estresse térmico com variações elevadas de temperaturas, alcançaram resultados positivos.

Essas conclusões divergem dos resultados apresentados por Pegorin et al. (2020), ao analisarem a estabilidade da formulação enriquecida com óleo de pequi (*C. brasiliense*). Eles perceberam que o aumento da temperatura provoca a instabilidade das formulações e, conseqüentemente, a separação de fases do creme, quando submetidos a esse mesmo teste com temperatura final de 80 °C. No entanto, ao estabelecer a temperatura ambiente, a formulação permaneceu em uma fase. Outros fatores considerados em seus estudos foram: a mudança de coloração opaca e um odor mais intenso no creme de pequi.

4.8.3 Ciclo gela descongela

Após ciclos de congelamento e descongelamento, as amostras se mantiveram estáveis, apesar das mudanças de temperatura ocorridas a cada 24h, durante 15 dias sobre o produto com temperatura de -5 ± 2 °C na geladeira e 45 °C na estufa, a formulação permaneceu estabilizada, apenas uma leve alteração na cor. Pianovski e colaboradores (2008), também consideram estáveis as formulações a base de óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*), quando submetidas ao mesmo teste (gela-descongela) por 12 dias em condições alternadas a cada 24h, com temperatura de 45 °C na estufa e 4 ± 2 °C na geladeira.

4.8.4 Fotoperíodo ou exposição solar

Quando submetidas à radiação solar, as amostras não apresentaram separação de fases, apenas um leve escurecimento foi observado, característico de fenólicos presentes na casca do fruto. Os resultados corroboram com os de Raiser e colaboradores (2018), ao examinarem a formulação a base de pequi, identificaram sinais de instabilidade causados pela radiação luminosa nas amostras armazenadas em frascos de vidro por 90 dias.

4.8.5 Amostra sem exposição solar

Em relação às amostras de creme armazenadas em recipientes adequados, sem luz solar, permaneceram estáveis, sem alteração de textura, formação de fases ou odor, havendo apenas alteração na cor. A temperatura é um dos fatores que interferem bastante na estabilidade das formulações. O aumento acentuado dela provoca a desidratação dos componentes presentes e consequentemente, variações nas características do produto final (PEGORIN et al., 2020).

4.9 Parâmetros físico-químicos

A figura 34, ilustra as formulações submetidas aos testes preliminares de estabilidade por 15 dias: estresse térmico, ciclo gela-descongela, exposição luminosa e armazenamento no escuro.

Figura 34 – Amostras de creme submetidas aos testes de estabilidade preliminar



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

À medida que a formulação hidratante se torna instável, suas características físico-químicas sofrem variações. Para verificá-las foi possível determinar os parâmetros físico-químicos das formulações, pH, densidade, centrifugação e espalhabilidade **tabela 7** (ANVISA, 2004).

Tabela 7 - Parâmetros físico-químicos das formulações da casca do piquiá

Testes preliminares	Parâmetros físico-químicos		
	Densidade (g/mL)	pH	Centrifugação
Estresse térmico	0,968 ±0,02	6,7±0,07	SF
Ciclo gela degela	0,978±0,004	6,8±0,07	SF
Fotoperíodo	0,986±0,006	7,05±0,14	SF
Sem iluminação	0,99±0,002	7,1±0,07	SF

Fonte: Elaborado pela autora (2023), baseado de Torres e colaboradores (2018a); Pianovski et al. (2008); Raiser e colaboradores (2018) e Farmacopeia (2019).

Legenda SF = Sem separação de fases.

4.9.1 Teste de Centrifugação

A **tabela 7** ilustra a estabilidade das amostras após a centrifugação numa máquina centrífuga (QUIMIS), a 25 °C por 30 min, submetidas a diferentes rotações: 1000, 2500 e 3500rpm. O teste foi realizado armazenando-as à temperatura ambiente sem a presença da luz. As formulações presentes nos tubos falcons não revelaram sinais de instabilidade após centrifugação, sem a presença de fases, conforme ilustrado na figura 35 (ANVISA, 2008).

Torres et al. (2018a), examinaram anteriormente a estabilidade da microemulsão à base de pequi (*Caryocar brasiliense*). Todas as sete formulações testadas apresentaram estabilidade macroscopicamente após a centrifugação.

Figura 35 – Amostras de creme submetidas à centrifugação

Fonte: Arquivo pessoal (2023).

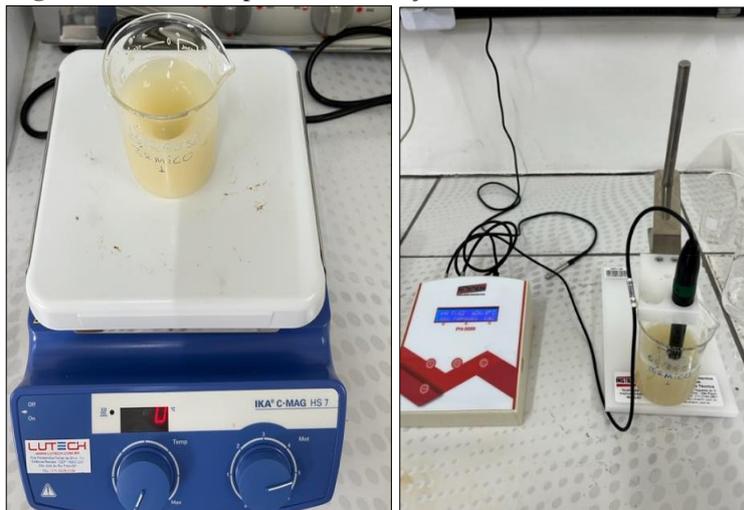
O teste de centrifugação é importante para avaliar a estabilidade de formulações hidratantes, de acordo com (ANVISA, 2008). Durante a centrifugação, a força da gravidade atua sobre as amostras, fazendo com que elas se movam em seu interior, provocando alterações que podem ser observadas macroscopicamente: formação de fases ou sedimento compacto que provoca instabilidades no produto formulado.

4.9.2 Teste de pH

Foi observado que, após os testes iniciais de estabilidade, a formulação apresentou pH variando de $6,7 \pm 0,07$ a $7,1 \pm 0,07$ (tabela 7). Os valores estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019), o pH do creme deve ser igual ou próximo ao pH natural da pele, podendo variar de 4,5 a 6,5, o que é ideal para o produto, já que ajuda a proteger a pele contra fungos e bactérias (LEONARDI et al., 2002).

Resultados semelhantes foram os de Pianoviski et al. (2008), ao analisar uma formulação a base de óleo de *C. brasiliense*, espécie do gênero presente no cerrado mato-grossense. Em seus estudos identificaram que a composição química da espécie é compatível com a pele. Posteriormente, Raiser e colaboradores (2018), avaliaram o pH de uma formulação contendo óleo de pequi *Caryocar brasiliense* e obtiveram valores próximos ao padrão de 5,5 a 6,5.

Figura 36 – Teste de pH das formulações hidratante



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

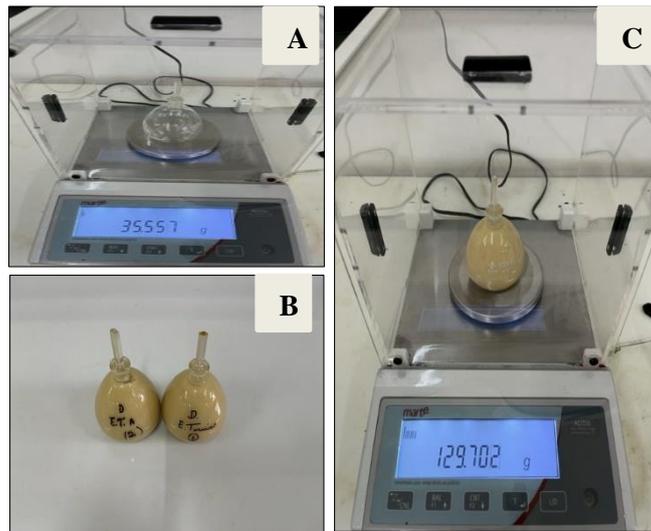
Dados similares foram obtidos nos estudos de Pegorin e colaboradores (2020), ao avaliarem o pH do creme à base de pequi *Caryocar brasiliense*, não identificaram diferenças estatisticamente significativas em todas as condições de armazenamento do produto verificado.

Torres et al. (2018a), destaca que o pH é um parâmetro importante de análise, uma vez que a variação dele pode indicar a presença de impurezas, ocorrência de hidrólise e decomposição da formulação, gerando instabilidade. Em seus estudos, ao testar a estabilidade de uma microemulsão a base de pequi *C. brasiliense*, pequenas discrepâncias no pH foram identificadas (6,4 a 8,2). Todavia, essas diferenciações não promoveram a degradação da formulação.

4.9.3 Densidade

As formulações após serem submetidas aos testes preliminares de estabilidade não apresentaram sinais de instabilidade quanto a esse parâmetro. As densidades das amostras analisadas variaram, $0,968\text{g/mL} \pm 0,02$ a $0,99\text{g/mL} \pm 0,02$, valores próximos aos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2019), (tabela 7).

Figura 37 – Teste de densidade da formulação hidratante



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Legenda: pesagem do picnômetro vazio-A; pesagem do picnômetro com a amostra-C.

Ao analisar a estabilidade das emulsões produzidas com 5 e 10% de óleo de pequi *Caryocar brasiliense*, Raiser e colaboradores (2018) constataram uma densidade adequada da formulação, de $0,924\text{g/mL}$, durante os estudos com amostras submetidas a temperaturas extremas.

4.9.4 Teste de Espalhabilidade

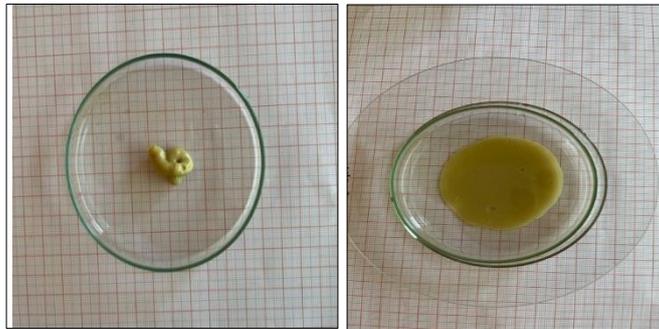
Com relação ao teste de espalhabilidade, o creme elaborado apresentou uma boa espalhabilidade. Foi observado o aumento dos diâmetros da formulação elaborada, à medida que as placas previamente pesadas eram sobrepostas sobre a placa de petri com o creme, sob o papel milimetrado (**figura 38**). A Formulação inicial apresentou uma ótima espalhabilidade, esse parâmetro pôde ser observado por meio do diâmetro de $58058600 \pm 141,421 \text{ mm}^2$, obtido a partir da equação:

$$Ei = D^2 \times \pi / 4.$$

Onde: Ei = espalhabilidade da amostra para peso i (mm^2),
 D = diâmetro médio (mm), $\pi = 3,14$.

Na concepção de Raiser e colaboradores (2018), o teste de espalhabilidade é um critério importante para verificar as emulsões cosméticas, uma vez que avalia a viscosidade, podendo também ser observado a capacidade da formulação de se espalhar na pele após a aplicação.

Figura 38 – Teste de espalhabilidade do creme a base da casca de piquiá



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Segundo Silva et al. (2019), a importância da realização do teste de espalhabilidade está em verificar a fluidez do produto, que diminui as condições de esforços necessários para aplicação na pele, quanto maior a espalhabilidade, melhor será a eficácia da emulsão sob a pele.

Para Pegorin e colaboradores (2020), a variação de temperatura, mesmo que em diferentes condições de armazenamento (geladeira, temperatura ambiente e forno) não afetou essa variável nos cremes à base de óleo de pequi *C. brasiliense*. No entanto, o longo tempo de armazenamento desse creme influenciou na diminuição da espalhabilidade.

4.10 Análise do perfume elaborado

Os resultados dos ensaios de citotoxicidade e viabilidade dos extratos de piquiá, impulsionaram a criação de um perfume sem riscos à pele, obtendo pela primeira vez, um produto biotecnológico, que pode ser utilizado no dia a dia.

O gênero *Caryocar* tem um grande potencial para ser explorado comercialmente, porém o mercado de produtos oriundos de resíduos desses frutos ainda é limitado. Apenas algumas aplicações desses resíduos são relatadas na literatura, em aplicações na culinária, na produção de pães e biscoitos (LEÃO et al., 2017). Esta pesquisa destaca o aproveitamento desses resíduos e sugere o aprimoramento em estudos futuros para aplicações biotecnológicas, principalmente nas indústrias farmacêuticas e cosméticas (MIRANDA et al., 2019).

Após a elaboração do perfume, o produto foi submetido às análises macroscópicas, que consistiu em observar os aspectos: cor e fragrância, durante o período de teste (**figura 39**). Foi observado, que o produto exibiu um tom marrom-escuro, característico do corante existente no fruto. Com relação à fragrância, não foi inserida essência comercial, porém o produto apresentou um cheiro agradável adequado ao uso.

Figura 39 – Perfume de extratos glicólicos piquiá



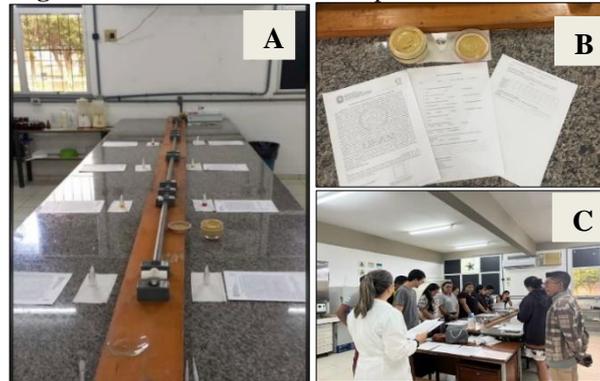
Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Segundo Bichara et al. (2019), atualmente diversos componentes são identificados e se estabelecidos no mercado cosmético, os produtos cosméticos possuem uma classificação por categoria conforme o grau do produto: água de colônia, perfume e extrato aromático, caracterizam-se por possuírem formulação com propriedades básicas ou elementares, classificam-se no grau 1 (produtos que apresentam riscos mínimos) para saúde, não requerendo inicialmente detalhes do modo de usar ou informações necessárias que comprovem a liberação (ANVISA, 2012).

4.11 Análise sensorial

A formulação hidratante artesanal e o perfume à base de piquiá foram avaliados após aprovação do Comitê de Ética (CAAE: 23318819.9.0000.5020) mediante a análise sensorial no Laboratório de Química Orgânica no Instituto de Saúde e Biotecnologia do ISB-Coari, **figuras 40A, B e C**, com turmas de Pós-Graduação em Ciências e curso Técnico em massoterapia **figura 40C**.

Figura 40 – Análise sensorial do perfume e do creme hidratante de piquiá



Fonte: Arquivo pessoal (2023).

Legenda: **A**-exposição das amostras e questionários avaliativos; **B**-termo de consentimento e fichas de avaliação do produto, **C**- análise sensorial e aplicação de questionário.

Através da análise sensorial foram obtidas informações valiosas sobre a aceitação do produto pelos consumidores, onde é identificado possíveis melhorias na formulação e determinar se atende aos padrões de qualidade desejados. Esses dados são importantes para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de produtos cosméticos, visando a satisfação e preferência dos consumidores.

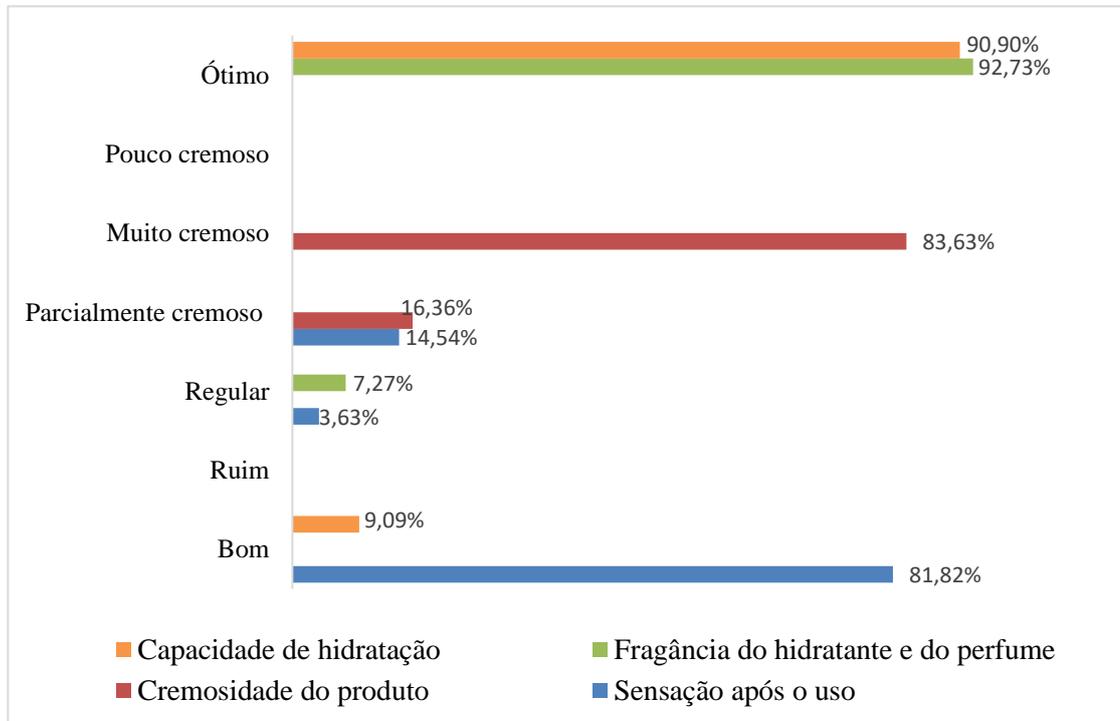
É importante ressaltar que a análise sensorial é uma técnica subjetiva e os resultados podem variar segundo as preferências individuais dos consumidores. Portanto, é fundamental obter uma amostra representativa de consumidores e realizar a análise em condições controladas para garantir resultados confiáveis.

Os **gráficos 3 e 4** mostram os resultados da análise sensorial. Os participantes após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) puderam experimentar as amostras da formulação disponíveis na bancada e, por meio de um questionário com perguntas objetivas considerando os aspectos: aroma, aparência, cremosidade, sensação após o uso, intenção de compra e conhecimento de produtos cosméticos a partir da matéria-prima de piquiá. Constatou-se uma ótima aceitabilidade por parte dos convidados em todos os critérios avaliados.

Foi questionado aos participantes sobre capacidade de hidratação do creme na pele, 90,90% (n=50) consideraram o hidratante ótimo, 9,09% (n=5) acharam bom e nenhuma pessoa achou ruim. Na opinião dos participantes, 81,82% (n=45) opinaram boa a sensação após o uso do produto, 3,63% (n= 2) acharam regular, 14,54% (n=8) consideraram cremoso e nenhum participante achou ruim. Quanto à cremosidade do hidratante, 83,63% (n=46) acharam muito cremoso, 16,36% (n=9) consideram parcialmente cremoso e nenhuma pessoa achou pouco

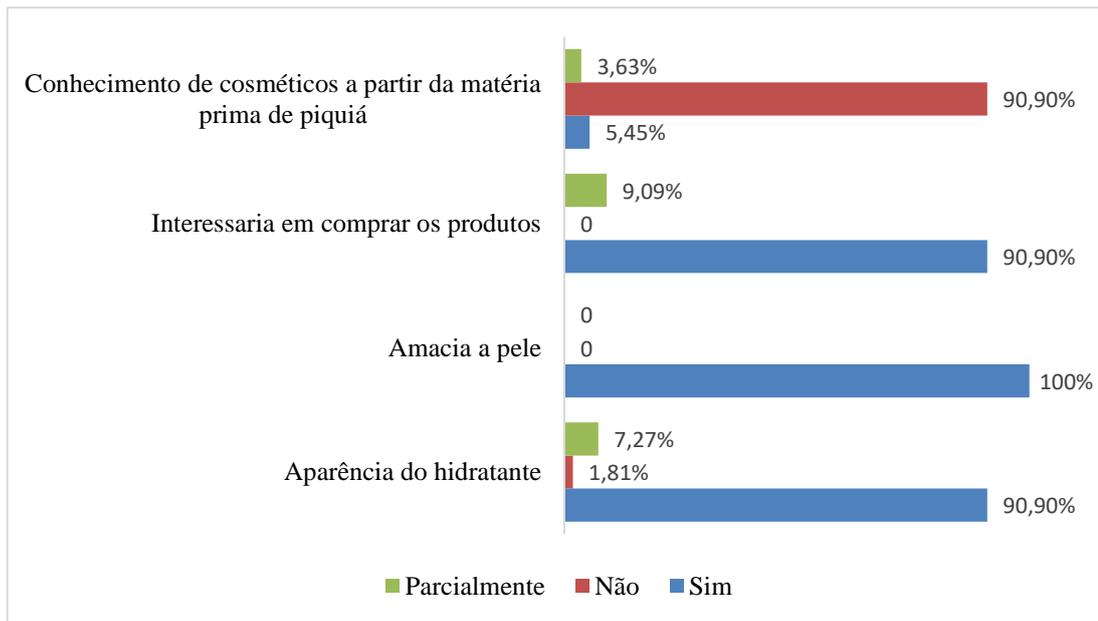
cremoso. Com relação à fragrância do perfume e do hidratante, 92,73% (n=51) acharam ótimos, 7,27% (n=4) acharam regular e nenhuma pessoa achou ruim.

Gráfico 3 – Resultado A da análise sensorial



Fonte: Autora (2023).

Foi questionado aos participantes se conheciam produtos cosméticos (perfume e hidratante) a partir do piquiá, 90,90% (n=50) disseram não ter conhecimento, 3,63% (n=2) conheciam parcial e somente 5,45% (n=3) tinham conhecimento. Com relação à aparência da formulação hidratante, 90,90% (n=50) dos participantes gostaram da aparência, 7,27% (n=4) gostaram parcialmente e apenas 1,81% (n=1) não gostou. Quanto à maciez do produto, 100% (n=55) dos participantes consideraram que o hidratante amacia a pele após o uso. Dos 55 convidados da pesquisa, 90,90% (n=50) se interessariam em comprar os produtos e 9,09% (n=5) disseram que talvez comprariam.

Gráfico 4 – Resultado B da análise sensorial

Fonte: Autora (2023).

Apesar das avaliações positivas dos consumidores, é necessário seguir precisamente os procedimentos de teste estabelecidos pela Farmacopeia a fim de garantir a qualidade e a segurança do produto final. Alguns desses testes incluem: o tempo de armazenamento do produto, que se refere ao tempo em que o item pode ser mantido sem prejudicar a sua qualidade, eficácia ou segurança.

Os órgãos regulatórios: ANVISA e Farmacopeia Brasileira, estabelecem diretrizes e requisitos para a realização dos testes, que visam assegurar que os produtos sejam seguros, eficazes e de alta qualidade antes de serem vendidos no mercado.

Há uma demanda constante por antioxidantes naturais na indústria de cosméticos e medicamentos que está relacionada à procura por produtos mais sustentáveis e seguros das preferências dos consumidores. A presença de antioxidantes naturais é crucial para o desenvolvimento de um produto cosmético com ação farmacológica, uma vez que ajuda a combater os danos causados pelos radicais livres e a promover o bem-estar da pele (LANGE et al., 2009; ROCHA et al., 2015; ROLL et al., 2018; GOMES et al., 2020).

A utilização de ingredientes naturais em cosméticos, é benéfico à saúde humana. Esse potencial foi demonstrado nos trabalhos de Bezerra e colaboradores (2020), ao usarem o óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) e a emulsão à base desta espécie no tratamento da dermatite em camundongos fêmeas. A formulação apresentou efeitos antimicrobianos e anti-inflamatórios. Os resultados de Silva et al., (2016a) foram semelhantes, ao usarem dosagem de microemulsão do óleo desta mesma espécie em camundongos.

A utilização do gênero vai além da alimentação, comprovadas na literatura, as espécies estão em destaque na culinária, presente em diversos cardápios gastronômicos, no uso medicinal, na indústria farmacêutica e cosmética. Os inúmeros benefícios descritos por botânicos, farmacologistas, bioquímicos e demais profissionais apresentam perspectivas farmacológicas (GOMES et al., 2018; SANTOS et al., 2020c).

A seleção da espécie para o desenvolvimento desta pesquisa e a elaboração dos produtos cosméticos, baseou-se na composição química do fruto, identificadas por meio de análises realizadas durante a pesquisa, utilizando técnicas como CCD, CLAE/MS, testes de fenóis e flavonoides totais. Além de ensaios para verificar a capacidade antioxidante da espécie selecionada, utilizando métodos como a captura dos radicais livres DPPH* e ABTS+ e ensaio biológico identificando a ausência de toxicidade da espécie (MIRANDA et al., 2019).

Idealizar um produto a partir dessa espécie, favorece o desenvolvimento socioeconômico da população amazônica. Diante disso, recomenda-se realizar estudos adicionais para confirmar os benefícios do extrato de piquiá em aplicações cosméticas (ROXO et al., 2020).

CONCLUSÃO

Esta pesquisa investigou os extratos liofilizados de cascas (epicarpo e mesocarpo), polpa e semente de piquiá *C. villosum*, espécie nativa da região Amazônica obtida no município de Coari-Am. A partir da caracterização química e ensaios biológicos, foram identificadas substâncias biologicamente ativas, promissoras em aplicação cosmética comparada com espécies do mesmo gênero. Os resultados evidenciaram uma possibilidade para o aproveitamento integral do fruto, visto que, a casca corresponde de 65% do fruto, tornando-o fonte sustentável de baixo custo e de interesse econômico na indústria cosmética.

Quanto aos rendimentos dos extratos hidroalcoólicos, cada parte do fruto apresentou rendimentos distintos, a casca interna (mesocarpo) com 19,32% seguido da casca externa (epicarpo) 17,21%, a polpa com 15,47% e semente 17,18%. Esses valores revelam a presença de abundantes moléculas polares. Ao serem revelados em luz ultravioleta, nos comprimentos de onda de 254 nm e 366 nm, com diferentes reveladores, NP/PEG, DPPH, vanilina sulfúrica, anisaldeído e cloreto férrico, mostraram a presença de compostos fenólicos, flavonoides e saponinas em quantidades diferentes, com maior intensidade nas cascas do fruto.

Os extratos das quatro partes do piquiá, ao serem submetidos às análises de CLAE/MS revelaram a presença de compostos majoritários, esses íons apresentam razão m/z de 169 e 301 característicos de ácido gálico e ácido elágico, correlacionando com os dados da literatura. Foi possível quantificar através do método *Folin Ciocalteu*, os compostos fenólicos nos diferentes extratos. Os teores foram comparados com o padrão ácido gálico, nos extratos da casca externa, 57,66%, seguido da semente (EHSP) 54,50% e da casca interna com 53,40% e polpa (EHPP) 26,80%. Essa observação foi sinalizada pela mudança de coloração do amarelo-claro para azul-esverdeado nos extratos no ensaio colorimétrico e através da % de inibição obtida.

A estimativa de flavonoides totais presentes nos extratos diferiu entre as partes do fruto estudado. A porcentagem de flavonoides na casca externa foi de 95,41%, seguido da casca interna com 84,41% apresentando valores próximos ao padrão de quercetina 99,47%. Enquanto o extrato da semente exibiu 44,98%, de flavonoides, e o extrato da polpa exibiu 27,12% de flavonoides.

Quanto à capacidade antioxidante frente aos radicais livres DPPH e ABTS. Todos os extratos de cascas (epicarpo e mesocarpo), polpa e semente, revelaram uma forte atividade em capturar espécies reativas com valores foram comparados com o padrão ácido gálico de (IC_{50} de $14,7 \pm 1,35$). Na casca externa, com IC_{50} de $27,11 \pm 1,56\%$ $\mu\text{g/mL}$ de concentração efetiva, seguido da casca interna com IC_{50} de $53,48 \pm 1,92$ de concentração efetiva, da semente IC_{50} de

56,07 ± 2,88 de concentração efetiva, em contrapartida, o extrato da polpa com IC₅₀ 79,49 ± 2,97 de concentração efetiva. Com relação à análise de captura do radical livre ABTS+, os extratos apresentaram atividade antioxidante com % de inibição satisfatório nos extratos analisados. Na casca externa, (90,78±0,30%) de inibição, casca interna, (92,20±0,26%), seguido dos extratos da semente, (91,54±0,39%), em contrapartida, os extratos da polpa, (91,39±0,23%).

Também foi investigada a viabilidade celular da espécie estudada neste trabalho, mediante estudos realizados na FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz) *in vitro*, indicou ausência de toxicidade nos extratos das partes do fruto, sendo um fator importante para garantir a segurança do produto cosmético. Esses resultados foram obtidos durante a pesquisa e comparados com informações disponíveis na literatura científica realizados com partes do fruto da mesma espécie e com outras espécies do gênero que indicaram ausência de toxicidade nos extratos de partes do fruto.

Diante da potencialidade biológica encontrada no resíduo dessa espécie, comparada com a literatura, foi possível realizar a elaboração de fitocosmético artesanal: perfume a partir das quatro partes do fruto e uma formulação hidratante, utilizando somente a casca do fruto. Os produtos foram submetidos a diversos testes preliminares de estabilidade e físico-químicos, apresentando resultados satisfatórios.

Na análise sensorial dos produtos, foi observado uma boa aceitação por parte dos participantes da pesquisa, que indicaram como um produto promissor no mercado. Este trabalho contribuirá com as pesquisas científicas e oportunizará uma maior conscientização e valorização dos resíduos nativos da região Amazônica, ao utilizar pela primeira vez as cascas da espécie *Caryocar villosum* para elaboração de perfume e formulação hidratante para pele. Além disso, estimulam a continuidade dos estudos no Médio Solimões, possibilitando a valorização de matérias-primas regionais como os resíduos dos frutos, agregando valor econômico dessas oleaginosas e a viabilidade de aplicação na indústria de cosmético.

REFERÊNCIAS

ABIHPEC-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA E HIGIENE PESSOAL, PERFUMARIA E COSMÉTICOS. Disponível em: <https://abihpec.org.br>. Em 30 de janeiro 2021.

AFONSO, S.R.; ANGELO, H.; ALMEIDA, A.N. Caracterização da produção de pequi em Japonvar. **Revista Floresta**, v. 45, n. 1, p. 49-56, 2014. doi.10.5380/rev.v45i1.33987.

AHMED, E.; ARSHAD, M.; KHAN, M.Z.; AMJAD, M.S.; SADAF, H.M.; RIAZ, I.; SABIR, S.; SABAOON, A.N. Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 2, p. 205-214, 2017.

AINSWORTH, E.A.; GILLESPIE, K.M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007. doi.10.1038/nprot.2007.102.

ALMEIDA, M.R.; DARIN, J.A.C.; HERNADES, L.C.; AISSA, A.F.; CHISTÉ, R.C.; MERCADANTE, A.Z.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. Antigenotoxic Effects of Piquiá (*Caryocar villosum*) in Multiple Rat Organs. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 171–177, 2012.

ALMEIDA, D.P.; POMPILIO, A.C.; LIMA, A.F.M.; ALMEIDA, N.C.; APARECIDA, C.L. Biological activities of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil. **Multiple Biological Activities of Unconventional Seed Oils**, p. 257-267, 2022.

ALVES, R.P.; LEVIS, C.; CLEMENT, C.R. Use and Management of Piquiá Suggest in situ Domestication along the Lower Tapajós River, Brazilian Amazonia. **Economic Botany**, v. 70, n. 2, p. 198–202, 2016. doi.10.1007/s12231-016-9340-4.

ALVES, A.T.; MARTORANO, L.G.; FLORENTINO, G.D.; LASMAR, D.J.; MIRANDA, Í.P.A.; LISBOA, L.S.; CHAAR, J.S. Thermal Diagnosis of Heat Conduction and Combustion Time of Fruits of the Brazil Nut Tree (*Bertholletia excelsa* Bonpl.). **Advances in Bioscience and Biotechnology**, v. 11, n. 2, 2020.

AMARAL, L.F.; MORIEL, P.; FOGGIO, M.A.; & MAZZOLA, P.G. *Caryocar brasiliense* supercritical CO₂ extract possesses antimicrobial and antioxidant properties useful for personal care products. **BioMed Central Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 73, p. 1-7, 2014. doi.org/10.1186/1472-6882-14-73.

ANICETO, A.; PORTE, A.; MONTENEGRO, J.; CADENA, R.S.; TEODORO, A.J.A. review of the fruit nutritional and biological activities of three Amazonian species: bacuri (*Platonia insignis*), murici (*Byrsonima* spp.), and taperebá (*Spondias mombin*). **Fruits The International Journal of Tropical and Subtropical Horticulture**, v. 72, n. 5, p. 317-326, 2017. doi.org/10.17660/th2017/72.5.7.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. 1. ed. v.1, p. 52, Brasília. 2004.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. 2ª ed., p. 120, Brasília, 2008.

ANVISA, RESOLUÇÃO - RDC Nº 29, DE 1º DE JUNHO DE 2012. Disponível em:< <http://portal.anvisa.gov.br>> em 03 de junho de 2012.

AQUINO-NETO, F.R.; NUNES, D.S.S. Cromatografia: Princípios básicos e Técnicas afins. **Interciência**, RJ, 2003.

ARARUNA, M.K. A.; SANTOS, K.A.; DA COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M.; BOLIGON, A.A.; STEFANELLO, S.T.; ATHAYDE, M.L.; SARAIVA, R.A.; ROCHA, J.B.T.; KERNTOPF, M.R.; DE MENEZES, I.R.A. Phenolic composition and *in vitro* activity of the Brazilian fruit tree *Caryocar coriaceum* Wittm. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 5, n. 2, p. 178–183, 2013. doi.10.1016/j.eujim.2012.11.007.

ARAÚJO, V.F.; PETRY, A.C.; ECHEVERRIA, R.M.; FERNANDES, E.C.; JUNIOR, F.P. Plantas da Amazônia para Produção Cosmética, Produção não-madeireira e desenvolvimento Sustentável na Amazônia. **ITTO**, Brasília, p. 48. 2005.

ASCARI, J.; TAKAHASHI, J.A.; BOAVENTURA, M.A.D. The Phytochemistry and Biological Aspects of Caryocaraceae Family. **Rev. Bras. Plantas. Med.**, v. 15, n. 2, p. 293-308, 2013.

ASTOLFI-FILHO, S.; SILVA, C.G.N.; BIGI, M.F.M.A. Ciência, tecnologia e inovação para o desenvolvimento da Amazônia Legal: bioprospecção e biotecnologia. **Parcerias Estratégicas**, v. 19, n. 38, p. 45-80, 2014.

BALOGH, T.S. Dissertação de Mestrado de Ciências Farmacêuticas pela Universidade de São Paulo, 2011.

BARRETO, G.P.M.; BESSANI, 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**, v. 20, n. 10, p. 1856-1861, 2009.

BARROS, D.B. Síntese e caracterização de estruturas nanotubulares de alta pressão funcionalizadas com emulsões de líquido iônico e óleo fixo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm) e avaliação da citotoxicidade sobre osteoblastos. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de concentração Biotecnologia, da Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

BARROS, G.M.; ANJOS, M.S.; BARROS, G.M. Technological Propection of Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e754997957, 2020. doi: 10.33448/rsd-v9i9.7957

BATISTA, J.S.; SILVA, A.E.; RODRIGUES, C.M.F.; COSTA, K.M.F.M.; OLIVEIRA, A.F.; PAIVA, E.S.; OLINDA, R.G. Evaluation of the healing activity of pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm) oil in cutaneous wounds induced experimentally in rats. **Instituto Biológico**, v. 77, n. 3, p. 441-447, 2010.

BATISTA, F.O. & SOUSA, R.S. Compostos bioativos em frutos pequi (*Caryocar brasiliense* camb.) e baru (*Dipteryx alata* vogel) e seus usos potenciais: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 7, p. 9259-70, 2019.

BATISTA, R.J.R.; BOTELHO, A.S.; AMARANTE, C.B. Determination of the antioxidant activity of Montrichardia linifera extracts by DPPH method. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 41071-41085, 2022. doi.10.34117/bjdv8n5-540.

BEMFEITO, C.M.; BOAS, E.V.B.V.; ANGELIS-PEREIRA, M.C.; SOUZA, N.O.; CARNEIRO, J.D.S. Application of the nutrient profile model in the development of food bars with functional potential. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 313-4322, 2021. doi:10.1007/s13197-020-04909-1.

BERTOLINO, J.F.; FERREIRA, K.; MASCARENHAS, L.J.; OLIVEIRA, L.P.; VULCANI, V. Aplicabilidade do Óleo de Pequi na Cicatrização. **Enciclopédia Biosfera**, v. 16, n. 29, 2019.

BEZERRA, N.K.M.S.; BARROS, T.L.; COELHO, N.P.M.F. A ação do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no processo cicatricial de lesões cutâneas em ratos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 875-880, 2015.

BEZERRA, R.G. Avaliação pré-clínica do óleo de pequi (*Caryocar coriaceum* Wittm.) e emulsão a base deste para o tratamento da dermatite: formulação, caracterização e efeitos antimicrobiano e anti-inflamatório. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2020.

BEZERRA, G.S. Estudo Fitoquímico e Potencial Antioxidante de (*Caryocar villosum* Aubl.) Pers.) (Piquiá). Dissertação de Mestrado Química de Produtos Naturais pela Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2021.

BIAZOTTO, K.R.; MESQUITA, L.M.S.; NEVES, B.V.; BRAGA, A.R.C.B.; TANGERINA, M.M.P.T.; VILEGAS, W.; MERCADANTE, A.Z.M.; ROSSO, V.V. Brazilian Biodiversity Fruits: Discovering Bioactive Compounds from Underexplored Sources. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 7, p. 1860-1876, 2019.

BICHARA, D.S.N.; COLARES, M.V.; LEITÃO, C.S.S.; DASMACENO, K.S. O Uso de Cosméticos Amazônicos na Estética: A Biodiversidade em Favor da Beleza. **Produção Acadêmico-Científica**, v. 6, n. 1, 2019.

BRAGA, K.M.S.; ARAUJO, E.G.; SELLKE, F.W.; ABID, M.R. Pequi Fruit Extract Increases Antioxidant Enzymes and Reduces Oxidants in Human Coronary Artery Endothelial Cells. **Journas Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 474, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11030474>

BRITO, R.M.; BARCIA, M.T.; FARIAS, C.A.; ZAMBIAZI, R.C.; FERES DE MARCHI, P.G.; FUJIMORI, M.; HONORIO-FRANÇA, A.C.; FRANÇA, E.L. & BECKER PERTUZATTI, P. Bioactive compounds of pequi pulp and oil extracts modulate antioxidant activity and antiproliferative activity in cocultured blood mononuclear cells and breast cancer cells. **Food & nutrition Research**, v. 66, 2022. doi.org/10.29219/fnr.v66.8282.

CALDEIRA, A.S.P.; MBIAKOP, U.C.; PÁDUA, R.M.; VENTER, M.V.; MATSABISA, M.G.; CAMPANA, P.R.V.; CORTES.S.F.; BRAGA, F.C. Bioguided chemical characterization of pequi (*Caryocar brasiliense*), fruit peels towards an anti-diabetic activity. **Food Chemistry**, v. 30, n. 345, 2020. doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.128734.

CANGUSSU, L.B.; LEÃO, P.D; OLIVEIRA, L.S.; FRANCA, A.S. Profile of bioactive compounds in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) peel flours. **Food chemistry**, v. 350, 2021. doi: org/10.1016/j.foodchem.129221.

CHEN, H. et al. Ácido gálico, um dos principais componentes do *Toona sinensis*, contém uma atividade anticancerígena mediada por ROS em células de câncer de próstata humano. **Cartas de Câncer**, v. 286, p. 161-71, 2009.

CHIARADIA, M.C.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. The state of the art of chromatography associated with the tandem mass spectrometry for toxic compound analyses in food. **Química nova na escola**. v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000300030>.

CHISTÉ, R.C.; FREITAS, M.; MERCADANTE, A.Z.; FERNANDES, E. The potential of extracts of *Caryocar villosum* pulp to scavenge reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v.135, n. 3, p. 1740-1749, 2012a.

CHISTÉ, R.C.; FREITAS, M.; MERCADANTE, A.Z. Identification and Quantification, by HPLC-DAD-MS/MS, of Carotenoids and Phenolic Compounds from the Amazonian Fruit *Caryocar villosum*. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5884–5892, 2012b. doi.org/10.1021/jf301904f.

CHISTÉ, R.C.; DE TOLEDO BENASSI, M.; MERCADANTE, A.Z. Efficiency of different solvents on the extraction of bioactive compounds from the amazonian fruit *Caryocar villosum* and the effect on its antioxidant and colour properties. **Phytochemical Analysis**, v. 25, n. 4, p. 364–372, 2013.

CHORILLI, M.; TAMASCIA, P.; ROSSIM, C.; SALGADO, H.R.N. Ensaios biológicos para avaliação de segurança de produtos cosméticos. **Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 30, n. 1, p. 19-30, 2009.

CIOLA, R. Fundamentos de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho. 1. ed. São Paulo: Editora Edgar Blucher Ltda, 2000.

COELHO, N.P.M.D. *Cenostigma macrophyllum* Tul. on the healing of skin wounds in rats with diabetes mellitus. **Acta Cir. Bras.** v. 28, n. 8, p. 594-600, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502013000800007>.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.E.; BONATO, P.S. Introdução a métodos cromatográficos. 7ª edição. Campinas - SP: Editora da UNICAMP, 1997.

COLOMBO, N.B.R.; RANGEL, M.P.; MARTINS, V.; HAGE, M.; GELAIN, D.P.; BARBEIRO, D.F.; CAPELOZZI, V.L. *Caryocar brasiliense* camb protects against genomic and oxidative damage in urethane-induced lung carcinogenesis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 48, n. 9, p. 852-862, 2015.

CONCEIÇÃO, S.P.; GAMA, J.R.V.; MONTEIRO, R.N.; et al. Cadeia produtiva do piquiá no município de Santarém, Estado do Pará, Brasil. doi:10.5935/2318-7670. **Nativa, Sinop**, v. 5, n. 1, p. 31-36, 2017.

COSTA, J.G.; BRITO, S.A.; NASCIMENTO, E.M.; BOTELHO, M.A. & RODRIGUES, F.F. Antibacterial properties of pequi pulp oil (*Caryocar coriaceum* wittm.). **International Journal of Food Properties**, v. 14, p. 411- 416, 2011.

DALARMI, L.; MIGUEL, M.D.; CANSIAN, F.C. Desenvolvimento de emulsão dermatocósmica contendo manteiga de manga (*Mangifera indica* L.) Anacardiaceae. **Visão acadêmica**, v. 13, n. 1, p. 32-42, 2012.

DE FIGUEIREDO, P.R.L.; OLIVEIRA, I.B.; NETO, J.B.S.; DE OLIVEIRA, J.A.; RIBEIRO, L.B.; DE BARROS VIANA, G.S.; ROCHA, T.M.; LEAL, L.K.A.M.; KERNTOPF, M.R.; FELIPE, C.F.B.; COUTINHO, H.D.M.; DE ALENCAR MENEZES, I.R. *Caryocar coriaceum* Wittm. (Pequi) fixed oil presents hypolipemic and anti-inflammatory effects *in vivo* and *in vitro*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 191, p. 87–94, 2016. doi.org/10.1016/j.jep.2016.06.038.

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

DEL VALLE, L.G. WITHDRAWN: Oxidative stress in aging: Theoretical outcomes and clinical evidences in humans. **Biomedicina e Farmacoterapia**, v. 1, n. 1, p. 1–7, 2011. doi. 10.1016 /j.biomag.2011.03.001.

DE MIRANDA SABINO, C.V.; PAULA DA SILVA, B.J.; DE MENEZES, D.B.L; DA SILVA, F.M.A.; DE-SOUZA, T.P.; KOOLEN, H.H.F.; DE LIMA, Á.A.N.; LIMA, E.S. Physicochemical Characterization, Stability and Cytotoxicity of a Blue Dye Obtained from Genipap Fruit (*Genipa americana* L.). **Food technology and biotechnology**, v. 59, n. 1, p. 103–111, 2021. doi.org/10.17113/ftb.59.01.21.6809.

DENGER, A.P.F.L.; KAWANO, L.O.; PAULA, R.A.O.; SANTOS, L.B.; RODRIGUES, M.R.; PAULA, F.B.A.; DUARTE, S.M.S. Determination of antioxidant activity and total phenols of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. e2859119781, 2020.

DE OLIVEIRA, F.F.; DE ARAÚJO, J.C.; PEREIRA, A.F.; BRITO, G.A.; GONDIM, D.V.; RIBEIRO, R.; DE MENEZES, I.R. & VALE, M.L. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Caryocar coriaceum* Wittm fruit pulp fixed ethyl acetate extract on zymosan-induced arthritis in rats. **Journal of ethnopharmacology**, v. 174, p. 452–463, 2015. doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.017.

DE OLIVEIRA, M.L.; NUNES-PINHEIRO, D.C.; TOMÉ, A.R.; MOTA, E.F.; LIMA-VERDE, I.A.; PINHEIRO, F.G.; CAMPELLO, C.C.; DE MORAIS, S.M. *In vivo* topical anti-inflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. seeds. **Journal of ethnopharmacology**, v. 129, n. 2, p. 214–219, 2010.

DE SÁ COUTINHO, D.; PIRES, J.; GOMES, H.; RAFFIN POHLMANN, A.; STANISÇUASKI G.S.; RODRIGUES, S.P.M.; MARTINS, M.A.; FERRARINI, S.R.; BERNARDI, A. Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess)-Loaded Nanoemulsion, Orally Delivered, Modulates Inflammation in LPS-Induced Acute Lung Injury in Mice. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 11, p. 1075, 2020. doi: 10.3390/pharmaceutics12111075.

DING, A.J.; ZHENG, S.Q.; HUANG, X.B.; et al. Current Perspective in the Discovery of Anti-aging Agents from Natural Products. **Natural Products and Bioprospecting**, v. 7, n. 5, p. 335–404, 2017. doi:10.1007 / s13659-017-0135-9.

DINIZ, D.M. Atividade antiinflamatória de microemulsão contendo óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

DOBRINAS S. & SOCEANU, A. Determination of Total Phenolic Content From Plant Extracts Used In Cosmetic Purpose. **Journal of Science and Arts Year**, v. 54, n. 1, p. 247-260, 2021.

DUAVY, S.M.P.; SILVA, L.J.; COSTA, J.G.M.; RODRIGUE, S.F.F.G. Atividade Biológica de Extratos de Folhas de *Caryocar Coriaceum* Wittm.: Estudo *In Vitro*. **Cultura e Ciência**, v. 11, n. 1, 2012.

ENGWA, G.A.; ENNWEKEGWA, F.N.; NKEH-CHUNGAG, B.N. Free Radicals, Oxidative Stress-Related Diseases and Antioxidant Supplementation. **Alternative therapies in health and medicine**, v. 28, n. 1, p. 114-128, 2022.

ESCOBAR, J.L.; ANDRIGHETTI, C.R.; RIBEIRO, E.B.; VALLADÃO, D.M.S. Development of bar soaps containing pequi oils (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Scientific Electronic Archives**, v. 9, n. 2, p. 73-79, 2016.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária 6ª edição Volume I, 2019.

FEARNSIDE, P.M. Desmatamento na Amazônia: dinâmica, impactos e controle. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 3, p. 395-400, 2006.

FERRO, A.F.P.; BONACELLI, M.B.M.; ASSAD, A.L.D. Technological opportunities and competitive strategies of environmental management: the sustainable use of the Brazilian biodiversity. **Gestão & Produção**, v. 13, p. 489-501, 2006.

FERREIRA, B.S.; ALMEIDA, C.G.; FAZA, L.P.; ALMEIDA.A; DINIZ. C.G.; SILVA, V.L.; GRAZUL, R.M.; HYARIC, M. Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by Different Extraction Methods. **Molecules**, v. 16, n. 7, p. 5875–5885, 2011.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N.J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, p. 239-47, 2000. doi.10.1038/35041687.

FREITAS, C.E.P., AMORIM, A.F.V.; SIQUEIRA, S.M.C.; QUEIROZ, A.E.; ALVES, A.M.B.; ALVES, A.Y.S.; JUNIOR, A.M.; SILVA, D.C. *In vitro* study of Antioxidant Activity by capturing the free radical DPPH and analysis of the photoprotective activity of Pará nut oil extracted with alternative solvent. **Brazilian Journal of Development**, v.7, n. 5, p. 52411-52423, 2021.

GOMES, D.J.; SALES, D.S.; CAETANO, B.R.F.; SILVA, F.R.A.; PEDROSA, A.P.; CARVALHO, E.K.M.A. Possibilities of use of *Caryocar brasiliense* from a pharmacological perspective. **Agroecology In The Semiarid**, v. 2, n.1, p. 13 - 20, 2018.

GOMES, L.M.; MARINO, C.J.M; COTRIM, A.C.M.; NOGUEIRA, R. VALLADÃO, D.M.S.; TORRES, M.P.R.; RIBEIRO, E.B. Development and sun protection factor of emulsionated formulation containing Brazil nut oil. **Scientific Electronic Archives**. vol. 13, n. 7, 2020.

GOSETTI, F.; MAZZUCCO, E.; GENNARO, M.C.; et al. Ultra-high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry determination and profiling of prohibited steroids in human biological matrices. A review. **Journal of chromatography B. Analytical technologies in the biomedical and life sciences**. v. 927, p. 22–36, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.12.003>

GUAADAOU, A.; BENAICHA, S.; ELMAIDOU, N.; BELLAOUI, M.; HAMAL, A. What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 3, p. 17–179, 2014.

GUIMARÃES, A.C. Estudo Químico e Biológico de *Cladocolea micrantha* (Loranthaceae), uma planta medicinal da região Amazônica. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651-715, 2020. doi.10.1007/s00204-020-02689-3.

HARBORNE, J.B. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 2^a edition. London, New York: **Chapman and Hall**, 1984.

HARRIS, D.C.; LUCY, C.A. Espectrometria de Massas. In: Análise Química Quantitativa. Rio de Janeiro: Editora LTC, p. 539–574, 2012.

HENRIQUE, A.S.; LOPES, G.C. Biodiversity And Cosmetic Industry: The Flavonoid Use Against Aging Skin. **Uningá Review**, v. 29, n. 2, p. 58-63, 2017.

IBIAPINA, A.; GUALBERTO, L.D.S.; DIAS, B.B.; FREITAS, B.C.B.; MARTINS, G.A.S, MELO, F.A.A. Essential and fixed oils from Amazonian fruits: proprieties and applications. **Critical reviews in food science and nutrition**, p. 1-13, 2021.

ISAAC, V.L.B; CEFALI L.C; CHIARI, B.G; OLIVEIRA, C.C.L.G; SALGADO H.R.N; CORRÊA, M.A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosmético.

Rev. Ciênc. Farm. Básica Aplicada, **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008 ISSN 1808-4532, 2008.

JARAMILLO, J.E.C.C.; BAUTISTA, M.P.C.; SOLANO, O.A.A. ACHENIE L.E.K.; BARRIOS, A.F.G. Impact of the Mode of Extraction on the Lipidomic Profile of Oils Obtained from Selected Amazonian Fruits. **Biomolecules**, v. 9, n. 8, p. 329, 2019. doi. 10.3390/biom9080329.

JORK, H.; FUNK, W.; FISCHER, W.; WIMMER, H. Thin-Layer Chromatography Reagents and detection the methods, v. 1a. República Federal da Germânia: VCH Verlagsgesellschaft, 1990.

JUNIOR, A.J., LEITÃO, M.M., BERNAL, L.T.P.T., KUKAOKA, O.A.M., JUSTI, P.A.E.J. & ARGANDONA, K.C. Analgesic and Anti-inflammatory Effects of *Caryocar Brasiliense*. **Med Chem.** v. 19, n.3, p. 313-322, 2020. doi:10.2174/187152301866190408144320. 30961515.

KERNTOPF, M.R.; LEITE-FIGUEIREDO, P.R.; BEZERRA-FELIPE, C.F.; OLIVEIRA, A. W.; ALENCAR, M.I.R.; PIMENTEL, F.G.; SANTIAGO, L.I.C. Óleo de Pequi (*Caryocar Coriaceum* W.) E o Potencial Atividade Cardioprotetora. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 4, p. 117-125, 2013.

KIRÁLY, M.; KISS, B.D.; VÉKEY, K.; ANTAL, I.; LUDÁNYI, K. Mass spectrometry: past and present. **Acta Pharmaceutica Hungarica**, v. 86, n. 1, p. 3-11, 2016.

LAMARÃO, C.V.; GOMES, M.L.S.; MARTINS, G.A.S.; ROLIM, C.S.S.; YAMAGUCHI, K.K.L.; BONATTO, E.C.S.; SILVA, C.C.; VEIGA-JÚNIOR, V.F. Antioxidantes Inorgânicos em Frutos Amazônicos/Inorganic Antioxidants In Amazonian Fruits. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 12237-12253, 2020.

LANGE, M.K.; HEBERLÉ, G.; & MILÃO, D. Avaliação da estabilidade e atividade antioxidante de uma emulsão base não-iônica contendo resveratrol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, n. 45, v. 1, p. 145–151, 2009. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502009000100018>

LEAL, J.S.; DUARTE, J.L.; VILHENA, J.C.E.; FLORENTINO, A.C.; BEREAU, D.; ROBINSON, J.C.; CARVALHO, J.C.T.; CRUZ, R.A.S.; FERNANDES, C.P.; OLIVEIRA A.E.M.F.M. Pequiá-Based Nanoemulsion Highlights an Important Amazon Fruit (*Caryocar villosum* (Aubl.) Pers). **Journal of Nanomedicine Research**, v. 4, n. 1, 2016.

LEANDRO, C.T.B.; JUNIOR, E.M.F.; OTANI, F.S.; FELSEMBURGH, C.A. Caracterização biométrica e composição química do fruto de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. nativo da Amazônia. **Ibero-American Journal of Environmental Sciences**, vol. 9 n. 6, p. 295-306, 2018.

LEÃO, D.P.; FRANCA, A.S.; OLIVEIRA, L.S.; BASTOS, R.; COIMBRA, M.A. Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. **Food Chemistry**, v. 225, p. 146-153, 2017. doi.10.1016/j.foodchem.2017.01.027.

LEMES, E.O; FERNANDES, M.M.C.; ROSA, V.P.; NASCIMENTO, A.H. Survey of the Use of Piqui (*Caryocar brasiliense* camb.) as an Antioxidant Agent in the Prevention of Neurodegenerative Diseases. **UNICIÊNCIAS**, v. 21, n. 2, p. 110-114, 2017.

LEONARDI, G.R.; GASPAR, L.R.; CAMPOS, P.M.B.G.M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **An. Bras. Dermatol.** v. 77, p. 563-569, 2002.

LIMA, A. Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.). Tese de (doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de alimentos e Nutrição Experimental. 2008.

LIMA, L.G.B.; MONTENEGRO, J.; ABREU, J.P.; SANTOS, M.C.B.; NASCIMENTO, T.P.D.; SANTOS, M.D.S.; FERREIRA, A.G.; CAMERON, L.C.; FERREIRA, M.S.L.; TEODORO, A.J. Metabolite Profiling by UPLC-MS^E, NMR, and Antioxidant Properties of Amazonian Fruits: Mamey Apple (*Mammea Americana*), Camapu (*Physalis Angulata*), and Uxi (*Endopleura Uchi*). **Molécules**, v. 25, n. 2, p. 342, 2020. doi.org/10.3390/molecules25020342.

LONG, X; ZENG, X.; YAN, H.; XU, M.; ZENG, Q.; XU, C.; XU, Q.; LIANG, Y.; ZHANG, J. Flavonoids composition and antioxidant potential assessment of extracts from Gannanzao Navel Orange (*Citrus sinensis* Osbeck Cv. Gannanzao) peel. **Natural product research**, v. 35, n. 4, p. 702–706, 2020. doi.10.1080/14786419.2019.1593162.

LOOS, G.; SCHEPDAEL, A.V.; CABOOTER, D. Quantitative mass spectrometry methods for pharmaceutical analysis. **Mathematical, physical, and engineering sciences**, v. 374, n. 2079, 2016. doi.10.1098/rsta.2015.0366.

LOPES, R.M.; TOLEDO DE OLIVEIRA, O.T.; NAGEM, T.J. Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biociência e Desenvolvimento**, p. 18–22, 2017.

LOPES, V.G.; VALADARES, M.B.; SANTOS, J.C.V.; LACERDA, G.E.; NASCIMENTO, G.N.L. Utilização de Frutos Amazônicos na Indústria de Cosméticos e Fármacos. **Coletânea Frutos Amazônicos**, cap. 9, p. 112, 2020.

LORENZO, N.D.; SANTOS, O.V.; LANNES; S.C.S. Fatty acid composition, cardiovascular functionality, thermogravimetric-differential, calorimetric and spectroscopic behavior of pequi oil *Caryocar villosum* (Alb.) Pers.), **Food Science and Technology**, v. 41, n. 2, p. 524-529, 2020. doi.org/10.1590/fst.16420.

LU, Y.L et al. O ácido gálico suprime a viabilidade celular, proliferação, invasão e angiogênese em células de glioma humano. **Jornal Europeu de Farmacologia**, v. 641, p. 102-07, 2010.

MACIEL, K.M.; Estudos Químicos de Extratos Bioativos de Piquiá (*Caryocar villosum* (Aubl.) Pers.). Dissertação de Mestrado em Química Orgânica pela Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2018.

MAGID, A.A.; VOUTQUENNE, L.; HARAKAT, D.; POUNY, I.; CARON, C.; MORETTI, C.; e LAVAUD, C. Triterpenoid Saponins from the Fruits of *Caryocar villosum*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 6, p. 919-926, 2006a.

MARCOVITCH, J.; PINSKY, V. Bioma Amazônia: atos e fatos. **Estudos Avançados**, v. 34, n. 100, p. 83-106, 2020. doi.org/10.1590/s0103-4014.2020.34100.007.

MARTINS, R.L.; GRIBEL, R. Pollination of *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae), an emergent tree in central Amazônia. **Brazilian Journal of Botany**, v. 30, n. 1, p. 37-45, 2007. doi.org/10.1590/S0100-84042007000100005.

MARTINS, D.L. Avaliação macroscópica da cicatrização de lesões experimentalmente provocadas na pele de coelhos e tratadas com pomada da folha do pequi (*Caryocar brasiliense*). Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - UniRV- Universidade de Rio Verde, Rio Verde, 2019.

MATOS, Í.T.S.R. DE SOUZA, V.A.; D'ANGELO, G.R.; ASTOLFI FILHO, S.; DO CARMO, E.J.; VITAL, M.J.S. Yeasts with Fermentative Potential Associated with Fruits of Camu-Camu (*Myrciaria dubia*, Kunth) from North of Brazilian Amazon. **The Scientific World Journal**, v. 2021, p. 1-6, 2021.

MEDEIROS, M.L.; XAVIER JÚNIOR, F.H.; ARAÚJO-FILHO, I.; RÊGO, A.C.M.; MACIEL, M.A.M. Copaiba Oil for Nano-Pharmaceutics and Drug Delivery. **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology Edited**, v. 27, p. 165–189, 2022.

MINATEL, I.O.; BORGES, C.V.; FERRIERA, M.I.; GOMEZ, H.A.G.; CHEN, C.Y.O.; LIMA, G.P.P. Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability, **Biology Activity**, p. 1-25, 2017. doi.org/10.5772/66368.

MIRANDA-VIELA, A.L.; RESCK, I.S.; GRISOLIA, C.K. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 956-963, 2009.

MIRANDA, P.H.O.; MACIEL, P.M.C.; ALBUQUERQUE, Y.A.P.; SILVA, M.S.S.; AQUINO, R. Perfil químico e atividades biológicas do gênero *Caryocar*: Uma revisão de literatura. **Journal Systems, Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 7, n. 1, p. 131-152, 2019. doi.org/10.5281/zenodo.3566165.

MONTEIRO, S.S.; SILVA, R.R.; SILVA, M.S.C.; BARIN, J.S.; ROSA, C.S. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts of pequi peel (*Caryocar brasiliense* Camb.). **International Food Research Journal**, v. 22, n. 5, p. 1985- 1992, 2015.

MORAIS, L.R.B.; GUTJAHR, E. Química de Oleaginosas: valorização da biodiversidade. Edição do Autor, Belém PA, p. 75, 2012.

MORAIS, M.L.; SILVA, A.C.R.; ARAUJO, C.R.R.; ESTEVES, E.A.; DESSIMONI-PINTO, N.A.V. Determinação do potencial antioxidante in vitro de frutos do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013

MOREIRA-ARAÚJO, R.S.R.; BARROS, N.V.A.; BARROS, R.G.C.L.P.; BRANDÃO, A.C.A.S.; LIMA, A.L.; FETT, R. Bioactive compounds and antioxidant activity fruit species from the Brazilian Cerrado. **Brasileira Fruticultura**, v. 41, n. 3, 2019. doi.org/10.1590/0100-29452019011.

MOREIRA, L.C.; ÁVILA, R.I.; VELOSO, D.F.M.C.; PEDROSA, T.N.; LIMA E. S.; RENÊ O.C.; LIMA, E.M.; BATISTA, A.C.; PAULA, J.R.; VALADARES, M.C. *In vitro* safety and efficacy evaluations of a complex botanical mixture of *Eugenia dysenterica* DC. (Myrtaceae): Prospects for developing a new dermocosmetic product. **Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA**, v. 45, p. 397-408, 2017. doi.10.1016/j.tiv.2017.04.002.

MUNTEANU, I.G. and APETRI, C.; Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **International Journal Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3380, 2021. doi.org/10.3390/ijms22073380.

NAKAYAMA, G.R.; CATON, M.C.; NOVA, M.P.; PARANDOOSH, Z. Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability in vitro. *Journal of immunological methods*, v. 204, n. 2, p. 205-208, 1997.

NASCIMENTO-SILVA, N.R.R.D.; NAVES, M.M.V. Potential of Whole Pequi (*Caryocar* spp.) Fruit-Pulp, Almond, Oil, and Shell-as a Medicinal Food. **Journal of medicinal food**, v. 22, n. 9, p. 952-962, 2019. doi:10.1089/jmf.2018.0149.

NASCIMENTO-SILVA, N.R.R.D.; MENDES, N.S.R.; SILVA, F.A. Nutritional composition and total phenolic compounds content of pequi pulp (*Caryocar brasiliense* Cambess.). **Journal of Bioenergy and Food Science**, v. 07, n. 2, 2020. <https://dx.doi.org/10.18067/jbfs.v7i2.281>.

NAVAJAS-PORRAS, B., PÉREZ-BURILLO, S., MORALES-PÉREZ, J., RUFÍAN-HE-NARES, J. A., & PASTORIZA, S. Relationship of quality parameters, antioxidant capacity and total phenolic content of EVOO with ripening state and olive variety. **Food Chemistry**, v. 325, n. 1, p. 126926-126939, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126926>.

NEELAM, A.K.; & KRISHNA, K.S. Phenylpropanoids and its derivatives: biological activities and its role in food, pharmaceutical and cosmetic industries. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 16, p. 2655-2675, 2019. doi.org/10.1080/10408398.2019.1653822.

OMBREDANE, A.S.; SILVA, L.R.A.; ARAUJO, V.H.S.; COSTA, P.L.; SILVA, L.C.; SAMPAIO, M.C.; LIMA, M.C.F.; VEIGA JUNIOR, V.F.; VIEIRA, I.J.C.; AZEVEDO, R.B. & JOANITTI, G.A. Pequi oil (*Caryocar brasiliense* Cambess.) nanoemulsion alters cell proliferation and damages key organelles in triple-negative breast cancer cells *in vitro*. **Biomedecine & pharmacotherapie**. v. 153, p. 113348, 2022. [tps://doi.org/10.1016/j.bi-oph.2022.113348](https://doi.org/10.1016/j.bi-oph.2022.113348).

ONOFRE, A.S. Ação do Óleo de Pequi (*Caryocar coriaceum*) no processo de cicatrização de lesões cutâneas. In: VI Jornada Acadêmica de Farmácia - Universidade de Brasília, 2019.

OLIVEIRA, T.S.; THOMAZ, D.V.; SILVA, H.F.N.; CERQUEIRA, L.B.; GARCIA, L.F.; GIL, H.P.V.; SOUZA GIL, E. Neuroprotective Effect of *Caryocar brasiliense* Camb. Leaves Is Associated with Anticholinesterase and Antioxidant Properties. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**. p. 1-12, 2018.

OLIVEIRA, E.J., Martins, L.D., DIAS, R.P.M. & TREICHEL, E.L.T. Avaliação macroscópica da cicatrização de feridas de pele tratadas com extrato da folha de pequi (*Caryocar brasiliense*). **Braz. J. of Develop.** v. 6, n. 4, p. 17649-17659, 2020.

OLIVEIRA, E.; BARBARELLA, M.; ALEJANDRO, F.; NASCIMENTO, J.L.M. Formulação tópica contendo base de extrato vegetal de C.V liofilizado, usado com finalidade cicatrizante de lesões teciduais em uso humano e veterinário? Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201900999, título: "Formulação tópica contendo base de extrato vegetal de C.V liofilizado, usado com finalidade cicatrizante de lesões teciduais em uso humano e veterinário?." 2019, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 16/05/2019; Licenciamento: 01/12/2020.

OLIVEIRA, I.P.; LIMA, F.F.; SPADOTI, L.M.; LESCANO, C.H. *Caryocar brasiliense* Camb., *C. villosum* (Aubl.) and *C. coriaceum* Wittm. **Fruits of the Brazilian Cerrado**, p. 53-77, 2021. doi.org/10.1007/978-3-030-6294964.

PAULA-JUNIOR, W.; ROCHA, F.H.; DONATTI, L.D.; FADEL-PICHETH, C.M.T.; WEFORT-SANTOS, A.M. Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, suppl., p. 625-630, 2006.

PAULA-ELIAS, F.C.; SOUZA, I.B.U.; PASSOS, J.P.; PAULA, C.B.C.; VIEIRA-ALMEIDA, E.C.; CONTIERO, J.; ALMEIDA, A.F. Frutos Amazônicos Como Fonte de Aplicações Biotecnológicas, cap. 1, p. 10-20, 2020.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.E VIVIAN, J.S. Introduction to spectroscopy. 4^a ed. Brooks/ Cole, Cengage Learning, 2009.

PEGORIN, G.S.; MARQUES, M.O.M.; MAYER, C.R.M.; SANTOS, L. Development of a Phytocosmetic Enriched with Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess) Oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 63, p. 1678-4324, 2020. doi.org/10.1590/1678-4324-2020190478.

PEIXOTO, H.; ROXO, M.; KOOLEN, H. SILVA F.; SILVA, E.; BRAUN, M.S.; WANG X.; WINK, M. Calycophyllum spruceanum (Benth.), the Amazonian "Tree of Youth" Prolongs Longevity and Enhances Stress Resistance in *Caenorhabditis elegans*. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 534, 2018. doi: 10.3390/molecules23030534.

PEREIRA, T.F.; SOUSA, M.V.S.; LEITE, I.F. Brazilian *Caryocar* from the Brazilian Cerrado to wound treatment - Integrative review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. 29710616404, 2021. doi: 10.33448/rsd-v10i6.16404.

PHAM-HUY L.A; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International journal of biomedical science**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PIANOVSKI, A.R.; VIELA, A.F.G.; SILVA, A.A.S.; LIMA, C.G; SILVA, K.K.; CARVALHO, V.F.M.; MUSIS, C.R.; MACHADO, S.R.P.; FERRARI, M. Uso do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) em emulsões cosméticas: desenvolvimento e avaliação da estabilidade física. **Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 2, 2008.

PINHEIRO, F.A.; OKUMURA, L.L.; SILVA, A.F.S.S.; SILVA, J.G.; FERREIRA, L.R.; BARCLLOS, E.S.; FONTES, E.A.F. Applicability of a Voltammetric Assay Based on the Electroreduction of Oxygen to Evaluate the Antioxidant Capacity of Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) Pulp. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 29, n. 8, p. 1653-1662, 2018. doi.org/10.21577/0103-5053.20180038.

PINHEIRO, A.C.; OMBREDANE, A.S.; PINHEIRO, W.O.; ANDRADE, L.R.; SILVA, V. R.P.; FELICE, G.J.; ALVES, D.S.; ALBERNAZ, A.F.; SILVEIRA, A.P.; LIMA, M.C.F.; VEIGA-JUNIOR, V.F.; GOMES, T.F.S.; DAMASCENO, E.A.M.; VEIGA-SOUZA, F.H.; SOUZA, P.E.N.; BÁO, S.N.; DUARTE, E.C.B.; CARNEIRO, M.L.B.; AZEVEDO, R.B.; FUNEZ, M.I.; JOANITTI, G.A. Evaluation of Biocompatibility, Anti-Inflammatory, and Antinociceptive Activities of Pequi Oil-Based Nanoemulsions *In Vitro* and *In Vivo* Models Nanomaterials, **Basel, Switzerland**, v. 12, n. 23, p. 4260, 2022. <https://doi.org/10.3390/nano12234260>.

PIRES, L.K.S.; GRISOTTO, M.G.; GRISOTTO, R.F. The use of amazon plants in the production of bioproducts for skin treatments. **Investigação Biomédica**, v. 9, n. 1, p. 78-88, 2017.

PIRES, J., CARGNIN, S.T., COSTA, S.A., SINHORIN, V.D.G., DAMAZO, A.S., SINHORIN, A.P., BICUDO, R.C., CAVALHEIRO, L., VALLADÃO, D.M.S., POHLMANN, A.R., GUTERRES, S.S. & FERRARINI, S. R. Healing of dermal wounds property of *Caryocar brasiliense* oil loaded polymeric lipid-core nanocapsules: formulation and in vivo evaluation. **European journal of pharmaceutical sciences**, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105356>.

PRANCE, G.T.; PIRANI, J.R. Caryocaraceae *in* Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB6688>>. Acesso em: 28 jun. 2022.

RAISER, A.L.; LUDWIG, L.; MARCÍLIO, M.; TORRES, M.P.R.; RIBEIRO, E.; ANDRIGHETTI, C.R.; AGOSTINI, J.S.; VALLADAO, D. Stability and potential antioxidant activity essay of pequi oil (*Caryocar brasiliense* camb.) in cosmetic emulsions. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 37, n. 1, p. 144 -151, 2018.

ROCHA, L.B.; MELO, A.M.; PAULA, S.L.A., NOBRE, S.A.M., & ABREU, I.N. Gallic acid as the major antioxidant in pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit peel. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 4, p. 592–598, 2015. https://doi.org/10.1590/1983-084X/14_062.

ROCHA, W.C. & ALXANDRE, A.S. Perfil cromatográfico por TLC do óleo e dos extratos das folhas e caule de andiroba, *Carapa guianensis* Aubl. **Scientia Amazônia**, v. 6, n.2, p. 117-125, 2017.

RODRIGUES, M.C.; ARRUDA, H.S.; RAMOS, J.A.S.C.; ALMEIDA, M.E.F. Utilização das cascas e amêndoas do pequi por moradores do Norte de Minas Gerais. **Agrotecnologia**, v. 9, n. 2, p. 41-48, 2018.

ROESLER, R.; CATHARINO, R.R.; MALTA, L.G.; EBERLIN, M.N.; PASTORE, G. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 711-717, 2008. doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.048.

ROLL, M.M.; MIRANDA-VILELA, A.L.; LONGO, J.P.F.; AGOSTINI-COSTA, T.D.S.; GRISOLIA, C.K. The pequi pulp oil (*Caryocar brasiliense* Camb.) provides protection against aging-related anemia, inflammation and oxidative stress in Swiss mice, especially in females. **Genetics and Molecular Biology**, v. 41, n. 4, p. 858-869, 2018. doi:10.1590/1678-4685-GMB-2017-0218.

ROXO, M.; PEIXOTO, H.; WETTERAUER, P.; LIMA, E.; WINK, M. Piquiá Shells (*Caryocar villosum*): A Fruit by-Product with Antioxidant and Antiaging Properties in *Caenorhabditis elegans*. **Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1-19, 2020. doi.org/10.1155/2020/7590707.

RUFINO, M. do S.M.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S. de; MORAIS, S.M. de; SAMPAIO, C. de G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa**, p. 0-3, 2007.

SÁ, M.T.G. Formulação tópica contendo base de extrato vegetal de C.V liofilizado, usado com finalidade cicatrizante de lesões teciduais em uso humano e veterinário. BR n. BR10201900999. Depósito: 16 maio 2019. Concessão: 01 dez. 2020.

SANTOS, B.O.; AUGUSTI, R.; MELO, J.O.F.; TAKAHASHI, J.A.; ARAÚJO, R.L.B. Optimization of extraction conditions of volatile compounds from pequi peel (*Caryocar brasiliense* Camb.) using HS-SPME. **Agrarian and Biological Sciences**, v. 9, n. 7, p. e919974893, 2020a. doi:10.33448/rsd-v9i7.4893.

SANTOS, L.; IBE, M.B.; FRACASSO, J.A.R.; PARRON, M.C.; MOREIRA, P.P.; Paes J.T.R. Preparação, Uso e Formulações Farmacêuticas Contendo Extrato do Resíduo Agroindustrial Da Polpa De *Caryocar Brasiliense* Camb. 2020b.

Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202002409, título: "Preparação, Uso E Formulações Farmacêuticas Contendo Extrato Do Resíduo Agroindustrial da Polpa de *Caryocar Brasiliense* Camb.", Instituição de registro: INPI-Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 12/02/2020.

SANTOS, L.; PEGORIN, G.S.; MACHADO, A.A.; FUNARI, C.S.; SANTOS, A.G.; RIBEIRO-PAES, JOÃO TADEU. Método De Obtenção De Fitocosmético Em Creme Gel Antioxidante E Fotoprotetor E Formulação De Fitocosmético Em Creme Gel Antioxidante E Fotoprotetora Contendo Extrato De *Caryocar Brasiliense* Camb. - Pequi. 2020c. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10202002309, título: "Método de Obtenção De Fitocosmético Em Creme Gel Antioxidante e Fotoprotetor e Formulação de Fitocosmético Em Creme Gel Antioxidante E Fotoprotetora Contendo Extrato De *Caryocar*

Brasiliense Camb. - PEQUI?.", Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 12/11/2020.

SARETTA, Z.C. & BRADÃO, B.J.F. Beauty in a sustainable way: the use of organic cosmetics. **BWS Journal**, v. 4, p. 1-12, 2021.

SHAH, H.; MAHAJAN, S.R. Photoaging: New insights into its stimulators, complications, biochemical changes and therapeutic interventions. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 3, n. 3, p. 161-169, 2013. doi:10.1016/j.biomag.2013.05.003.

SHANLEY, P.; MEDINA, G.; Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica, Belém: CIFOR, **Imazon**, p. 123-132, 2005.

SILVA, E.C. Desenvolvimento de emulsões cosméticas utilizando o óleo de pequi (*C. brasiliense Camb*). Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo São Paulo, p. 112, 1994.

SILVA, J.B.F.; CLEMENT, C.R. Wild pejibaye (*Bactris gasipaes* Kunth var. *chichagui*) in Southeastern Amazonia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 19, n. 2, p. 281-284, 2005. doi.org/10.1590/S0102-33062005000200010.

SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A. dos S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos naturais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVA, G.C.L. Atividade anti-inflamatória do óleo de pequi (*caryocar coriaceum wittm*) em sistema microemulsionado. Anais I CONBRACIS. Campina Grande: Realize Editora, 2016a.

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

SILVA, F.M.A.; HANNA, A.C.S.; SOUZA, A.A.; et al. Integrative Analysis Based on HPLC-DAD-MS/MS and NMR of *Bertholletia excelsa* Bark Biomass Residues: Determination of Ellagic Acid Derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, n. 4, 2019. doi.org/10.21577/0103-5053.20180215.

SILVA, M.S.; ALVES-SANTOS, A.M.; SANTOS, I.D.; WAGNER, R.; NAVES, M.M.V.; CORDEIRO, M.W.S. A new population of pequi (*Caryocar spp.*) developed by Brazilian indigenous people has agro-industrial and nutraceutical advantages. **European Food Research and Technology**, v. 246, p. 1715-1724, 2020. doi.org/10.1007/s00217-020-03525-9.

SILVA, J.N.B.; GUIMARAES, V.H.D.; MARINHO, B.M.; et al. *Caryocar brasiliense Camb.* fruit peel butanolic fraction induces antiproliferative effects against murine melanoma cell line. **Phytomedicine Plus**, v. 2, n. 2, p. 100273, 2022.

SILVEIRA, A.C.; KASSUIA, Y.S.; DOMAHOVSKI, R.C.; LAZZAROTTO, M. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos

da erva-mate de forma rápida e reprodutível. ISSN 1980-3982. **EMBRAPA**, Colombo, PR, 2018.

SOARES, N.R. Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Caracterização Físico-Química de Sabonete Líquido à Base de Óleo de Baru, Buriti e Pequi. 2014. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação Em Ciência e Tecnologia De Alimentos.

SOARES, L.G. Avaliação Farmacológica das Atividades Antioxidante, Antinociceptiva e Anti-inflamatória de Extratos de *Caryocar Villosum* em Ensaios *In Vitro* e *In Vivo*. Dissertação de Mestrado Programa de Pós-Graduação Em Ciências Farmacêuticas. 2018.

SOUZA, V.F.S.; OLIVEIRA, T.C.S.; ANDRADE, I.M. Scientific and technological prospection of *Caryocar coriaceum* Wittm. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, 2021. doi.org/10.33448/rsd-v10i14.22123.

SUN, J.; LIANG, F.; BIN, Y.; LI, P.; DUAN, C. Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. **Molecules**, v. 12, n. 3, p. 679-693, 2007. doi:10.3390/12030679.

TORRES, M.P.R.; RAISER, A.L.; MARCÍLIO, M.R.; RIBEIRO, E.B.; ANDRIGHETTI, C.R.; VALLADÃO, D.M.S. Development, Stability and Antioxidant Activity of Microemulsion Containing Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) Oil. **Rev. Virtual Quim**, v. 10, n. 2, p. 346-361, 2018a.

TORRES, L.R.; SANTANA, F.C.; SHINAGAWA, F.B.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and functional potential of pequi (*Caryocar* spp.), a native Brazilian fruit: a review. **Grasasaceites**, v. 69, n. 2, 2018b. <https://doi.org/10.3989/gya.1222172>.

TOSTES, L.C.L.; LINS, A.L.F.A.; SANTOS, A.H.O.; GUIMARÃES, J.R.S.; FERREIRA, A. M.S. D.; DIAS, M.R.L. Anatomical aspects and phytochemical potential of *Caryocar villosum* (aubl.) pers. (pequiá). **Brasilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 25807-25829, 2019.

TRAESEL, G.K.; ARAÚJO, F.H.S.; CASTRO, L.H.A.; LIMA, F.F.; MENEGATI, S.E.L.T.; JUSTI, P.N.; OESTERREICH, S.A. Safety assessment of oil from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): evaluation of the potential genotoxic and clastogenic effects. **Journal of medicinal food**, v. 20, n. 8, p. 804-811, 2017.

VEIGA-JUNIOR, V.F.; ARAÚJO-FILHO, I.; RÊGO, A.C.M; Copaiba Oil for Nano-Pharmaceutics and Drug Delivery. **Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 27, p. 165–189, 2022.

VEIGA-JUNIOR, V.F.; YAMAGUCHI, K.K.L. Unsustainable Development and Molecular Agriculture in Bioactive Production – O “Des-Envolvimento” Insustentável e Agricultura Molecular na produção de bioativos. **Fitos**, p. 206-211, 2022. doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1322.

VIROLI, S.L.M.; RODRIGUES, F.M.; VIROLI, S.G.; CARVALHO, N.P.; OLIVEIRA, T.T.; OLIVEIRA, A.C.; OLIVEIRA, J.V.; RIBEIRO, M.L.; FEITOSA, K.P.; RIBEIRO, C.; OLIVEIRA, A.B.; COSTA, F.A. Extração e caracterização do óleo da polpa de pequi

(*Caryocar brasiliense*) produzida manualmente no loteamento Piauzinho do Município de Pium - TO. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. e49911427711, 2022. doi: 10.33448/rsd-v11i4.27711.

Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/27711>. Acesso em: 4 jun. 2023

WAGNER, H.; BLADT, S. Plant drugs analysis: a thin layer chromatography atlas. 2ª edição. Springer: 1996.

WOLOSIAK, R.; DRUŻYŃSKA, B.; DEREWIAKA, D.; PIECYK, M.; MAJEWSKA, E.; CIECIERSKA, M.; WOROBIEJ, E.; PAKOSZ, P. Verification of the Conditions for Determination of Antioxidant Activity by ABTS and DPPH Assays A Practical Approach. **Molecules**, v. 27, n. 1, 2021. doi.org/10.3390/molecules27010050.

XAVIER, W.K. S; MEDEIROS, B.J.; LIMA, C.S.; FAVACHO, H.A.; ANDRADE, E.H.A. et al. Topical anti-inflammatory action of *Caryocar villosum* oil (Aubl) Pers. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 1, n. 3, p. 62–67, 2011.

YAMAGUCHI, K.K.L; SANTARÉM, L.S.; LAMARÃO, C.V.; LIMA, E.S.; VEIGA-JUNIOR, V.F. Química e Farmacologia do Bacuri (*Platonia insignis*). **Scientia Scientia Amazonica**, v. 3, n. 2, p. 39-46, 2014.

YAMAGUCHI, K.K.L. Caracterização de Substâncias Fenólicas de Resíduos de Frutos Amazônicos e avaliação para o uso biotecnológico. Tese de Doutorado em Química Orgânica pela Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2015.

YAMAGUCHI, K.K.L; SANTARÉM, L.S.; LAMARÃO, C.V.; LIMA, E.S.; VEIGA-JUNIOR, V.F. Avaliação *in vitro* da Atividade Fotoprotetora de Resíduos de Frutas Amazônicas. **Scientia Amazonia**, v. 5, n. 1, p. 109-116, 2016.

YAMAGUCHI, K.K.L.; LAMARÃO, C.V.; ARANHA, E.S.; SOUZA, R.O.S.; OLIVEIRA, P.D.A.; VASCONCELLOS, M.C.; VEIGA-JUNIOR, V.F. HPLC-DAD profile of phenolic compounds, cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of the amazon fruit *Caryocar villosum*. **Química Nova**, v. 40, n. 5, p. 483-490, 2017.

YAMAGUCHI, K.K.L.; SOUZA, A.O. Antioxidant, Hypoglycemic and Neuroprotective Activities of Extracts from Fruits Native to the Amazon Region: A Review. **Biotechnology Journal International**, v. 24, n. 6, p. 9-31, 2020. doi:10.9734/BJI/2020/v24i630119.

YAMAGUCHI, K.K.L.; SOUZA, E.S. Uso de piquiá (*Caryocar villosum*) como fonte de produtos biotecnológicos Piquiá fruit (*Caryocar villosum*) as biotechnological products. **Ensino Saúde Biotecnologia da Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 18-27, 2021.

ZHANG, X.; LI, X.; SU, M.; DU, J.; ZHOU, H.; LI, X.; & YE, Z. A comparative UPLC-QTOF/MS-based metabolomics approach for distinguishing peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) fruit cultivars with varying antioxidant activity. **Food Research International**, v. 137, n. 1, p. 109531-109543, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109531>.

ANEXOS

ANEXO 1 – Artigo de revisão sobre a química e biologia do piquiá

CHEMISTRY AND BIOLOGY OF PIQUIÁ: REVIEW

Diana França de Souza¹, Cristiana Nunes Rodrigues¹, Pâmella Buenos Aires Domingues², Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi¹, Valdir Florêncio da Velga Júnior¹, Fábio Alessandro Pleri²

Diana França de Souza¹, dianafsouza11@gmail.com ORCID 0000-0002-7478-1298
Cristiana Nunes Rodrigues¹, cristiananunes.18@gmail.com ORCID 0000-0001-6874-8021

Pâmella Buenos Aires Domingues², pamellabuenosaires@hotmail.com ORCID 0000-0002-9330-0816

Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi¹, klenicy@yahoo.com.br ORCID 0000-0001-7998-410X

Valdir Florêncio da Velga Júnior¹, valdir.velga@gmail.com ORCID 0000-0003-1365-7602,

Fábio Alessandro Pleri², fabio.pleri@ufff.br ORCID 0000-0002-2467-0039

¹Federal University of Amazonas, Estrada Coari, 69460-000, Coari, Brazil

²Federal University of Juiz de Fora, Avenida Moacir Paleta, 35020-360, Governador Valadares, Brazil

³Military Institute of Engineering, Square Gen. Tiburcio, 22290-270, Rio de Janeiro, Brazil

*Corresponding author: pamellabuenosaires@hotmail.com

SUMMARY

The Amazon biome is rich in plant species that have essential physicochemical, nutritional, and pharmacological properties that guarantee health benefits. The genus *Caryocar* spp. stands out for having native exotic fruits, including *C. vilosum*, *C. brasiliense*, and *C. coriaceum*. These are the most studied species, with a nutritional source and rich in fatty acids, mainly oleic and palmitic acids, and phenolic compounds. Therefore, the objective of this review is to present the reported chemical properties and biological activities of fruits of the most common species of the genus *Caryocar* in Brazil. The main chemical compounds found in *Caryocar* species are phenolic, among them gallic acid, ellagic acid, and HDP-Glucose; and carotenoids as antheraxanthin and zeaxanthin. This rich composition of the fruits shows important biological activities such as anti-inflammatory, antioxidant, and