



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

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E BOTÂNICA DO PEPINO  
DO MATO (*Ambelania acida* Aubl.)

GEZIANE DA SILVA GOMES

COARI-AM

2023



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

GEZIANE DA SILVA GOMES

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E BOTÂNICA DO PEPINO  
DO MATO (*Ambelania acida* Aubl.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, na linha de pesquisa de Química dos Produtos Naturais e Biomoléculas.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior  
CO-ORIENTADORA: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Klenicy K. de Lima Yamaguchi

COARI-AM  
2023

## Ficha Catalográfica

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

G633c Gomes, Geziane da Silva  
Caracterização física, química e botânica do pepino do mato  
(*Ambelania acida* Aubl.) / Geziane da Silva Gomes . 2023  
82 f.: il. color; 31 cm.

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

1. *Ambelania* . 2. *acida*. 3. mucilagem. 4. laticífera. I. Veiga Junior,  
Valdir Florêncio da. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

GEZIANE DA SILVA GOMES

CARACTERIZAÇÃO FÍSICA, QUÍMICA E BOTÂNICA DO PEPINO  
DO MATO (*Ambelania acida* Aubl.)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia, na linha de pesquisa de Química dos Produtos Naturais e Biomoléculas.

Aprovado em: 21/06/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior – Presidente

Instituto Militar de Engenharia – IME

Prof. Dr. Luiz Antônio de Oliveira – Membro

Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia – IMPA

Prof. Dr. Fernando Albuquerque Luz – Membro

Instituto de Saúde e Biotecnologia – ISB-UFAM

*Dedico esta dissertação a minha amada mãe, que nunca mediu esforços para que seus filhos pudessem estudar. Ela que em nome disso, abdicou da própria juventude para trabalhar pesado e custear nossos estudos. Mãe sempre presente, apoiando e incentivando cada um de seus filhos.*

## AGRADECIMENTOS

Um mestrado é muito importante, não só para o crescimento profissional, mas também como ser humano, pois, nossa capacidade é colocada à prova de várias maneiras. E a cada passo dado rumo à conclusão, há uma história de superação, com vários envolvidos que merecem o devido reconhecimento e na tentativa de expressar sua importância nessa jornada, eis meus agradecimentos:

À Deus pela força e determinação, pois nos momentos mais difíceis, que muitas vezes pensei que não seria mais possível levantar, Ele não só me ergueu como me carregou em seus braços de amor, e, mesmo com tantas dificuldades, tantos percalços que pareciam me forçar a desistir Ele não permitiu que isso acontecesse e pôs pessoas em meu caminho que me apoiaram e direta ou indiretamente contribuíram para que essa pesquisa fosse realizada, sozinha eu jamais teria conseguido, GRATIDÃO SENHOR!

À minha família, que é o alicerce fundamental no decorrer dessa caminhada, aos meus pais e em especial, a minha querida mãe Geralda Gomes, pois lá no passado ela decidiu mudar a realidade de seus filhos juntando todas as suas forças para lutar contra o preconceito, o machismo e a miséria em que vivia. Mãe, obrigada por ser base da minha educação, caráter e amor. Sem tua coragem e determinação o que seria de mim?

Às minhas filhas **Emillianny Gomes Cunha, Izabelly Gomes Rodrigues e Liliane Gomes Rodrigues**, que são os amores da minha vida. Filhas que muitas vezes trocaram de papel comigo e cuidaram de mim com muito carinho. Muito obrigada minhas filhas, minha força vem de vocês.

Aos meus queridos irmãos, Nara, Jander, Geidson e Juciel pelo apoio. E em especial a Jô, Jocemir e Neida Gomes, que sempre estiveram presentes, que cuidaram das minhas filhas quando estive ausente, que sempre me deram força para continuar seguindo em frente e compartilhando os mais diversos momentos durante esse mestrado. Não esquecendo de mencionar as cunhadas e cunhados.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas que sempre fazem minha alegria por estarem presentes. Porém, quero agradecer imensamente ao Gustavo Eduardo pela parceria e apoio em todos os momentos.

Ao meu querido amigo Regilson Silva, que me deu abrigo em Manaus quando já não tinha mais recursos. Ele, que sempre me ajudou diretamente de todas as formas, nos momentos mais difíceis.

Aos meus orientadores: Prof. Dr. Valdir Florêncio da Veiga Junior pelos incentivos, paciência e por sempre acreditar em mim e muitas vezes mais que eu mesma, pois, nos momentos que eu pensei que não iria conseguir ele me fez ver, do seu jeito, que “limite não existe para mim” e não permitir com que eu desistisse. À Dra. Klenicy Yamaguchi pela atenção e apoio nesse longo período de mestrado. Aos dois toda minha gratidão por todos os conhecimentos, saibam que foram fundamentais para o meu crescimento pessoal, vocês foram incríveis.

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. Agradeço pelo apoio e suporte que me deu no dia em que cheguei a Manaus, sozinha e sem saber como dar o próximo passo. Obrigada pelos conhecimentos transmitidos que jamais serão esquecidos, sua humildade e simplicidade são qualidades marcantes. Você é admirável.

Às doutorandas em Química pelo PPGQ, que tive a honra de conhecer no Q-BIOMA Isadora Moita e Sarah Flores, pelo companheirismo e ensinamentos que foram enriquecedores durante a realização da pesquisa no Q-bioma, vocês foram fundamentais nesse processo, guardarei para sempre no meu coração e terei um sorriso ao lembrar dos nossos momentos do cafezinho e do bolinho delicioso.

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 das amostras. Sem essa parceria haveria um grande atraso na pesquisa.

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

Aos professores: Dra. Carolina Arruda e Dr. Luiz Antonio, Dra. Kemilla Sarmento Rabelo agradeço por terem aceitado o convite, na banca no exame de qualificação, suas contribuições foram bastante valiosas e fundamentais nesse trabalho.

Ao meu grupo de pesquisa ABC do Instituto militar de Engenharia/IME/RJ, pela amizade e companheirismo especialmente a doutoranda em química Yasmim Cunha e a Dra. Ananda Antônio do LADETEC, pelo apoio e parceria na realização das análises químicas. Aos demais colegas: Suzane Leão, Suyane, Ian Gael, Fernanda, Ana Thainá, Esther, Raissa, Clícia e Josiane suas sugestões, incentivo e apoio durante esses dois anos foram enriquecedores.

Aos meus colegas mestrandos por todo apoio e incentivo Marcia Pinheiro da Silva, Cristiana Rodrigues, Diana, Urlania Alves e Lucas, minha eterna gratidão a vocês que não mediram esforços, obrigada pela parceria que tivemos durante esse período.

Em nome de Maria Tatiana e Lane Martins, agradeço aos colegas professores da Escola Maria Almeida do Nascimento que direta ou indiretamente me ajudaram nesse período. E principalmente, ao meu querido gestor e amigo Hugo Rajam por tentar me ajudar de todas as maneiras possíveis. Gratidão por todo apoio e incentivo.

*“Obstáculo é aquilo que você enxerga quando tira os olhos do seu objetivo”.*

*Henry Ford*



## RESUMO

A *Ambelania acida* Aubl., conhecida na região do Amazonas como pepino do mato, pertence à família Apocynacea. São plantas lactescentes que apresentam componentes importantes em sua mucilagem, possuem substâncias químicas constituídas por extensas cadeias de açúcares, que ao se juntarem em grupos, formam os polímeros. Essa mucilagem é viscosa e extremamente pegajosa. O pepino do mato é utilizado pelos amazonenses como alimento e, na medicina popular é usado no tratamento de inflamações externas, fungicidas, cicatrizantes ou até mesmo como laxante. Verificou-se que as informações sobre a composição química da fruta são bastante reduzidas, dificultando a possibilidade de corroborar as propriedades medicinais dessa espécie, fazendo com que o mesmo seja desvalorizado por falta desse conhecimento e corra o risco de ter uma redução no número de espécies devido as queimadas e desmatamentos por falta de proteção. Desta forma, através dessa pesquisa realizou-se o estudo dos extratos aquoso e hidroalcoólico da mucilagem da polpa do pepino do mato, visando a caracterização da composição química presentes na mesma, determinar a composição de fenóis totais, avaliar a capacidade antioxidante da polpa do fruto por diferentes métodos como: sequestro de radicais livres (ensaio com DPPH.), método de redução de ferro (FRAP), capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) e pelo método de captura do radical por reação química (ABTS). Os frutos para produção dos extratos foram obtidas na cidade de Coari-Am, sendo que, para as extrações foram utilizadas água e etanol:água, na proporção 8:2. A análise desses extratos, revelou a presença de substâncias importantes em sua composição e um potencial antioxidante considerável, bem como a composição fenólica. Quanto aos fenóis totais do extrato aquoso, os resultados expressos em TPC (mg EAG/ g  $\pm$  dp) foram de  $72,64 \pm 3,32$ , enquanto do extrato hidroalcoólico foram de  $164,59 \pm 9,63$ . No que diz respeito ao potencial antioxidante os resultados em todos os métodos utilizados demonstraram um número satisfatório, sendo maior que o de algumas frutas tropicais. Pelo método de FRAP, o resultado do extrato aquoso foi de  $0,483 \pm 0,003$  expresso em  $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g} \pm \text{dp}$ . No ORAC o resultado foi de  $110,86 \pm 70,31 \mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ , no método DPPH obteve-se  $674,17 \pm 7,64 \mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ , e no ABTS o resultado foi de  $2880,00 \pm 216,53 \mu\text{M Trolox/g} \pm \text{dp}$ . Os resultados do extrato hidroalcoólico de *Ambelania acida* o TPC detectado foi de  $164,59 \pm 9,63$ , mg EAG/ g  $\pm$  dp considerado relevante, principalmente se comparado a outras frutas tropicais. A ação antioxidante também apresentou bons resultados nas análises do extrato hidroalcoólico. No método FRAP ( $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g} \pm \text{dp}$ ) o resultado foi de  $0,733 \pm 0,011$ , ORAC ( $\mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ ) foi  $123,52 \pm 70,02$ . No método DPPH ( $\mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ ) o resultado foi de  $1221,76 \pm 71,92$  e o ABTS ( $\mu\text{M Trolox/g} \pm \text{dp}$ ) foi de  $3460,00 \pm 385,75$ . Substâncias importantes foram detectadas nas análises de HPLC, como Ácido gálico, Ácido cítrico, Catequina, Ácido elágico, Ácido clorogênico, Sucrose, entre outras. Desta forma, enfatizamos que novos estudos dessa espécie poderão ser realizados e novas substâncias com potencial biotecnológico poderão ser reveladas.

**Palavras-chave:** *Ambelania acida*; mucilagem; laticífera.

## ABSTRACTS

*Ambelania acida* Aubl., known in the Amazon region as pepino do mato, belongs to the Apocynacea family. They are lactescent plants that have important components in their mucilage, they have chemical substances constituted by extensive chains of sugars, which, when joined in groups, form polymers. This mucilage is slimy and extremely sticky. The bush cucumber is used by the Amazonians as food and, in folk medicine, it is used to treat external inflammations, fungicides, wound healing or even as a laxative. It was found that information on the chemical composition of the fruit is very limited, making it difficult to corroborate the medicinal properties of this species, causing it to be devalued due to lack of this knowledge and run the risk of having a reduction in the number of species due to fires and deforestation due to lack of protection. In this way, through this research, the study of the aqueous and hydroalcoholic extracts of the mucilage of the cucumber pulp was carried out, aiming at the characterization of the chemical composition present in the same, to determine the composition of total phenols, to evaluate the antioxidant capacity of the fruit pulp by different methods such as: free radical scavenging (assay with DPPH.), iron reduction method (FRAP), oxygen radical absorption capacity (ORAC) and the method of radical capture by chemical reaction (ABTS). The fruits for the production of extracts were obtained in the city of Coari-Am, and for the extractions, water and ethanol:water were used, in the proportion 8:2. The analysis of these extracts revealed the presence of important substances in their composition and a considerable antioxidant potential, as well as the phenolic composition. As for total phenols in the aqueous extract, the results expressed in TPC (mg EAG/g  $\pm$  dp) were  $72.64 \pm 3.32$ , while for the hydroalcoholic extract they were  $164.59 \pm 9.63$ . With regard to the antioxidant potential, the results in all methods used showed a satisfactory number, being greater than that of some tropical fruits. By the FRAP method, the result of the aqueous extract was  $0.483 \pm 0.003$  expressed in  $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g} \pm \text{dp}$ . In the ORAC the result was  $110.86 \pm 70.31 \mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ , in the DPPH method it was obtained  $674.17 \pm 7.64 \mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ , and in the ABTS the result was  $2880.00 \pm 216.53 \mu\text{M Trolox/g} \pm \text{sd}$ . The results of the hydroalcoholic extract of *Ambelania acida* the TPC detected was  $164.59 \pm 9.63$ , mg EAG/ g  $\pm$  dp considered relevant, especially when compared to other tropical fruits. The antioxidant action also showed good results in the analyzes of the hydroalcoholic extract. In the FRAP method ( $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g} \pm \text{dp}$ ) the result was  $0.733 \pm 0.011$ , ORAC ( $\mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ ) was  $123.52 \pm 70.02$ . In the DPPH method ( $\mu\text{mol Trolox/g} \pm \text{dp}$ ) the result was  $1221.76 \pm 71.92$  and the ABTS ( $\mu\text{M Trolox/g} \pm \text{dp}$ ) was  $3460.00 \pm 385.75$ . Important substances were detected in the HPLC analyses, such as Gallic acid, Citric acid, Catechin, Ellagic acid, Catechin, Ellagic acid, Chlorogenic acid, Sucrose, among others. In this way, we emphasize that new studies of this species can be carried out and new substances with biotechnological potential can be revealed.

**Keywords:** *Ambelania acid*; mucilage; dairy.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Ocorrências da espécie <i>Ambelania acida</i> Aubl no Brasil.....	18
Figura 02 – Ocorrências da espécie <i>Ambelania acida</i> Aubl na América do Sul.....	19
Figura 03: Localização do ponto de coleta dos frutos.....	31
Figura 04– Pepineiro. A) Coleta do pepino do mato. B) Processo de pesagem individual dos frutos. C) Medição dos frutos.....	31
Figura 05 – Escolha do solvente extrator. A) Descasque do pepino do mato. B) Separação das sementes. C) Processamento da polpa. D) .....	34
Figura 06 – Maceração. A) Filtração do extrato aquoso. B) Extrato aquoso. C) Maceração hidroalcoólica. D. Rotaevaporação do extrato hidroalcoólico. E. Liofilização do extrato hidroalcoólico F) .....	35
Figura 07 – Precipitação do extrato hidroalcoólico.....	36
Figura 08 – Fruto pepino do mato.....	42
Figura 09 – Partes da <i>Ambelania acida</i> Aubl.....	43
Figura 10 – Sementes pepino-do-mato. A) Disposição dos locos, B). Medição da semente. C) .....	44
Figura 11 – Surgimento da Radícula.....	45
Figura 12 – Árvore de pepino-do-mato. A) Folhas do pepino-do-mato. B) Caule do pepino-do-mato. C). Flor do pepino-do-mato. D) .....	46
Figura 13 – Medidas físicas do pepino-do-mato.....	47
Figura 14 Flor e fruto do pepino-do-mato.....	47
Figura 15 – Frações da polpa do fruto <i>Ambelania acida</i> em meio hidroalcoólico A), Frações solúveis e insolúveis da polpa do fruto em meio aquoso B).....	48
Figura 16 – Extrato hidroalcoólico filtrado A). Extrato aquoso filtrado B).....	49
Figura 17 – Coagulação do extrato hidroalcoólico filtrado B).....	50
Figura 18 – Mucilagem obtida após a liofilização A). Derretimento B).....	51
Figura 19: Mucilagem de EAA liofilizada A). Início do derretimento B).....	51

Figura 20 : Cromatograma da amostra do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> .....	56
Figura 21 – Espectro de massas full scan do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> no modo negativo de ionização.....	57
Figura 22 – Cromatograma da amostra do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> .....	57
Figura 23 – Espectro de massas full scan do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> no modo negativo de ionização.....	58
Figura 24 – Estrutura do ácido gálico.....	59
Figura 25 – Espectro de massa do íon 169 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> .....	60
Figura 26 – Espectro de massa do íon 169 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> .....	60
Figura 27 – Estrutura do ácido cítrico.....	61
Figura 28 – Espectro de massa do íon 191 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> .....	62
Figura 29 – Espectro de massa do íon 191 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> .....	62
Figura 30 – Estrutura da catequina.....	63
Figura 31 – Espectro de massa do íon 289 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> .....	64
Figura 32 – Estrutura do ácido elágico.....	65
Figura 33 – Espectro de massa do íon 301 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> .....	65
Figura 34 – Espectro de massa do íon 301 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> (espectro com zoom).....	65
Figura 35 – Espectro de massa do íon 301 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> .....	66
Figura 36 – Espectro de massa do íon 301 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> (espectro com zoom).....	66
Figura 37 – Estrutura do ácido clorogênico.....	67
Figura 38 – Espectro de massa do íon 353 <i>m/z</i> modo negativo de ionização do extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> .....	68

Figura 39 – Espectro de massa do íon 353 $m/z$ modo negativo de ionização do extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> .....	68
Figura 40 – Estrutura da sucrose.....	69
Figura 41 – Espectro de massa do íon 387 $m/z$ modo negativo (com zoom) .....	70
Figura 42– Espectro de massa do íon 387 $m/z$ modo negativo (com zoom) .....	70

## LISTA DE QUADROS

Quadro 01 - Classificação taxonômica do pepino do mato .....	19
Quadro 02 - Informações relevantes sobre o pepino do mato.....	20
Quadro 03 - Principais polossacarídeos utilizados na indústria.....	26
Quadro 04 - Solventes usados na diluição para análise de HPLC.....	39
Quadro 05 - Código das amostras para análise de HPLC.....	56

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01- Dados da análise de HPLC.....	39
Tabela 02 - Gradiente utilizado na análise das amostras de pepino do mato.....	40
Tabela 03 - Rendimento da mucilagem obtida de extrato hidroalcoólico e extrato aquoso da polpa do pepino do mato .....	49
Tabela 04 - Resultados das análises de TPC, FRAP, ORAC, DPPH ABTS.....	52
Tabela 05 - Comparação de TPC algumas frutas tropicais.....	53
Tabela 06 - Comparação dos resultados de ORAC e DPPH do pepino do mato com algumas frutas tropicais.....	55
Tabela 07 - Íons detectados no extrato etanólico de Ambelania acida no modo negativo de ionização.....	58
Tabela 08 - Íons detectados no extrato aquoso de Ambelania acidam no modo negativo de ionização.....	59

## LISTA DE SIGLAS

Abs - Absorbância

ABTS – Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox

ANOVA – Análise de variância multivariada

VOCs Compostos orgânicos voláteis

DPPH – Determinação da Atividade Antioxidante, 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EAA – Extrato aquoso de *Ambelania*

EHA – Extrato hidroalcoólico de *Ambelania*

EM - Espectrometria de massas

EtOH - Etanol

FRAP- Potência Antioxidante Redutora Férrica

HPLC – A cromatografia Líquida de Alta Eficiência

LADETEC – Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico

IFAM – Instituto Federal do Amazonas

IME – Instituto Militar de Engenharia

ISB – Instituto de saúde e biotecnologia

MeOH - Metanol

MF - Maceração a frio

ORAC - Capacidade de absorvância de radical de oxigênio

Q-Bioma - Laboratório de Química de biomoléculas do Amazonas.

SISGEN – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

TPC – Composto Fenólicos Totais

UFAM – Universidade Federal do Amazonas

UFRJ – Universidade Federal do Rio de Janeiro



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 PLANTAS LATICÍFERAS.....	16
3.3 FAMÍLIA APOCYNACEA.....	17
3.3 GENERO AMBELANIA AUBL.....	17
3.4 <i>AMBELANIA ACIDA</i> AUBL.....	18
3.5 BIOPOLÍMEROS .....	21
3. 6 MUCILAGEM.....	22
3. 6.1 PROPRIEDADES HIDROCOLÓIDES DA MUCILAGEM .....	24
3. 6. POLISSACARÍDEOS DA MUCILAGEM.....	24
3.7 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA .....	27
3.7.1 ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	27
4. METODOLOGIAS.....	29
4.1 DELIEAMENTO EXPERIMENTAL.....	29
4.2 LOCAL DA PESQUISA .....	30
4.3 OBTENÇÃO E PREPARO DA MATÉRIA PRIMA .....	30
4.4 MEDIDAS FÍSICAS.....	32
4.5 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA.....	32
4.6 MATEERIAL VEGETAL E EXTRAÇÃO .....	33
4.6.1 SELEÇÃO DO SOLVENTE.....	33
4.6.2 EXTRAÇÕES.....	34
4.6.2.1 EXTRATO AQUOSO.....	34

4.6.2.2 EXTRATO HIDROALCOOLICO.....	35
4.7 ANÁLISES QUÍMICAS.....	36
4.7.1 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS.....	36
4.7.2 FRAP.....	36
4.7.3 DPPH.....	37
4.7.4 ORAC.....	37
4.7.5 ABTS.....	38
4.7.6 ANÁLISE RSTÁTICA.....	38
4.7.7 HPLC E ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	38
5. RESULTADOS E DISCURSÕES.....	41
5.1 CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA.....	42
5.1.1 O FRUTO.....	42
5.1.2 A ÁRVORE.....	45
5.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS.....	46
5.2.1 MEDIDAS FÍSICAS DO FRUTO.....	46
5.2.2 MEDIDAS FÍSICAS DA ÁRVORE.....	47
5.3 EXTRATOS.....	48
5.3.1 RENDIMENTO DAS EXTRAÇÕES.....	48
5.3.2 ASPECTO DOS EXTRATOS.....	50
5.4 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS.....	52
5.4.1 ANÁLISES DE TPC, FRAP, ORAC, DPPH e ABTS.....	52
5.4.2 ANÁLISE DE HPLC-MS.....	55
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72
7. REFERÊNCIAS.....	73

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um potencial imensurável no que diz respeito a biodiversidade. É onde encontra-se a maior parte da floresta amazônica. E podemos destacar que grande parte dessa riqueza biológica do Brasil está no Amazonas, porém, esse estado está bem longe de conhecer todas as espécies da flora local e suas características promissoras para a biotecnologia. Isso se deve a alguns fatores como a própria geografia amazônica que dificulta os acessos aos locais de pesquisas, os recursos financeiros que ainda são insuficientes e até mesmo a burocracia para a liberação de alguns tipos de pesquisas. Tendo isso em vista, se faz necessário investimento em pesquisas com o objetivo de conhecer mais espécies da flora brasileira e suas potencialidades, bem como assegurar a proteção a biodiversidade através de patenteamento nacional (KLINK & MACHADO, 2005; MARIZ et al., 2010).

Diversas espécies da Amazônia já foram pesquisadas e seu potencial biotecnológico revelados, no entanto, ainda há inúmeras que ainda não foram estudadas e por isso, possuem pouco ou nenhum conhecimento sobre sua composição química. A ausência de informações científicas amplamente divulgadas, fazem com que essas espécies sejam conhecidas somente por nomes populares. Entre essas espécies nativas da Amazônia está a ***Ambelania acida* Aubl.**, conhecida na região amazonense como pepino do mato, pertence à família Apocynacea, o pepineiro é uma planta silvestre, lactescente, porte médio, podendo alcançar até 10 metros de altura (FAO, 1986; GREINAND et al., 2009). Esta espécie é muito resistente a climas variados, cada planta apresenta um número abundante de frutos em diferentes estágios de maturação.

Estudos apontam que as plantas lactescentes têm apresentado elementos importantes em sua composição. E que as mucilagens são fluidos presentes em várias partes das plantas e apresentam substâncias químicas constituídas por extensas cadeias de açúcares que, após se juntarem em grupos formam os polímeros. Nessas substâncias são consideradas a presença de pectinas e ácidos orgânicos na mucilagem (MISAKI et al., 1972; COLACASIA, 2008). Isso tem despertado interesse dos pesquisadores, visto que, as mesmas apresentam potencial biotecnológico com destaque entre os fármacos, na indústria dos cosméticos e medicina, entre outros.

Quanto às informações referentes ao pepino do mato, podemos afirmar que são pouco encontradas na literatura, sendo que são observados apenas alguns estudos relacionados a caracterização botânica e sobre o ótimo aproveitamento da espécie em projetos de reflorestamento.

Há também estudos fitoquímicos de suas folhas destacando a presença de resinas e compostos de metabólitos secundários como açúcares redutores, alcaloides, esteroides, resinas, fenóis, taninos e triterpenóides. (OLIVEIRA, 2016).

Desta forma, a avaliação da composição química dos frutos de pepino do mato permite a definição de novas possibilidades e aplicações biotecnológicas de tal espécie. E a publicação desse potencial biotecnológico é muito importante. Publicar resultados de estudos de espécies existentes na região e conhecer vem a ser de grande valia em pesquisa futuras (TURRA et al., 2007) seja na área farmacológica, alimentícia ou na indústria de cosméticos, já que, sua composição evidencia atividades importantes, sejam elas biológicas ou químicas.

Desta forma podemos destacar que ao estudar espécies que apresentam poucas informações sobre sua composição contribuimos diretamente para a ampliação do conhecimento sobre a biodiversidade brasileira, visto que ainda possui um vasto número de espécies desconhecidas. Apresentamos então, um estudo dos extratos aquoso e hidroalcoólico da polpa do pepino do mato, visando a caracterização da composição de substâncias presentes na mesma, bem como a caracterização física e botânica dessa espécie.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

- ✓ Determinar as características físicas, químicas e botânicas do pepino do mato (*Ambelania acida* Aubl).

### **2.2 Objetivos Específicos:**

- ✓ Determinar a composição de fenóis totais (TPC) da polpa do fruto;
- ✓ Avaliar a capacidade antioxidante da polpa do fruto por diferentes métodos como sequestro de radicais livres (ensaio com DPPH.), método de redução de ferro (FRAP), capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) e pelo método de captura do radical por reação química (ABTS);
- ✓ Caracterizar a composição química dos extratos do pepino do mato por métodos espectrométricos e cromatografia líquida de alta eficiência.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Plantas laticíferas

Plantas laticíferas são aquelas que possuem células ou agrupamentos de células capazes produzir uma secreção pegajosa em seu organismo. Apresentando uma ampla distribuição entre as angiospermas, com grande potencial farmacológico, na área dos cosméticos, na produção de resina, de borracha e fungicidas. Incluímos também, uso na medicina popular, no tratamento de inflamações, cicatrização, procedimentos laxativos, e outros. Os laticíferos podem ser classificados como ramificados e não ramificados (FAHN 1979; EVERT 2006). Essas estruturas são responsáveis pela síntese, pelo acúmulo e/ou eliminação de substâncias (FAHN 1979; CASTRO et al., 2009).

As substâncias secretadas são comumente formadas por diferentes compostos químicos, o que irá definir alguns de seus aspectos físicos como a cor, a viscosidade e espessura. Sendo que a caracterização dessas estruturas ocorre de acordo com seus padrões de desenvolvimento ou através da análise de suas características morfológicas. As células podem apresentar um leite branco, amarelo ou alaranjado. (PICKARD, 2008; 1993; HAGEL et al., 2008), as secreções podem ser compostas por mucilagens e conter terpenos. São associadas a defesa e manutenção dos tecidos e dos órgãos das plantas, principalmente no início do desenvolvimento (FAHN 1979; 1990). Normalmente há presença de íons excedentes (sais); assimilados excedentes (açúcares); metabólitos secundários como os alcalóides, os taninos, flavonóides, ácidos fenólicos óleos essenciais, resinas, cristais, enzimas e os hormônios. (EVERT 2006).

Além disso Evert (2006) afirma também, que o processo de secreção em plantas ocorre devido a separação ou isolamento de substâncias do protoplasto, atuando também na remoção ou acúmulo de materiais secretados em algum dos mais variados espaços celulares. A ocorrência de laticíferos proporciona às plantas maior possibilidade de adaptação nos mais diversos ambientes, uma vez que a presença dos mesmos proporciona a defesa contra microrganismos e insetos através da sua toxicidade, ou seja, reduz a ação herbívoria, também promove uma cicatrização mais rápida, resultando na preservação da estrutura da planta contra

ferimentos externos e/ou perdas químicas. O crescimento axial ocorre devido a presença de laticíferos, bem como a lamela média e encorpada, protoplasto é grosseiro e apresenta um número variável de núcleos (HAGEL et al., 2008). Laticíferos não articulados e ramificados irão se desenvolver a partir de iniciais simples, que são constatados em embriões imaturos no momento da iniciação dos cotilédones. (HAGEL et al., 2008).

Desta forma verificamos que os laticíferos são abundantes em diversas famílias. Nas Apocynaceas, foram registrados em 71 gêneros (RAMAYYA e BAHADUR 1968; AGUIAR 2003; SIMÕES et al. 2006), porém, os estudos específicos sobre laticíferos em espécies dessa família ocorrentes no Brasil ainda são muito reduzidos, com destaque para os estudos de Silva et al. (1975), Demarco (2005, 2008), Simões et al. (2006) e Martins et al. (2010). Para Gebhardt, 2000, um dos maiores desafios para química farmacêutica, a bioquímica e a farmacologia está em aclarar os componentes ativos presentes nas plantas e elucidar seus princípios de ação.

### **3.2 Família Apocynacea**

As Apocynacea podem estar entre as mais importantes famílias do grupo da Angiospermas (MOROKAWA, et al., 2013), devido aos seus componentes químicos que vem sendo utilizados com mais frequência na medicina moderna. Uma das primeiras espécies dessa família a serem estudadas e utilizada foi a *Rauwolfia serpentina* que tinha em sua composição a reserpina, muito usada no tratamento de hipertensão. (RAM E KUMARI, 2001). Várias espécies dessa família apresentaram potencial farmacológico e terapêutico em suas substâncias isoladas. (CORNELIUS et al., 2006). Há também um crescente estudo voltado para o aproveitamento das Apocynacea na indústria de alimentos.

### **3.3 Gênero *Ambelania* Aubl.**

As primeiras referências desse gênero se deu em Aublet (1775), *Histoire des plantes de la Guiane française* sob 'Pentandria, Monogynia' do sistema sexual de Linnaean, a espécie *Ambelania* foi citada a partir de uma coleta realizada no período

em que Aublet residia na Colônia francesa (ZARUCCHI, 1988). A identificação da espécie se deu nas proximidades de Caiena e o nome *Ambelania* foi escolhido com base no método da maioria dos nomes genéricos de Aublet, uma latinização dos povos Galibi para a palavra 'Ambelani'. (ZARUCCHI, 1988)

### 3.4 *Ambelania acida* Aubl.

A *Ambelania acida* é conhecida popularmente como Pepino do mato, pertence à família *Apocynacea*, com origem na Amazônia, ocorrendo também no Amapá, Pará, Roraima e Maranhão no Nordeste. (FAO, 1986; GRENAND et al., 2009. Conforme está exposto na figura 01 abaixo.

Figura 01: Ocorrências da espécie *Ambelania acida* Aubl no Brasil



Fonte: Adaptado de <https://www.infoescola.com/geografia/mapa-do-brasil/>

Em relação aos países da América latina, SIMÕES, (2020) aponta a ocorrência do pepino do mato no Brasil, Bolívia, Suriname e nas fronteiras da Venezuela. Na figura 02, ilustramos esta ocorrência na América do sul.



Figura 02: Ocorrências da espécie *Ambelania acida* Aubl na América do Sul.



Fonte: *Ambelania* in Flora do Brasil 2020.

De acordo com SIMÕES (2020), o pepino do mato apresenta as seguintes classificações taxonômicas dispostas no quadro 01.

Quadro 01: Classificação taxonômica do pepino do mato

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA	
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Gentianales
Família	Apocynacea
Gênero	<i>Ambelania Aubl</i>
Espécie	<i>Ambelania acida Aubl.</i>

Fonte: *Ambelania* in Flora do Brasil 2020.

Segundo Rabelo (2012), as informações listadas abaixo na tabela 02 sobre a *Ambelania* também são relevantes pois se tratam dos sinônimos do gênero.

Quadro 02: Sinônimos do gênero *Ambelania*

<b>Sinônimos do gênero</b>	
Sinônimos	Heterotípico <i>Ambelania cucumerina</i> Miers Heterotípico <i>Ambelania sagotii</i> Müll. Arg., Heterotípico <i>Ambelania tenuiflora</i> Müll. Arg., Heterotípico <i>Ambelania tenuiflora</i> var. <i>tenuiramea</i> Müll. Arg., Homotípico <i>Willughbeia acida</i> (Aubl.) Oken, Heterotípico <i>Willughbeia acida</i> (Aubl.) J.F. Gmel.

Fonte : *Histoire des plantes de la Guiane Française* 1: 265-268, t. 104. 1775.

As *Ambelancias* possuem melhor adaptação em sub-bosque de florestas alta e abertas, melhor adaptação em solos arenosos sob camadas de humos. Os pepinos do mato são bagas oblongas de cor amarela escura na parte externa do fruto quando maduros e esbranquiçada na parte interna. O fruto pode ser dividido em seis partes, epicarpo, mesocarpo, mucilagem, locos, sementes e endocarpo, de acordo com Santos (2023), essas estão entre as principais divisões de um fruto.

As árvores de pepino do mato são arbustivas, podendo alcançar de 1-3 m ou até 7-10 metros de altura (SIMÕES, 2014; FAO, 1986; GRENAND et al., 2009). São muito resistentes ao calor e ao frio. Ela pode ser cultivada em ambiente natural ou vasos grandes. Sua frutificação começa após 2 a 4 anos após o plantio a depender do clima e tratos culturais. Suas sementes também são resistentes e podem ser armazenadas de 4 a 6 meses após a coleta.

As características físicas como peso, comprimento, diâmetro refletem diretamente no conhecimento estrutural sobre esse o fruto. Porém, fatores como época de colheita e plantio, grau de maturação, as variações climáticas sempre irão influenciar nos resultados de avaliação das características físicas do fruto. (COELHO, 1994).

Com relação a composição química da espécie destacamos a presença marcante de macromoléculas como é o caso dos polímeros.

### 3.5 Biopolímeros

Os polímeros podem ser descritos como um agrupamento de pequenas unidades chamadas monômeros, que se ligam entre si, tornando-se uma macromolécula. São inúmeras classes de materiais naturais com diferentes aplicações, como é o caso da borracha, da celulose e da madeira, couro, proteínas e ácidos nucleicos (BASTOS, 2007). E há também os polímeros na forma sintética.

Polímeros sintéticos são produzidos artificialmente em laboratório e, segundo BORSCHIEVER, ALMEIDA E ROITMAN (2008) comumente eram derivados de petróleo, e desta forma ocorreu por muito tempo, possibilitando a fabricação de vários produtos como teflon, silicone, pneus, embalagens diversas, etc. E o que aparentemente proporcionou comodidade aos seres humanos pela praticidade apresentada, tem se mostrado um grande problema, pois a lentidão na decomposição desses derivados vem causando sérios problemas ambientais. Em virtude disto, torna-se necessário a pesquisa por fontes naturais com baixo custo, biodegradáveis e que apresentem uma qualidade similar em seus produtos (FARIAS et al., 2016).

Quanto aos polímeros naturais, são extraídos de plantas, algas, bactérias e alguns seres vivos. As mucilagens, polissacarídeos, proteínas e borracha encontrados na natureza podem ser descritos como biopolímeros, pois são polímeros de fontes renováveis. Desta forma, por se mostrar um produto mais acessível e ser biodegradável sem agressão ao meio ambiente, os polímeros naturais tornam-se cada vês mais visados (COSTA et al., 2013). Sua produção industrial enfatiza entre outros, os processos realizados através de fermentação de fungos e bactérias (BRITO et al., 2011), e destaca também, os polissacarídeos e mucilagens devido as diversas vantagens que os mesmos demonstram em comparação com os polímeros sintéticos, que vão desde acessibilidade e abundância na natureza às variadas técnicas e suas aplicações (FILHO, 2009; JANI et al., 2009).

### 3.6 Mucilagem

A presença de mucilagem é uma característica importante no que diz respeito a taxonomia e evolução dessa espécie. As substâncias que a compõem proporcionam à planta autodefesa contra os ataques de algumas espécies e concedem a ela uma maior capacidade de adaptação. A mucilagem é resultado da ação metabólica da planta (CAPITANI, 2013). Ela está amplamente distribuída em várias partes do vegetal, pois as células laticíferas podem estar presentes nas folhas, cascas, sementes, frutos e nas raízes (JANI et al., 2009). Em suas características físicas podem variar de acordo com sua composição química. Podendo ser amorfa, translúcida ou ter cores diferentes (PICKARD, 2008).

Os heteropolissacarídeos ácidos ou neutros, as proteínas e os fenóis são as principais substâncias presentes nas mucilagens. Com isso, constituem as secreções coloidais que se tornam ligeiramente viscosas ou géis ao serem expostas a água, pois possuem grupos hidrofílicos (LUFRAÑO & CAFFINI 1981; GREGORY & BAAS 1989; ROSHCHINA & ROSHCHINA 1993). JANI et al., 2009, concorda e afirma que os polissacarídeos podem ser lineares ou ramificados. Os géis são formados pelos compostos ramificados, por pectina com o íon  $\text{Ca}^{2+}$  (GOYCOOLEA e CÁRDENAS, 2003), já as soluções mais viscosas da mucilagem são formadas pelos compostos lineares que são compostas por especialmente de glicoproteína manana, que permite sua utilização como espessante de alimentos (MISAKI, et al. 1984).

De acordo com (CÁRDENAS et al., 1998; NENONENE, 2009) a mucilagem representa a presença da fração de polissacarídeos na planta. Nela estão presentes D-galacturônico, L-arabinose, D-alactose, L-ramnose e D-xilose e ácido, porém a quantidade pode variar, podendo ser solúveis ou insolúveis em água. Os géis são formados pela fração solúvel na presença de sais de cálcio e magnésio, já os insolúveis não terão essa capacidade, resultando em uma solução viscosa (GALLAGHER et al., 2004; BRANCO, 2011; PILETTI, 2011).

Nas plantas, essas secreções desempenham funções importantes na defesa e proteção da estrutura e principalmente de órgãos que ainda estão em desenvolvimento. A mucilagem atua na reserva de água e de carboidratos, minimizando a transpiração, reduz os efeitos da radiação dispersando ou refletindo

a luz incidente, diminui a ação herbívoria, lubrifica do ápice dos rizomas, e regula a germinação de sementes (ROCHA et al., 2011).

A mucilagem pode atuar também, como fibra dietética de eficiente assimilação no organismo dos seres humanos (ALLER et al., 2004). As fibras dietéticas são muito resistentes às enzimas digestivas (CECCHI, 2003), e conforme sua capacidade de solubilidade, as fibras também serão classificadas em solúveis ou insolúveis. Sendo a mucilagem rica em pectina e solúvel em água, as mesmas possuem a capacidade de retardar o escoamento gástrico e o trânsito intestinal, pois demonstram certa viscosidade e propensão à fermentação (DHINGRA et al., 2012), o que pode gerar muito interesse para indústria alimentícia, principalmente ao grupo com alimentação restrita, grupo este, que vem aumentando significativamente nos últimos anos.

Em suas pesquisas, JANE et al. (2009) destaca algumas das principais características da mucilagem e entre elas, está o fato de ela ser biodegradável, ser comestível, ser acessível, e por serem abundantes na natureza o processamento pode ser viável e vantajoso.

Devido ao fato de ser hidrocolóide as mucilagens vêm sendo explorada pelas indústrias principalmente como espessantes, gelificantes alimentares, emulsificantes, dispersores e controladores de sinérese. Com isso, verificamos que a mucilagem é utilizada principalmente como modificadores de textura de alimentos e agentes de revestimento e de filmes de embalagem (MUÑOZ et al., 2012; CAPITANI, 2015). Através dela é possível aumentar também a viscosidade nas massas e líquidos, melhoram a capacidade de fixação de gás gerando produtos com qualidade elevada em suas características estrutural e de textura (GALLAGHER et al., 2004).

Desta forma, destacamos que a crescente procura por mucilagens deve estimular ainda mais as pesquisas não só na área alimentícia, mas também como na área dos cosméticos e farmacêuticas. Há estudos com direcionamento à novos setores com na economia, mas que apresentem funcionalidades específicas (FARAHNAKY et al., 2013; RAZAVI: TAHERI; QUINCHIA, 2011). Com isso, se faz necessário conhecer as propriedades e características da mucilagem da *Ambelania* para que a aplicabilidade dos ativos naturais presente da mesma possam ter utilidade no desenvolvimento e produção de novos produtos (MAURER: JUNGHANS; VILGIS, 2012).

### **3.6.1 Propriedades hidrocoloides da mucilagem**

Os hidrocoloides são macromoléculas com grande capacidade solubilidade em água, podendo elevar seu nível de viscosidade, aumentar seu volume ou, em alguns casos, apresentar características gelificantes. A capacidade dos hidrocoloides de absorver água, os capacita para as funções de estabilizantes, gelificantes e estabilizantes. Os polissacarídeos, as mucilagens e gomas também apresentam essas mesmas funções (AMARAL, 2016).

Entre as funções dos hidrocoloides está a capacidade estabilizante, pois ao entrarem em contato com a água se hidratam, as moléculas se degradam e dissolvem, podendo formar pontes de hidrogênio, ou pode ocorrer um agregado em todo líquido ocasionando uma redução na capacidade de movimento da água. Esses efeitos resultam na elevação da viscosidade ou na formação de gel (GARTI; REICHMAN, 1993). Há também, a capacidade espessante onde a substância também se torna capaz de aumentar a viscosidade de soluções, de ser emulsificante e de realizar suspensões em alimentos. Porém, são os estabilizantes que proporcionam a capacidade de manter as características físicas das emulsões e suspensões (QUEIROGA, 2017).

Desta forma, ao nos depararmos com uma sociedade cada vez mais exigente e preocupada com seu bem-estar como um todo, principalmente na alimentação, podemos destacar que hidrocoloides apresentam grande potencialidade no seu aproveitamento e aplicabilidade industrial, seja por suas propriedades estruturais, físicas ou químicas, o que influenciam diretamente a pesquisa por novos polissacarídeos (COLONETTI et al., 2012).

### **3.6.2 Polissacáridos de mucilagem**

Os polissacarídeos são amplamente utilizados na tecnologia de alimentos, principalmente pelas propriedades reológicas de suas soluções; sendo compostos de alto peso molecular, formam soluções coloidais em que cada molécula do polissacarídeo liga grande quantidade de água, devido ao alto número de grupos hidroxilas presente em sua molécula (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Os polissacarídeos são carboidratos constituídos por um ou mais tipos monossacarídeos. São cadeias de açúcares em forma linear ou ramificada que podem abranger tamanhos variados. Eles podem possuir cargas negativamente carregadas ou até mesmo serem tendenciosos à neutralidade.

Esses polissacarídeos tem sido uma opção amplamente utilizada na tecnologia de alimentos, e os derivados das plantas são uma fonte interessante de aditivos para diversas áreas da indústria. No caso da medicina tradicional, se utiliza amplamente dos polímeros para tratar ferimentos na pele do epitélio e para curar irritação da mucosa (CAI et al., 2008).

Muitos destes polissacarídeos, podem ser empregados para alterar ou melhorar as propriedades reológicas de alguns produtos. Possuem compostos com elevado peso molecular, apresentam soluções coloidais, ligando-se a grandes quantidades de água, devido ao fato de que apresentam um grande número de grupos hidroxilas presente em sua molécula (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

As principais fontes de polissacarídeos são plantas e estão em varia partes da mesma, como nas sementes, frutos, tubérculo, cereais, mas podem ser encontrados também em animais, fungos e bactérias.

A abundância de muitos polissacarídeos e mucilagens faz com que os mesmos tenham um menor custo se comparado aos polímeros sintéticos e ainda apresentam a vantagem se serem biodegradáveis (NISHINARI; TAKAHASHI, 2003; COVIELLO et al., 2007; JANI et al., 2009).

Alguns frutos destacam-se quanto ao nível de carboidratos, podendo variar de acordo com o nível de maturação. Partes de frutos cítricos como casca e bagaço da maçã apresentam pectina (MESBAHI; JAMALIAN; FARAHNAKY, 2005; YAPO, 2011).

Com o crescente potencial industrial da pectina, percebe-se a intensificação de estudos e pesquisas relacionados a mesma, para lançamento no mercado (VRIESMANN; TEÓFILO; PETKOWICZ, 2012). Na tabela 03, listamos os principais polissacarídeos extraídos de vegetais e utilizados nas indústrias.

Quadro 03: Principais polissacarídeos utilizados na indústria.

Polissacarídeo	Fonte	Principais características
<b>Pectina</b>	Casca de frutas cítricas e bagaço de maçã	Formar géis e estabilizar produtos
<b>Amido (amilase e amilopectina)</b>	Grãos, sementes de leguminosas, tubérculos e algumas frutas	Gelificação
<b>Celulose</b>	Na parede celular das plantas.	Regulação das propriedades reológicas, emulsificação, estabilização de espumas e capacidade de ligação à água.
<b>Galactomanana</b>	Plantas leguminosas;	Proporcionam soluções viscosas em meio aquoso;
<b>Carragenanas</b>	Algas vermelhas	Proteínas de alta qualidade, ácidos graxos insaturados essenciais, altas concentrações de vitaminas e antioxidantes.
<b>Alginatos</b>	Algas marrons e bactérias.	Proteínas de alta qualidade, ácidos graxos insaturados essenciais, altas concentrações de vitaminas e antioxidantes.

Fonte: Toneli, et al, 2005.

A viscosidade da mucilagem está relacionada a um dos principais parâmetros da reologia do fruto, pois está ligada ao diagnóstico de resistência dos extratos ou fluidos presentes nos vegetais. Há alterações contínuas no decorrer das etapas de uma mistura, que vão desde sua composição à temperatura, textura, fermentação, cicatrização, entre outros que alteram a viscosidade (BHATTACHARYA, 1997).

Desta maneira o Brasil configura-se como um grande produtor de mucilagem de alta qualidade. Sendo que, o estudo de novas fontes é bastante relevante, visto que há plantas nativas que podem apresentar potencial industrial de baixo custo e de ótima qualidade.



### 3.7 Caracterização química

A caracterização química é uma forma importante de obtenção de informações a respeito da composição de materiais biológicos. Diante da ampla gama de compostos químicos existentes em uma matéria orgânica, há necessidade de selecionar entre os variados métodos de análises químicas, o mais eficiente. Desta forma, destacamos a espectrometria de massas, devido ao fato de ela ser é uma ferramenta eficiente e por apresentar alta sensibilidade e seletividade se sobressaindo em relação a outras técnicas. Esse método vem sendo utilizado desde o século XX (THOMPSON, 1913) seu desenvolvimento baseia-se na formação de íons na fase gasosa, onde são carregados positivamente ou negativamente, dessa forma podem ser identificados com base na sua razão massa/carga ( $m/z$ ).

#### 3.7.1 Espectrometria de massas

Espectrometria de massas conceitua-se como a técnica que realiza a ionização por eletrospray, que foi desenvolvida para ser utilizar na detecção dos componentes de sistemas biológicos. (FENN et al., 1989). E nos últimos anos passou por grandes avanços tecnológicos, modernizando e ampliando sua utilização para um extenso espectro de classes moleculares. (HAM, 2008).

A ionização por eletrospray com ionização branda foi o método em que a espectrometria de massas pôde ampliar significativamente sua aplicabilidade, permitindo análises de macromoléculas com níveis reduzidos de fragmentação. (YAMASHITA e FENN, 1984). Foi através dessa técnica que se tornaram possíveis as análises em alta massa molecular e em massas não voláteis, como é o caso dos polipeptídeos, carboidratos e as proteínas (COLE, 1997).

Para realizar as análises, as amostras devem ser dissolvidas em um tampão ou em um solvente, em seguida deverão ser bombeadas em porções de fluxos de microlitros por minuto por meio de uma agulha hipodérmica em alta voltagem, dessa forma pode dispersar eletrostaticamente ou por eletrospray, gotas micrométricas que por sua vez são instantaneamente evaporadas, transmitindo sua carga para o analito (GASKELL, 1997). Ou seja, ao a ionização é adquirida por meio da protonação ou

desprotonação ou até mesmo pela adição de alguns íons, como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$  e  $\text{Cl}^-$ , resultando em adultos. As espécies observadas passam a se chamar protonadas.

Por ser um processo que ocorre em condições ambiente, é delicado e não oferece riscos de fragmentação dos íons do analito na fase gasosa. (MANN; HENDRICKSON; PANDEY, 2001).

## 4. METODOLOGIA

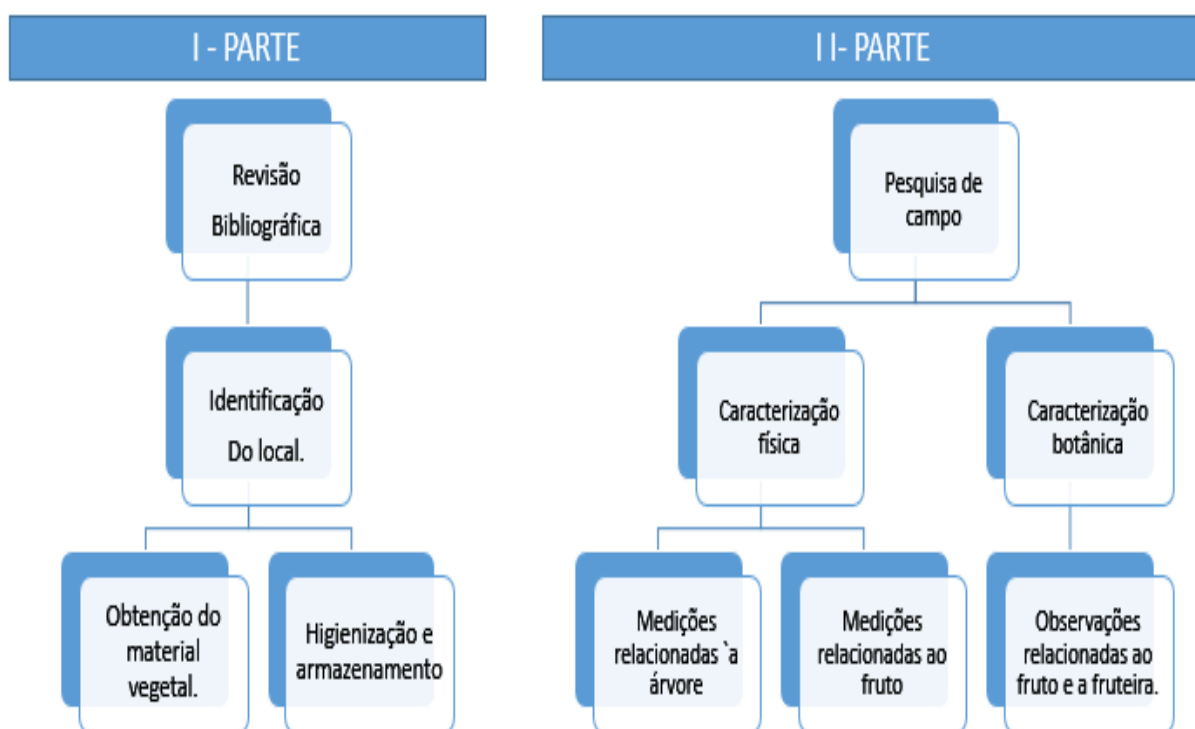
### 4. 1 Delineamento experimental

O projeto foi desenvolvido em quatro etapas. Inicialmente, realizou-se um levantamento das principais localidades onde o fruto poderia ser encontrado em abundância. Foi realizada a investigação para identificar a idade dos pepineiros e realizar a coleta dos frutos.

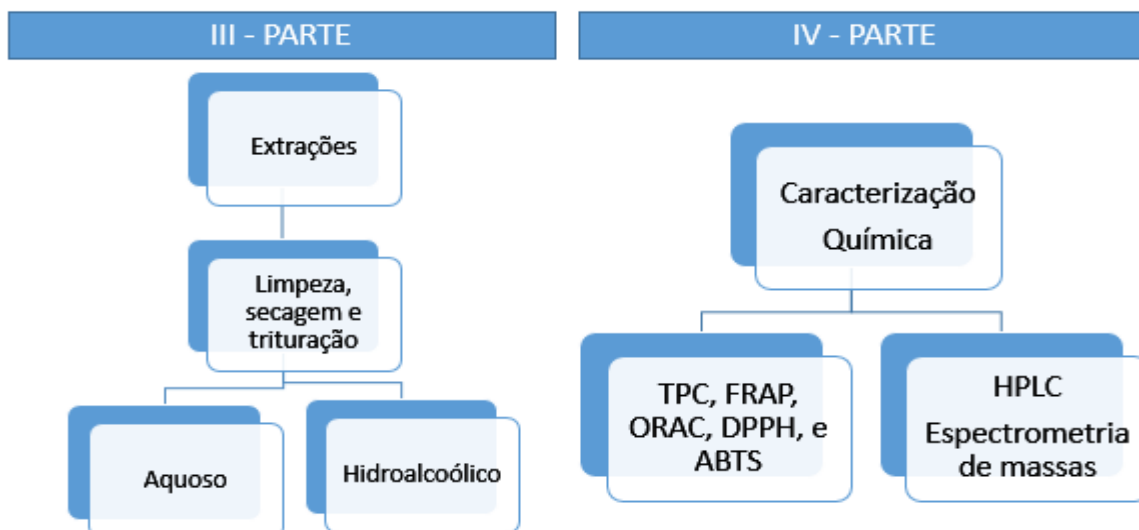
Na segunda parte foi realizada pesquisa de campo, afim de obter os dados botânicos e parte dos dados físicos do pepino do mato, devido à escassez de informações sobre o fruto.

Posteriormente foram realizadas as extrações hidroalcóolica e aquosa para o desenvolvimento dos estudos espectrométricos e a cromatografia líquida de alta eficiência da mucilagem presente no fruto do pepino do mato.

A quarta etapa foi realização das análises, afim de caracterizar quimicamente a mucilagem do fruto. O esquema do procedimento experimental pode ser verificado no fluxograma 1.



Fluxograma 1: Delineamento experimental do projeto. (Parte 1 e 2)



Fluxograma 1: Delineamento experimental do projeto. (Parte 3 e 4)

## 4.2 Local da pesquisa

O trabalho foi realizado na Universidade Federal do Amazonas – UFAM, ISB/Coari, no laboratório de Química de Biomoléculas do Amazonas (Q-Bioma), na Universidade Federal do Amazonas – UFAM, na cidade de Manaus. Houve a parceria com o Instituto Militar de Engenharia- IME e do Laboratório de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico- LADETEC na Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ.

A pesquisa de campo se deu no município de Coari – Amazonas, em quatro comunidades rurais localizadas nas proximidades da cidade, denominadas Boan, Amazonino Mendes, Barro Alto e Laranjal.

## 4.3 Obtenção e preparo da matéria-prima

A coleta dos frutos que foram utilizados para a produção dos extratos, ocorreu em uma mata nas proximidades da estrada do Aeroporto, AM-343, localização - 4.116836, -63.141486.

Figura 03: Localização do ponto de coleta dos frutos



Fonte: Google Mapas, 2023

A coleta dos frutos foi realizada no mês de outubro do ano de 2022, no período da tarde por um mateiro, o mesmo utilizou uma vara com uma lamina na ponta para facilitar a retirada do fruto dos galhos da árvore, pois os mesmos são bem rígidos. (Figura 4 A e B).

Após a coleta, os frutos foram conduzidos em um saco plástico até o laboratório de química orgânica da Universidade federal do Amazonas /ISB Coari.

Os pepinos foram previamente higienizados com água corrente e secos naturalmente. Foi separado uma unidade do fruto para fazer os primeiros testes para identificar o melhor solvente para a extração da mucilagem. Em seguida os frutos foram pesados em balança de precisão e medidos, em seguida foram separados por tamanho e grau de maturação. (Figura 4 C e D).

Figura 04: Pepino do mato ainda na árvore. A) Coleta do pepino do mato realizada pelo agricultor. B) Processo de pesagem individual dos frutos. C) Medição dos frutos. D.



Fonte: Autora, 2022.

Após esses procedimentos os frutos foram congelados em freezer afim de manter a integridade de todos os seus componentes e para que não ocorra a oxidação até momento adequado para a manipulação e estudos da espécie. Permaneceram congelados por oito (8) dias, após esse período, foram conduzidos ao laboratório de Química de Biomoléculas do Amazonas (Q-Bioma), na Universidade Federal do Amazonas – UFAM, na cidade de Manaus.

A pesquisa foi cadastrada no SisGen, sob o número de cadastro **AB7C955**. Foi realizado também, o depósito no herbário EAFM, do IFAM de Manaus, Sob o número de inscrição **18854**, o fruto foi seco em estufa a 40°.

#### **4.4 Medidas físicas**

Os frutos foram pesados em balança de precisão e os resultados expressos em gramas (g) (Figura 4, C). O comprimento e o diâmetro foram medidos e os resultados foram expressos em centímetros (cm). (Figura 4, D).

#### **4.5 Caracterização botânica.**

As observações relacionadas a parte botânica foram realizadas nas comunidades rurais descritas anteriormente, sendo que, foram estudadas 10 árvores de *Ambelalina* em cada comunidade, totalizando quarenta (40) árvores. Os estudos se iniciaram no mês de abril do ano 2021. Foram realizadas as descrições fenotípicas das árvores e dos frutos. Os pepinos do mato foram contabilizados e medidos diariamente por professores de ciências naturais voluntários que residiam nas quatro comunidades, afim de estimar a produção anual de frutos, esses procedimentos ocorreram no período de 12 meses, e foi repetido por mais 12 meses do ano de 2022 para que as informações fossem precisas. Com isso, foi possível coletar dados sobre o período de floração e frutificação, número de frutos nascido a cada mês, tempo de crescimentos dos frutos e as características fenotípicas.

Realizou-se a observação de três formas de germinação, sendo o processo natural, realizamos o plantio manual da semente e deixamos unidades do fruto protegidos de umidade e em temperatura ambiente, afim de seccionarmos

manualmente para observar o surgimento da radícula. Dessa forma, foi possível comparar o tempo de germinação de cada método.

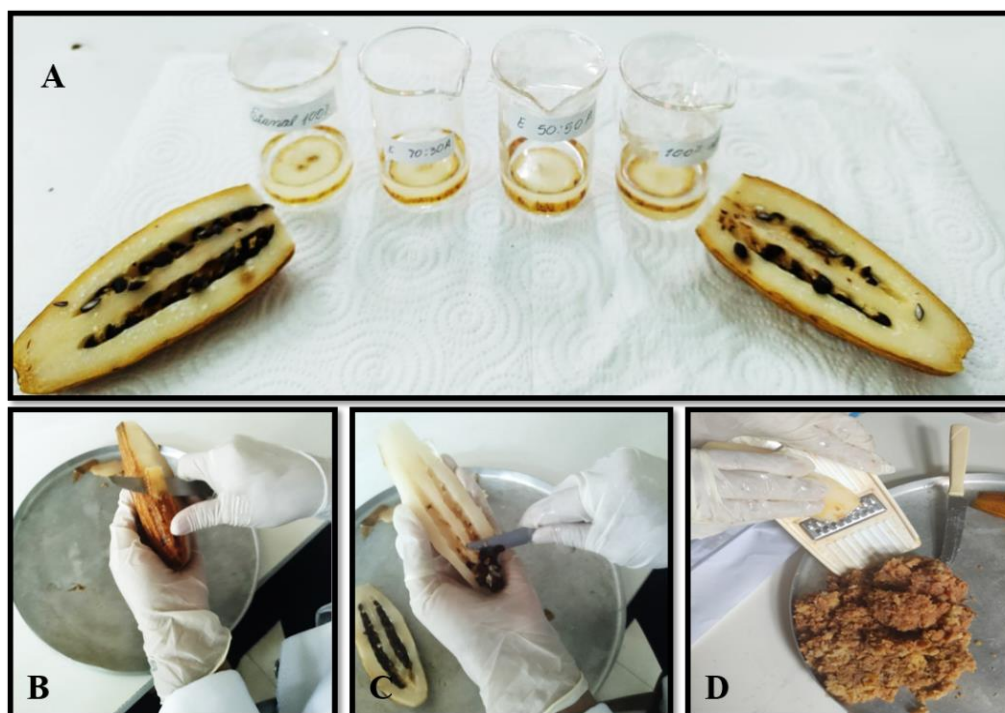
No processo natural, observamos em cada comunidade dez (10) unidades do fruto de cada árvore, que haviam caído diretamente no solo sem interferência humana e repetimos esse processo em triplicata, concomitantemente realizamos a observação do segundo método nas quatro localidades, onde foram plantados a mesma quantidade de sementes em sementeiras com substrato e regamos diariamente e repetimos o processo três vezes. Para finalizar, coletou-se dez (10) unidades do fruto que foram abrigados em temperatura ambiente e após 10 dias, foram sendo abertos manualmente e diariamente afim de verificar o tempo que a radícula surge dentro do fruto.

## **4.6 Material vegetal e extrações**

### **4.6.1 Seleção do solvente**

Antes de realizar qualquer procedimento foram feitos testes para verificar qual o melhor solvente para a extração da mucilagem presente na polpa fruto de pepino do mato com etanol/água. Para isso foram depositadas quatro fatias finas de pepino do mato em quatro Becker de 50ml. No primeiro foi adicionado 10ml de etanol, totalizando 100% do mesmo solvente. No segundo Becker a proporção foi (5:5) etanol/água. No terceiro, a proporção foi (7:3) etanol/água e no quarto Becker foi 100% água destilada. Sendo que em todos o volume foi de 10ml. Após 24h de maceração, verificamos que em 100% de água e na proporção 7:3 de solvente hidroalcoólico apresentaram uma extração maior da mucilagem. (Figura 05, A). Com isso, decidimos realizar a extração do extrato aquoso e hidroalcoólico.

Figura 05: Teste para escolher o melhor solvente extrator. A) Descasque do pepino do mato. B) Separação das sementes. C) Processamento da polpa através do ralador. D.



Fonte: Autora, 2022

#### 4.6.2 Extrações

Os pepinos do mato foram novamente higienizados com água destilada e descascados ainda congelados; as sementes foram separadas, a polpa foi ralada com o auxílio de um ralador com lamina de material inoxidável para aumentar o contato de superfície da polpa do pepino do mato com o solvente. (Figura 05, B, C e D).

##### 4.6.2.1 Extrato aquoso

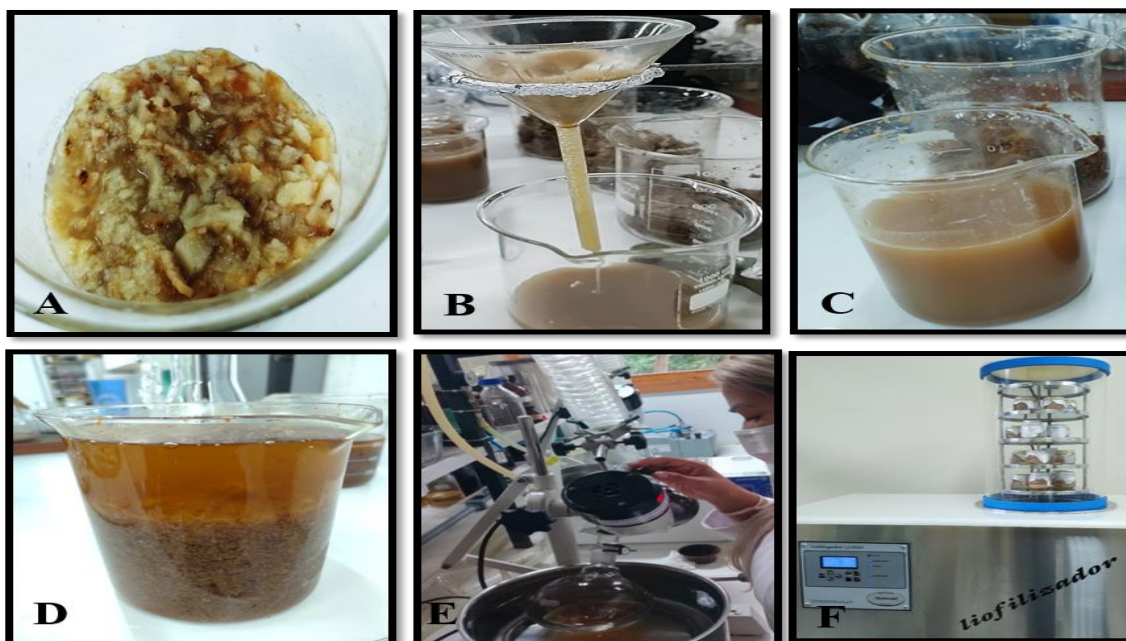
O extrato aquoso foi obtido através de maceração por 24h. Em 500g de polpa de pepino do mato foi adicionado 200ml de água destilada, essa quantidade cobriu a massa e foi o suficiente para facilitar a filtração. O material filtrado foi congelado e liofilizado para que em seguida, seja realizada a caracterização química da *Ambelania acida*. (Figura 06)



#### 4.6.2.2 Extrato hidroalcoólico

A extração foi realizada por maceração, no período de 72 horas, utilizando etanol e água destilada na proporção (8:2). Em 500g da polpa de pepino do mato foram adicionados 800ml de etanol e 200ml de água. Após o período de maceração o extrato foi filtrado, passou pelo processo de rotaevaporação para a retirada do álcool e em seguida congelado e liofilizado. (Figura 06)

Figura 06: Maceração com água. A) Filtração do extrato aquoso. B) Extrato aquoso. C) Maceração hidroalcoólica. D. Rotaevaporação do extrato hidroalcoólico. E. Liofilização do extrato hidroalcoólico. F.



Fonte: Autora, 2022.

Durante o processo de rotaevaporação, observamos que o extrato precipitou bastante, o que dificultou essa etapa, pois, o material colava nas paredes do balão causando atrasos devido a necessidade da constante manutenção do mesmo através da agitação em ultrassom, afim de não perder material biológico. (Figura 07).

Figura 07: Precipitação do extrato.



Fonte: Autora, 2022.

## 4.7 Análise química

### 4.7.1 Determinação de compostos fenólicos totais.

A análise de fenólicos totais foi realizada de acordo com o ensaio de Folin-Ciocalteu, (SINGLETON et. al., 1965). As alíquotas dos extratos (30, 20 e 10  $\mu\text{L}$ ) foram pipetadas e repousaram ao abrigo da luz por duas horas e após esse período, foi realizada a leitura em espectrofotômetro na absorvância de 750nm. Os resultados foram comparados com a reação do padrão ácido gálico e expresso em mg de ácido gálico (GAE)/100g de amostra.

### 4.7.2 Ensaio do poder antioxidante redutor férrico (FRAP)

A atividade antioxidante pelo método de FRAP foi determinada de acordo com Rufino et al (2006). Este método baseia-se na quantificação da capacidade de redução do complexo Fe(III)-TPTZ (cor azul clara) para o complexo Fe(II)-TPTZ (cor azul escura) em meio ácido, reação esta que é desencadeada pelo antioxidante presente na amostra. O método consiste em adicionar a 100  $\mu\text{L}$  da amostra e quantificar, em 2,7 mL de reagente FRAP somado a 270 $\mu\text{L}$  de água destilada. Após

30 minutos em banho maria foi efetuada a leitura de absorvância a 595 nm. A curva padrão foi produzida com uma solução de sulfato ferroso com quatro diluições diferentes. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso por grama de amostra.

#### 4.7.3 DPPH

A medida da atividade sequestrante do radical DPPH foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Brand-Williams, CuvelierBerset (1995). Para avaliação da atividade antioxidante, as amostras em três concentrações em triplicata foram adicionadas para reação com o radical estável DPPH em uma solução de metanol. A redução do radical do DPPH foi medida através da leitura da absorvância a 515nm em 30 min de reação. Foi utilizado padrão de trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e a atividade antioxidante foi expressa em  $\mu\text{mol}$  de trolox por grama de amostra.

#### 4.7.4 ORAC

Este método, mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil que foram gerados por uma fonte radicalar, AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidroclorado), a 37°C (OU et. al., 2001; HUANG et. al., 2002). O radical peroxil, gerado pela reação do com oxigênio atmosférico, reage com a fluoresceína para formar um produto não fluorescente, que pode ser medido por espectrofotometria com máxima emissão de fluorescência em 575 nm e 578 nm. Concentrações conhecidas de trolox foram usadas para gerar uma curva padrão. A atividade antioxidante das substâncias foi determinada através da diferença entre a área abaixo da curva (AUC) da amostra subtraída pela AUC do branco, medida pelo decaimento da fluorescência com a adição da substância antioxidante no decorrer do tempo. Este ensaio expressa o resultado em  $\mu\text{mol}$  de trolox equivalentes.

#### **4.7.5 ABTS**

No método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis 3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfônico) foi utilizado como descrito por Rufino et al. (2007), onde radical ABTS é formado por uma reação química com persulfato de potássio. O radical ABTS foi diluído em etanol para obter uma medida de absorvância de 0,70 ( $\pm 0,02$ ) a um comprimento de onda de 734 nm. O cálculo foi baseado em três diferentes volumes em triplicata das amostras que reagiram com o radical ABTS por 6 min. A atividade antioxidante foi expressa em  $\mu\text{mol}$  equivalente de trolox por grama de amostra.

#### **4.7.6 Análise de estatística**

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada em excel e no Programa BioStar 5.0. Foi feito o teste de variância (ANOVA) com pós-teste de Tukey para comparação de médias, ao nível de significância de 5%.

#### **4.7.7 HPLC e Espectrometria de massas**

As análises de HPLC foram realizadas no LADETEC na UFRJ. O processamento dos dados foi realizado utilizando o software Xcalibur 3.0.1. As amostras foram preparadas na concentração de 1 mg/mL em metanol grau CLAE e filtradas com filtro PTFE de 13 mm com poro 0,45  $\mu\text{m}$ .

Os extratos foram analisados a um cromatografo Dionex Ultimate 3000 UHPLC (Thermo Scientific, Bremen, Germany) acoplado a um espectrômetro de alta resolução Q-Exactive (Thermo Scientific, Bremen, Germany). Foi usada como fase estacionária uma coluna Synchronis C18 (2.1 x 50 mm, 100 Å – Thermofisher Scientific, Waltham, United States), que foi mantida na temperatura de 40 °C.

Quadro 04 – Solventes usados na diluição para análise de HPLC.

<b>Amostra</b>	<b>Diluição (1mg/mL)</b>
<b>Extrato etanólico de Ambelania acida (pepino do mato)</b>	Metanol grau HPLC
<b>Extrato aquoso de Ambelania acida (pepino do mato)</b>	Metanol grau HPLC: Água Milli-Q (5:1)

Fonte: Autora, 2023

Tabela 01 – Dados da análise de HPLC.

**ANÁLISE: FULL SCAN E MS<sup>2</sup>**

<b>MODOS DE IONIZAÇÃO:</b>	positivo e negativo;
<b>FAIXA DE DETECÇÃO:</b>	150-800 m/z
<b>SOLVENTE A:</b>	ácido fórmico 0,1% em água deionizada: formiato de amônio 5 mM;
<b>SOLVENTE B:</b>	Solvente B: Metanol acidificado com 0,1 % de ácido fórmico;
<b>FLUXO =</b>	0,4 mL min <sup>-1</sup>
<b>DURAÇÃO:</b>	o método durou 11 min;

Fonte: Autora, 2023

Tabela 02 – Gradiente utilizado na análise das amostras de pepino do mato.

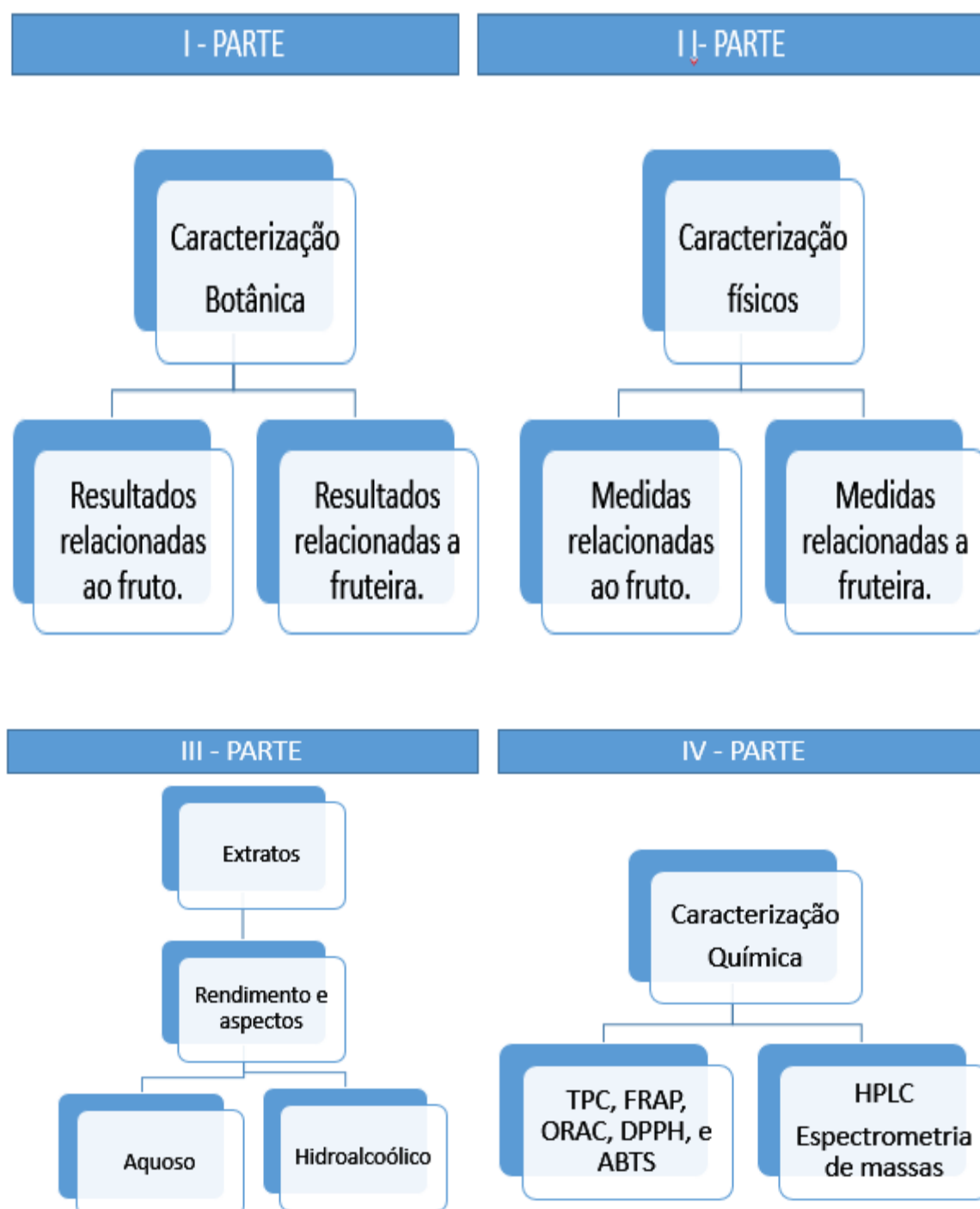
<b>Gradiente</b>		
<b>Tempo (min)</b>	<b>% Solvente A</b>	<b>% Solvente B</b>
0,0	95	5
0,3	95	5
0,5	90	10
1,0	75	25
6,0	10	90
8,0	0	100
9,0	0	100
9,1	95	5
11,1	95	5

Fonte: Autora, 2023

## 5. RESULTADOS E DISCURSÕES

Destacamos que os resultados da presente pesquisa foram separados em quatro partes que estão expostas no fluxograma abaixo.

Fluxograma 02: Etapas de discursões dos resultados obtidos.



## 5.1 Caracterização botânica

### 5.1.1 O fruto

Em relação as observações fenotípicas do fruto podemos confirmar que os mesmos são, de fato, bagas oblongas e constatamos que ao serem seccionados ou até mesmo feridos levemente, expelem um fluido pegajoso e leitoso que coagula em poucos segundos após ser exposto ao ar.

Na figura 08, podemos observar um fruto com um pequeno corte feito no momento da coleta e o fluido escorrendo através dele antes de coagular.

Figura 08: Fruto pepino do mato.

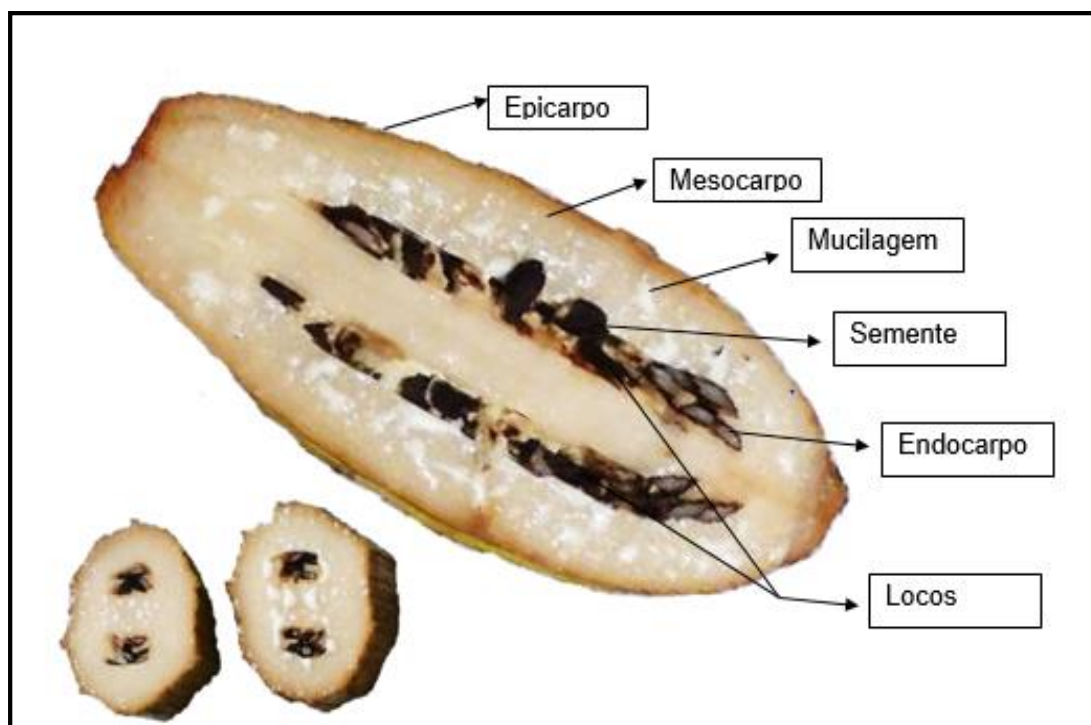


Fonte: Autora, 2022

Neste estudo identificamos que o pepino do mato pode ser dividido em seis diferentes partes, conforme observamos na figura 09.



Figura 09: Demonstração de todas as partes da *Ambelania acida* Aubl.



Fonte: Autora, 2022

Quando as características fenotípicas destacamos que, o **epicarpo** do fruto (casca) possui espessura extremamente fina na cor amarela e levemente laranjada quando madura e na fase verde os tons vão de verde claro ao escuro e é estriado longitudinalmente.

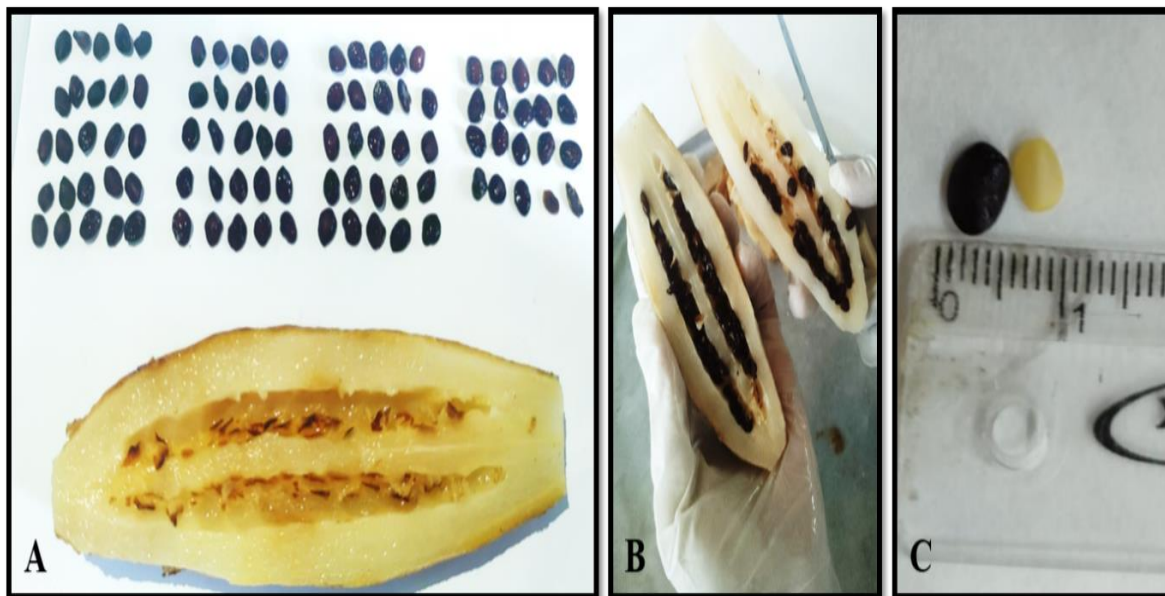
O **mesocarpo** (polpa) representa de aproximadamente 82% do peso total do fruto, sua textura é macia, suavemente adocicada e sua consistência é levemente rígida, o sabor similar à pêra em estado mediano de maturação.

Sua **mucilagem** é o fluido presente na polpa, e, embora tenha sido mencionado em uma publicação que essa secreção estaria presente na casca do fruto, constatamos que é no mesocarpo que a mucilagem se encontra. Apesar desse fluido ser pegajoso, o fruto o pepino do mato é comestível, visto que a secreção pode ser extraída após a imersão do fruto cortado por duas horas em água fria ou até mesmo através de pancadas no fruto, ainda com casca. Observamos também, que na fase em que o fruto está verde, há maior concentração dessa mucilagem.

No interior do fruto há dois **locos** longitudinais nos quais encontram-se de 19 a 95 **sementes** pequenas e secas, variando conforme o tamanho do fruto. O **endocarpo** é firme, opaco e com coloração marrom-escuro. O endosperma é rígido

branco amendoado que medem de 4 a 5 milímetros, (Figura 10). Elas são resistentes e podem ser armazenadas de 4 a 6 meses após a coleta.

Figura 10: Sementes retiradas de um único pepino do mato. A) Disposição dos locos onde são encontradas as sementes. B). Medição da semente. C).



Fonte: Autora, 2022

Através de nossas pesquisas de campo verificamos que, a germinação natural ocorre somente após 120 dias, que, caso haja o plantio em sementeiras, esse tem variação de 100 a 120 dias para germinar. Porém, através de alguns testes observamos que ao deixar o fruto em abrigo seco e em temperatura ambiente, a radícula se desenvolve em apenas dose (12) dias

Esse procedimento foi realizado nas quatro comunidades, lembrando que em cada uma foram observadas 10 árvores e, por tanto, de cada árvore foram coletadas dez (10) unidades de frutos, totalizando 400 frutos. O resultado variou de nove (9) a dose (12) dias para o surgimento da radícula. (Figura 11). Verificamos também, que neste estágio, se o fruto for aberto manualmente e o broto plantado for no solo ou em vaso, o desenvolvimento ocorre mais rapidamente e em poucas semanas já está bem estruturado. Porém, se permanecerem no fruto até sua decomposição, a radícula tende a perecer.

Figura 11: Surgimento da Radícula



Fonte: Autora, 2022

### 5.1.2 A árvore

De acordo com nossas observações, a árvore se adapta melhor em terra firme, este fato foi corroborado nas comunidades em que houve os estudos, pois nas mesmas, a espécie é abundante, já nas áreas de várzeas a *Ambelania acida* não foi encontrado. O período de maior frutificação ocorre a partir do segundo semestre, porém, frutifica o ano inteiro em menores quantidades. O caule é glabro, centralizado, é cilíndrico e possui várias ramificações oposta de tamanhos variados. Expele látex ao ter sua casca do caule (Ritidoma) cortada e essa por sua vez, possui consistência dura e áspera, sua coloração é marrom acinzentada. (Figura 12, B)

O pepineiro possui folhas espessas, consistentes, rígidas, mas flexíveis (coriáceas), com disposições opostas nos ramos. O formato da folha é oblongo, base arredondada, margem lisa e ápice acuminado. Sua lâmina foliar possui coloração verde escuro brilhante na superfície superior e verde clara e opaca na inferior, porém suas nervuras são predominantes. Já as flores pepino do mato são pequenas e constituídas por corola tubulosa de coloração branca, o botão possui 5 lobos torcidos

e 5 estames inseridos na metade superior do tubo e de acordo com as características observadas são hermafroditas. (Figura 12 D).

Figura 12: Árvore de pepino do mato. A) Folhas do pepino do mato. B) Caule do pepino do mato. C). Flor do pepino do mato. D).



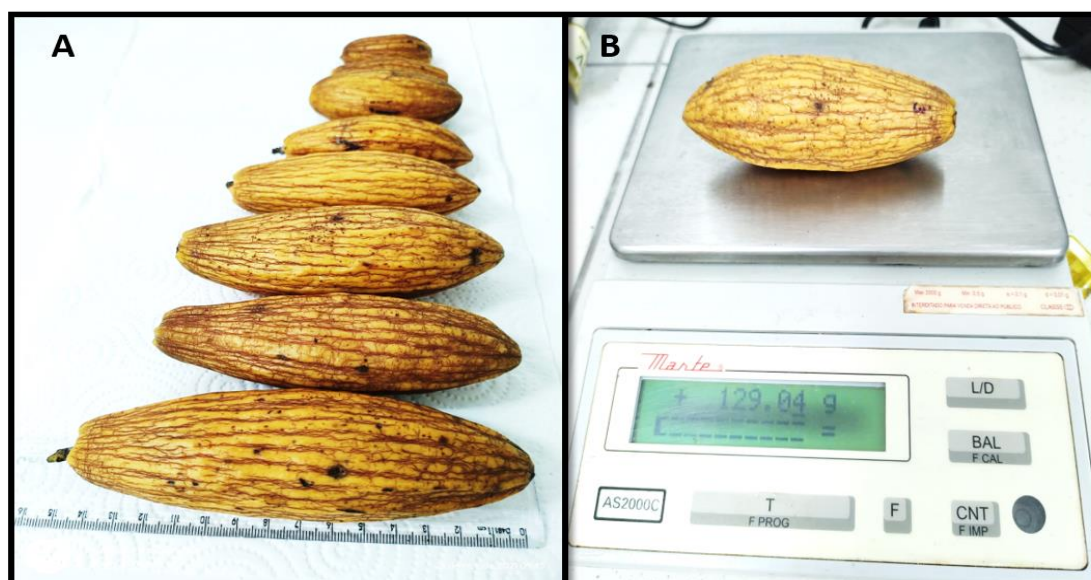
Fonte: Autora, 2022

## 5.2 Características físicas

### 5.2.1 Medidas físicas do fruto

Foi verificado que nos 40 pepineiros observados foram encontrados frutos com 8 tamanhos diferentes na mesma árvore e no mesmo grau de maturação, medindo de 7 a 16 cm de comprimento, com diâmetro de 2 a 5,4cm. Figura 08 A. O peso dos frutos inteiros variou entre 22 a 129 gramas (Figura 23 B). Contudo, os tamanhos que são os maiores frutos. Destacando que as árvores pesquisadas eram nativas sem qualquer manutenção humana. Os estudos físicos foram realizados em três períodos do ano.

Figura 13: Medidas físicas do pepino do mato



Fonte: Autora, 2022

### 5.2.2 Medidas físicas da árvore

As árvores podem medir de 1-3 metros ou até 7-10 metros de altura, uma árvore adulta pode produzir aproximadamente 5.944 unidades de pepino do mato por ano. (Figura, 07, A). Seu caule mede até 25cm de diâmetro na extremidade mais grossa da árvore. As folhas podem medir de 6-17 cm de comprimento por 2,5 4cm. (Figura 14 B). Suas flores medem de 1,5 a 2 cm de diâmetro e 2,5cm de altura. (Figura 14 A)

Figura 14: Flor de *Ambelania acida* em meio hidroalcoólico, A; Folha, B

Fonte: Autora, 2022

## 5.3 Extratos

### 5.3.1 Rendimento da mucilagem extraída do fruto

Conforme mencionado nos procedimentos metodológicos, após o pepino do mato ter sido descascado e suas sementes retiradas, a polpa foi ralada para que houvesse as extrações hidroalcoólica e aquosa da mucilagem, cada extração foi realizada em cada 500ml de polpa.

Com relação aos extratos, na figura 15A, são demonstradas as frações solúveis (sobrenadante) e insolúveis da extração hidroalcoólica da polpa do fruto e na figura 15 B, a extração aquosa. A separação das soluções se deu através da filtração.

Suas sementes também são resistentes e podem ser armazenadas de 4 a 6 meses após a coleta.

Figura 15: Frações solúveis e insolúveis da polpa do fruto *Ambelania acida* em meio hidroalcoólico A), Frações solúveis e insolúveis da polpa do fruto em meio aquoso B).

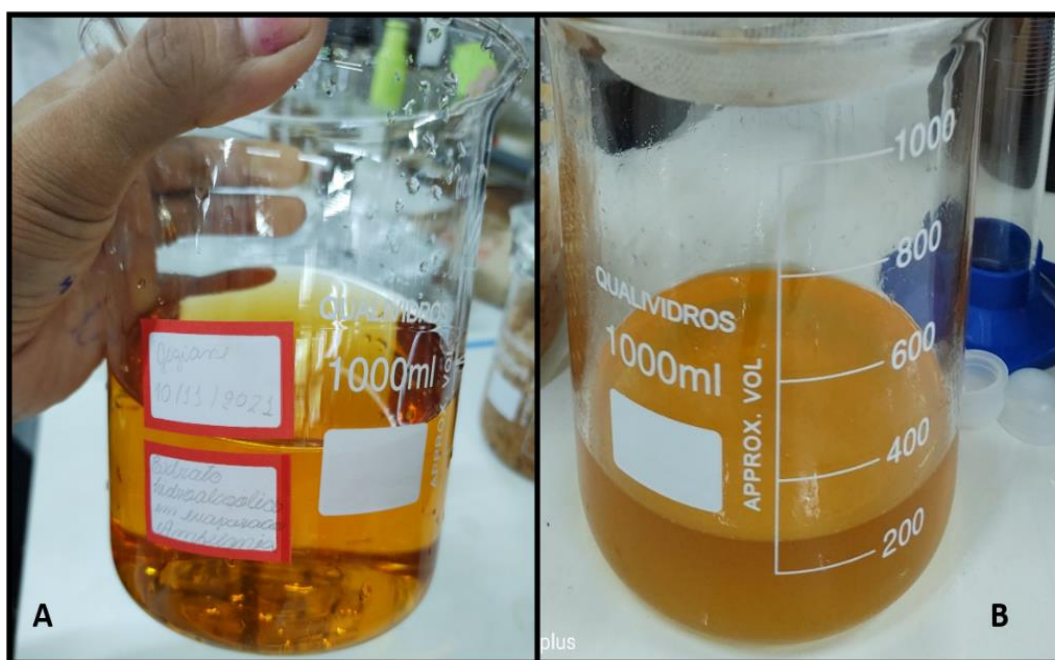


Fonte: Aurora, 2022

Na figura 16 abaixo, apresentamos os extratos filtrados sendo que o rendimento da porção hidroalcoólica foi de 600 ml no primeiro dia de extração da triplicata, de 500 ml no segundo dia e de 400ml no terceiro dia de coleta, totalizando 1,5l. Após a rotaevaporação o rendimento foi de 600ml de extrato. Quanto ao extrato aquoso,

verificamos que um rendimento total de 250ml obtido somente uma vez após o período de 24h maceração.

Figura 16: Extrato hidroalcoólico filtrado A). Extrato aquoso filtrado B).



Fonte: Autora, 2022

Em seguida, foi observado uma redução considerável no volume de ambos os extratos onde o rendimento total de mucilagem através do extrato hidroalcoólico por triplicata, após a rotaevaporação e a liofilização foi de 2,3g a cada 100ml. Quanto ao extrato aquoso o rendimento de mucilagem foi de 2,21g de cada 100 ml de extrato.

Com isso destacamos que o extrato hidroalcoólico obteve um rendimento maior que o aquoso. Os dados foram expostos na tabela 03 abaixo para melhor compreensão.

Tabela 03 - Rendimento da mucilagem obtida de extrato hidroalcoólico e extrato aquoso da polpa do pepino do mato

	<b>Peso da polpa (g)</b>	<b>Quantidade de extrato obtido (ml)</b>	<b>Total de mucilagem obtida (g)</b>
<b>EAA</b>	500	250	5,52
<b>EHA</b>	500	600	13,8

Fonte: Autora, 2022

Vale salientar que os rendimentos de mucilagem poderão sofrer variações de acordo com suas características físicas, já que o estágio fisiológico dos frutos influenciará diretamente na sua composição. As proporções da água a temperatura também são fatores influenciadores no rendimento total de mucilagem (ANDRADE, 2013).

### 5.3.2 Aspectos dos extratos

Conforme observamos na figura 16, o extrato hidroalcoólico apresentou um aspecto cristalino de cor amarelo alaranjado vibrante, enquanto o extrato aquoso é da cor amarelo opaco e turvo.

Após 24h, observamos que o extrato hidroalcoólico iniciou um processo de precipitação. Na figura 17 B, observamos um extrato recém coletado no segundo dia de triplicata, com aspecto cristalino de cor amarela claro vibrante. Ainda na figura 17 B, vemos o extrato coletado no dia anterior apresentando vários grânulos precipitados.

Figura 17: Coagulação do extrato hidroalcoólico filtrado.



Fonte: Autora, 2022

Após a rotaevaporação e liofilização do extrato hidroalcoólico, o aspecto resultante é de um açúcar mascavo, porém, ao ser exposto por alguns minutos ao



ar livre e com o calor do manuseio ele começa a derreter levemente e fica aparentando um mel bem pegajoso. Conforme observamos na figura 18.

Figura 18: Mucilagem de EHA obtida após a liofilização A). Início do processo de derretimento B)



Fonte: Autora, 2022

O extrato aquoso apresenta aspecto de um mel cristalizado que se liquefaz levemente com manuseio e a exposição ao ar. Figura 15.

Figura 19: Mucilagem de EAA obtida após a liofilização A). Início do processo de derretimento B).



Fonte: Autora, 2022

Com isso, enfatizamos que este material biológico apresenta um derretimento em ambos os extratos ao ser exposto a qualquer grau de calor.

#### 5.4 Características químicas

Estão sendo analisados os seguintes extratos: Extrato etanólico de *Ambelania acida* e Extrato aquoso de *Ambelania acida*, provenientes da mucilagem presentes no fruto.

As técnicas escolhidas para avaliar o perfil dos extratos a fim de verificar os principais compostos presentes nos mesmos foram o TPC, FRAP, ORAC, DPPH, ABTS e o HPLC acoplado a espectrometria de massas.

##### 5.4.1 Análises de TPC, FRAP, ORAC, DPPH e ABTS.

Nos organismos vivos então presentes inúmeros radicais livres, e cada um atua de forma diferente. Com isso, se torna muito difícil a utilização de apenas um método para a quantificação de antioxidantes nas espécies. Tendo isso em vista, para verificar o potencial antioxidante do pepino do mato foram realizados análises de TPC, FRAP, ORAC, DPPH e ABTS, e os resultados estão expressos na tabela 03.

Tabela 04 – Resultados das análises de TPC, FRAP, ORAC, DPPH e ABTS.

Amostra	TPC (mg EAG/ g ± dp)	FRAP (μmol FeSO <sub>4</sub> /g ± dp)	ORAC (μmol Trolox/g ± dp)	DPPH (μmol Trolox/g ± dp)	ABTS (μM Trolox/g ± dp)
Extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i>	164,59 ± 9,63	0,733 ± 0,011	123,52 ± 70,02	1221,76 ± 71,92	3460,00 ± 385,75
Extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i>	72,64 ± 3,32	0,483 ± 0,003	110,86 ± 70,31	674,17 ± 7,64	2880,00 ± 261,53

Fonte: Autora, 2022

- **TPC**

As principais fontes de compostos fenólicos são as frutas e as plantas, onde se encontram os principais metabolitos secundários. Possuem atividades anti-inflamatórias e antioxidante capazes de agir no controle de radicais livres, com isso, é capaz de prevenir doenças, uma vez que os radicais livres produzidos pelo organismo. Esses compostos têm função fisiológica, mas, podem ser produzidos desordenadamente devido a alguns fatores externos como raios ultravioletas, poluição ambiental, substâncias químicas presentes os alimentos e até mesmo o estresse. (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Quanto ao pepino do mato, verificamos os resultados das análises do extrato etanólico revelaram um número maior de TPC que os analisados com extrato aquoso. Porém, ao serem comparados aos valores de outras frutas populares, ambos apresentam números significativos.

Tabela 05– Comparação de TPC do pepino do mato com algumas frutas tropicais.

<b>Fruta</b>	<b>TPC (mg EAG/ g ± dp)</b>	<b>Referências</b>
<b>Pepino do mato (extrato etanólico)</b>	164,59 ± 9,63 mg.100g <sup>-1</sup>	Autora, 2022.
<b>Pepino do mato (extrato aquoso)</b>	72,64 ± 3,32 mg.100g <sup>-1</sup>	
<b>Maçã</b>	321±474 mg.100g <sup>-1</sup>	Kuskoskl, 2006.
<b>Pera</b>	271±408 mg.100g <sup>-1</sup>	
<b>Açaí</b>	136,8 mg.100g <sup>-1</sup>	
<b>Goiaba</b>	83,0 mg.100g <sup>-1</sup>	
<b>Graviola</b>	84,3 mg.100g <sup>-1</sup>	
<b>Maracujá</b>	20,0 mg.100g <sup>-1</sup>	
<b>Caju</b>	159 ± 3c mg.100g <sup>-1</sup>	

- **FRAP**

Em relação a atividades oxidativas, é possível através do método usado, FRAP, quantificarmos a capacidade de redução do complexo Fe(III)-TPTZ, e de acordo com a tabela 03, novamente o extrato hidroalcoólico se apresentou um número maior que o aquoso. Embora os resultados não tenham sido expressivos comparado aos padrões, ainda assim possuem ação oxidativa no organismo.

- **ABTS**

Os resultados das análises da atividade antioxidante pelo método ABTS foram expressos como capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (valores TEAC). Constata-se, a partir da tabela 03, que, assim como no teste antioxidante por outros métodos, o extrato da polpa de pepino do mato apresentou a mais elevada capacidade antioxidante, com valores TEAC de  $3460,00 \pm 385,75$  mM Trolox/g para os extratos hidroalcoólicos que o aquoso com TEAC de  $2880,00 \pm 261,53$  mM Trolox/g.

- **ORAC e DPPH**

O ORAC é o método que mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil que foram gerados por uma fonte radicalar. Já o DPPH, realiza a captura do radical DPPH por antioxidantes e desta forma reduz o composto e conseqüentemente diminui a Abs da solução. Nas análises dos extratos hidroalcoólico e aquoso do pepino do mato, esses métodos se mostraram eficientes na quantificação dos resultados. Em comparação com algumas frutas tropicais, tabela 05, esses resultados apresentam um potencial relevante.

Tabela 06 – Comparação dos resultados de ORAC e DPPH do pepino do mato com algumas frutas tropicais.

AMOSTRA	ORAC	DPPH
PEPINO-DO-MATO (EEA)	123,52 ± 70,02	1.221,76 ± 71,92
PEPINO-DO-MATO (EAA)	110,86 ± 70,31	674,17 ± 7,64
BACURI	119 ± 10 <sup>a</sup>	15 ± 1 <sup>a</sup>
TUCUMÃ	215 ± 10 <sup>b</sup>	131 ± 9 <sup>b</sup>
CUPUAÇU	110 ± 3 <sup>ac</sup>	19 ± 1 <sup>a</sup>
GRAVIOLA	156 ± 7 <sup>d</sup>	26 ± 1 <sup>a</sup>
BURITI	82 ± 9 <sup>e</sup>	19 ± 1 <sup>a</sup>
UIXI	137 ± 10 <sup>ad</sup>	141 ± 5 <sup>b</sup>
ARAÇÁ	159 ± 12 <sup>d</sup>	16 ± 1 <sup>a</sup>
TAMARINDO	114 ± 10 <sup>ae</sup>	21 ± 2 <sup>a</sup>
MARACUJÁ	172 ± 6 <sup>d</sup>	22 ± 2 <sup>a</sup>
CARAMBOLA	173 ± 12 <sup>d</sup>	53 ± 5 <sup>c</sup>
CAMU-CAMU	790 ± 45 <sup>f</sup>	1.439 ± 25 <sup>d</sup>
MANÁ CUBÍU	320 ± 14 <sup>g</sup>	54 ± 5 <sup>c</sup>
ABIU	136 ± 11 <sup>ad</sup>	69 ± 2 <sup>c</sup>
ARAÇÃ-BOI	181 ± 1 <sup>d</sup>	47 ± 4 <sup>c</sup>

#### 5.4.2 Análise de UHPLC-MS

Os extratos foram analisados no espectrômetro de massas nas mesmas condições, com ionização electrospray no modo negativo e positivo. Os códigos das amostras estão exibidos no Quadro 05 abaixo.

Quadro 05 – Código das amostras para análise de HPLC.

Código	Amostra
5G	Extrato etanólico de <i>Ambelania acida</i> (pepino do mato)
6G	Extrato aquoso de <i>Ambelania acida</i> (pepino do mato)

Com isso, os espectros apresentam dados sobre a composição química do pepino do mato.

### Amostra 5G – Modo negativo de ionização

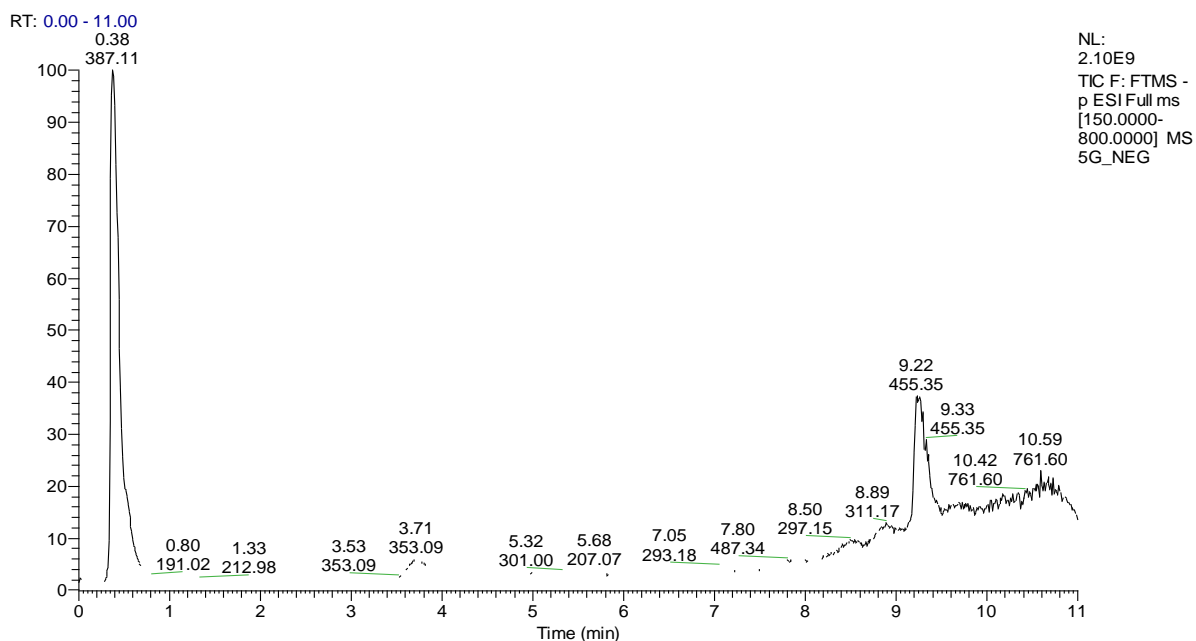
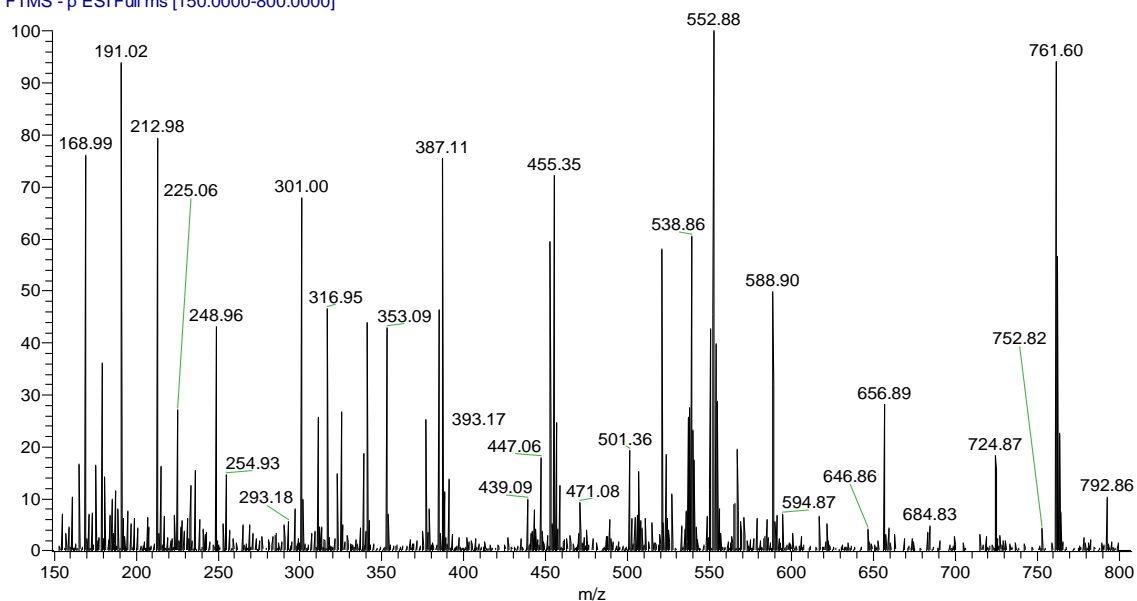
Figura 20 : Cromatograma da amostra do extrato etanólico de *Ambelania acida*.

Figura 21 – Espectro de massas full scan do extrato etanólico de *Ambelania acida* no modo negativo de ionização.

5G\_NEG #30-4300 RT: 0.08-11.00 AV: 1416 NL: 2.65E6  
T: FTMS - p ESI Full ms [150.0000-800.0000]



### Amostra 6G – Modo negativo de ionização

Figura 22 – Cromatograma da amostra do extrato aquoso de *Ambelania acida*.

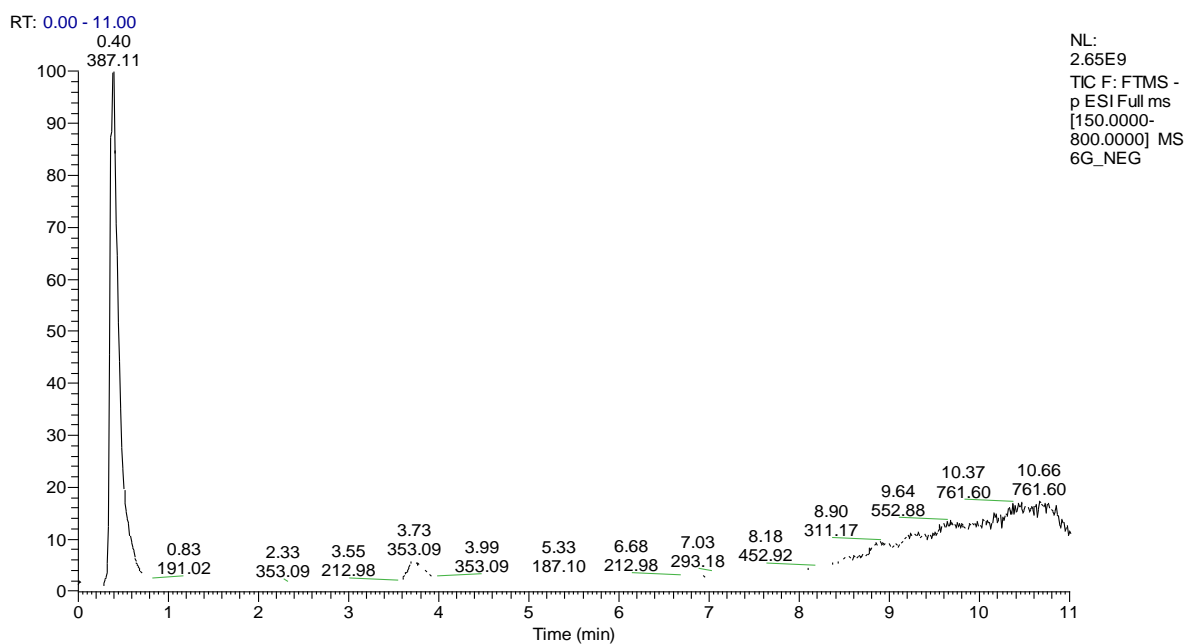
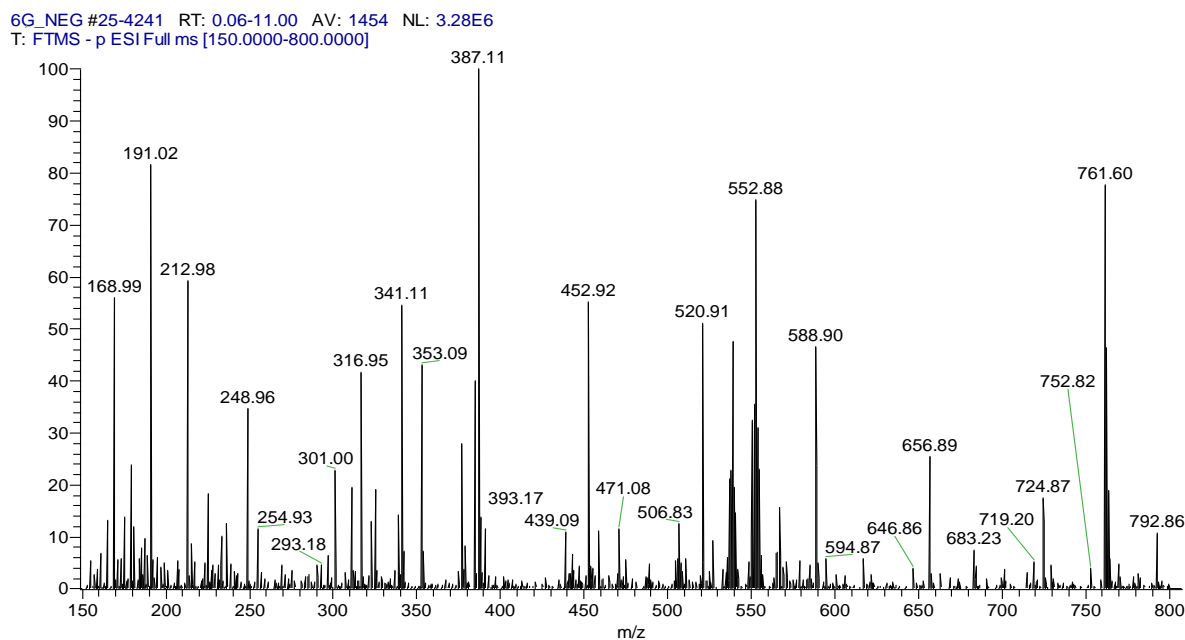


Figura 23 – Espectro de massas full scan do extrato aquoso de *Ambelania acida* no modo negativo de ionização.



Por meio dos cromatogramas e dos espectros de massa realizados por CLAE-EM foi possível identificar as estruturas presentes nas tabelas 1 e 2.

Tabela 07 – Íons detectados no extrato etanólico de *Ambelania acida* no modo negativo de ionização.

Íon ESI -	MS <sup>2</sup> modo -	Substância	Parte do fruto	Referências
169	125	Ácido gálico	-	Sun et al., 2007
191	111, 87	Ácido cítrico	-	Silva et al., 2019 Bastos et al., 2007
289	245, 205, 203, 179	Catequina	relatado nas cascas e na polpa de <i>Ambelania duckei</i> ,	Corrêa et al., 2023; Llorent-Martínez et al., 2017.
301	257, 229 e 185	Ácido elágico	-	Chisté & Mercadante, 2012).
353	191, 179 e 173	Ácido clorogênico	relatado nas cascas e na polpa de <i>Ambelania duckei</i> ,	Willems et al., 2016; Corrêa et al., 2023).
387	341, 179, 161	Sucrose	-	Valgimigli et al., 2012



Tabela 08 – Íons detectados no extrato aquoso de *Ambelania acidam* no modo negativo de ionização.

Íon ESI -	MS <sup>2</sup> modo -	Substância	Parte do fruto	Referências
169	125	Ácido gálico	-	Sun et al., 2007
191	111, 87	Ácido cítrico	-	Silva et al., 2019
301	257, 229 e 185	Ácido elágico	-	Chisté & Mercadante, 2012.
353	191, 179 e 173	Ácido clorogênico	relatado nas cascas e na polpa de <i>Ambelania duckei</i> ,	Willems et al., 2016; Corrêa et al., 2023
387	341, 179, 161	Sucrose	-	Valgimigli et al., 2012

- Íon 169 *m/z*

O íon 169 *m/z* foi detectado em ambos os extratos de *Ambelania acida* e pode ser associado ao ácido gálico. A estrutura foi confirmada pelo fragmento 125 *m/z*, observado no espectro, que pode ser associado à perda de CO<sub>2</sub> (44 Da) (Sun et al., 2007).

Figura 24 – Estrutura do ácido gálico.

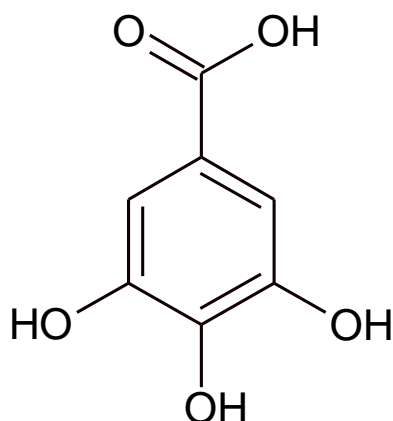


Figura 25 – Espectro de massa do íon 169  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida*.

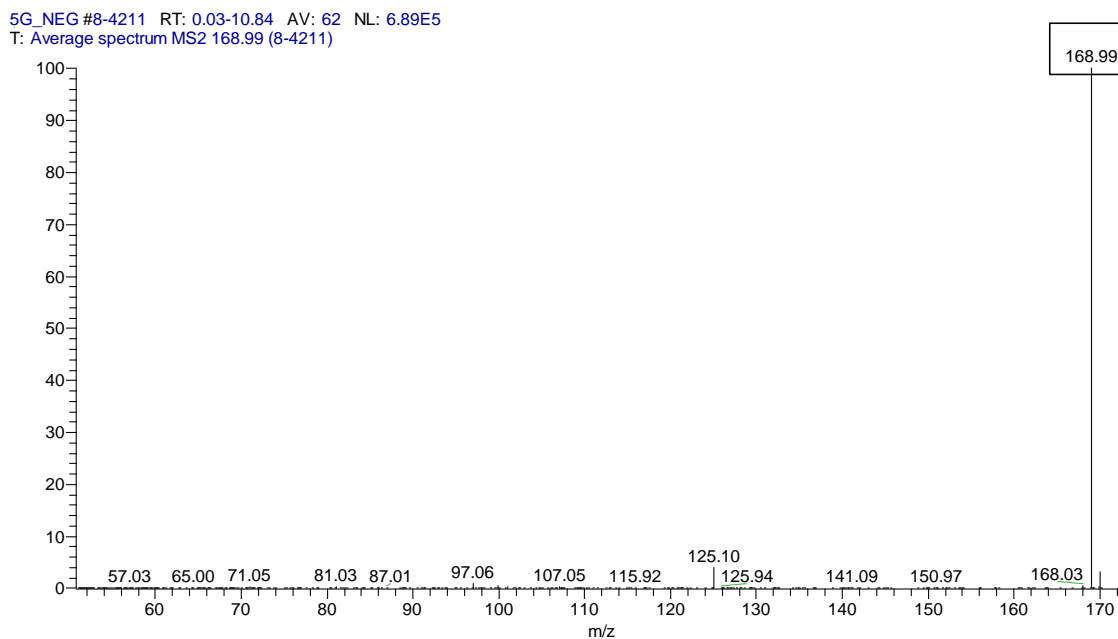
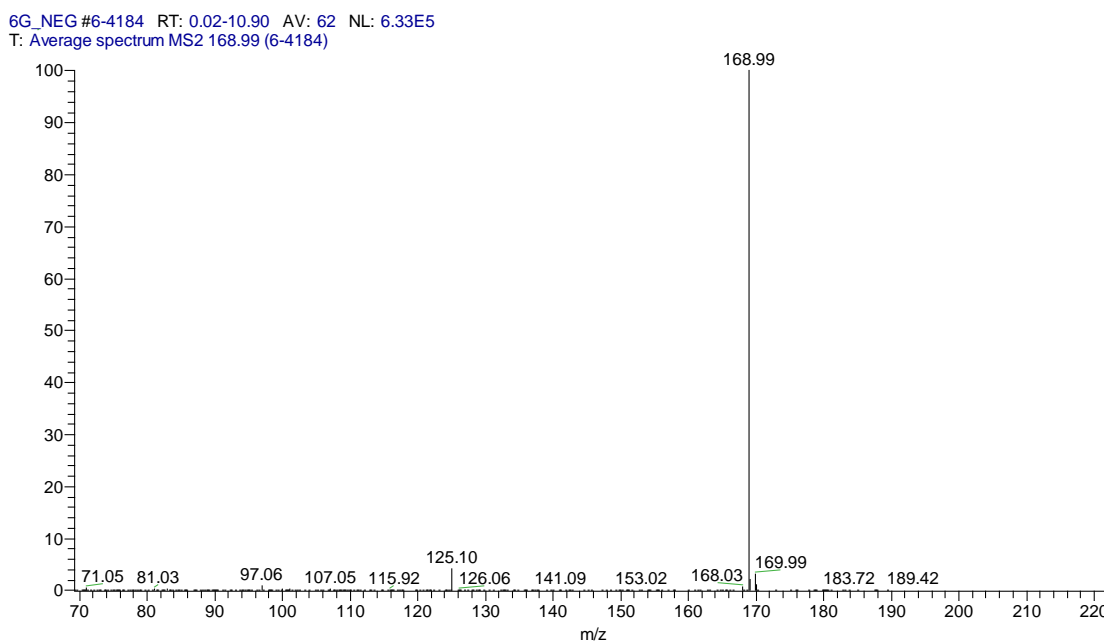


Figura 26 – Espectro de massa do íon 169  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato aquoso de *Ambelania acida*.



Os AG são compostos fenólicos são derivados do metabolismo secundário das plantas e podem ser encontrados em várias partes do vegetal, a maior porcentagem

deriva do metabolismo da glicose por diferentes reações bioquímicas (SIMÕES et al., 2003). Caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um agrupamento carboxílico e um ou mais grupamentos hidroxila ou metoxila na molécula. (KERRY & ABBEY, 1997; BRAVO, 1998; CROFT, 1998).

São atribuídas a esses compostos, algumas atividades biológicas como as atividades anti-inflamatórias e antibiótica, a proteção cardiovascular, anticâncer e antioxidante (SALAS, et al., 2013) e pode ser eficiente também, na ação da citotoxicidade contra uma variedade de tumores celulares (OHNO et al, 1990;). Inclusive há estudos que demonstram que alguns derivados de ácido gálico, como os galatos, podem inibir a cadeia respiratória do parasita *Trypanosoma cruzi* (LETELIER et al 1990).

As principais aplicações dos AG se destacam na indústria farmacêutica, com fabricação de antibióticos de amplo espectro como trimetoprima. Porém, há também um emergente foco na área de alimentação, pois, no organismo, o mesmo apresenta-se como um antioxidante e como aditivo em algumas bebidas e alimentos, evitando a sua oxidação (HOCMAN, 1988).

- **Íon 191  $m/z$**

O íon 191  $m/z$  foi detectado em ambos os extratos de *Ambelania acida* e pode ser associado ao ácido cítrico. A estrutura foi confirmada pelo fragmento 111 e 85  $m/z$ , observado no espectro (Silva et al., 2019).

Figura 27 – Estrutura do ácido cítrico.

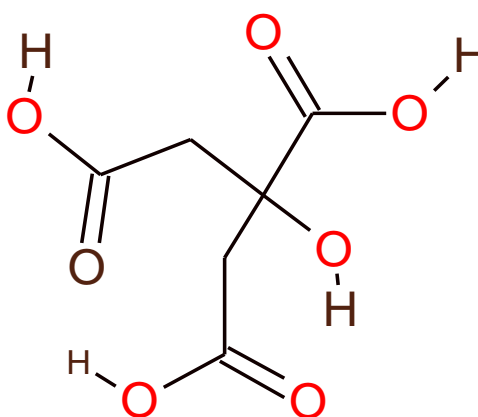


Figura 28 – Espectro de massa do íon 191  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida*.

5G\_NEG #10-1987 RT: 0.03-6.10 AV: 39 NL: 5.80E6  
T: Average spectrum MS2 190.93 (10-1987)

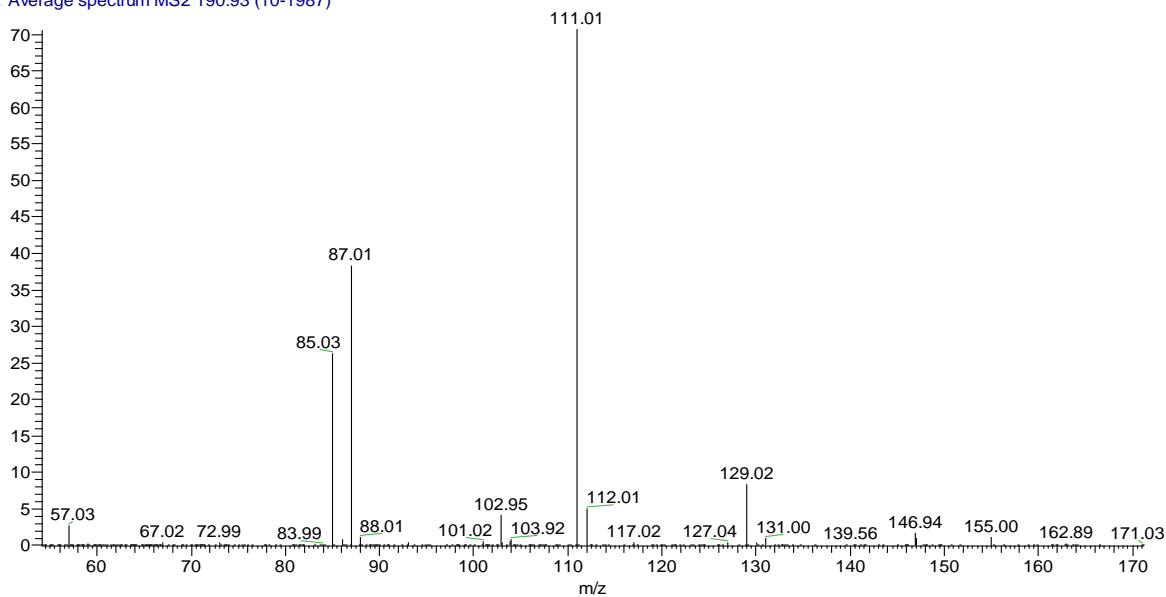
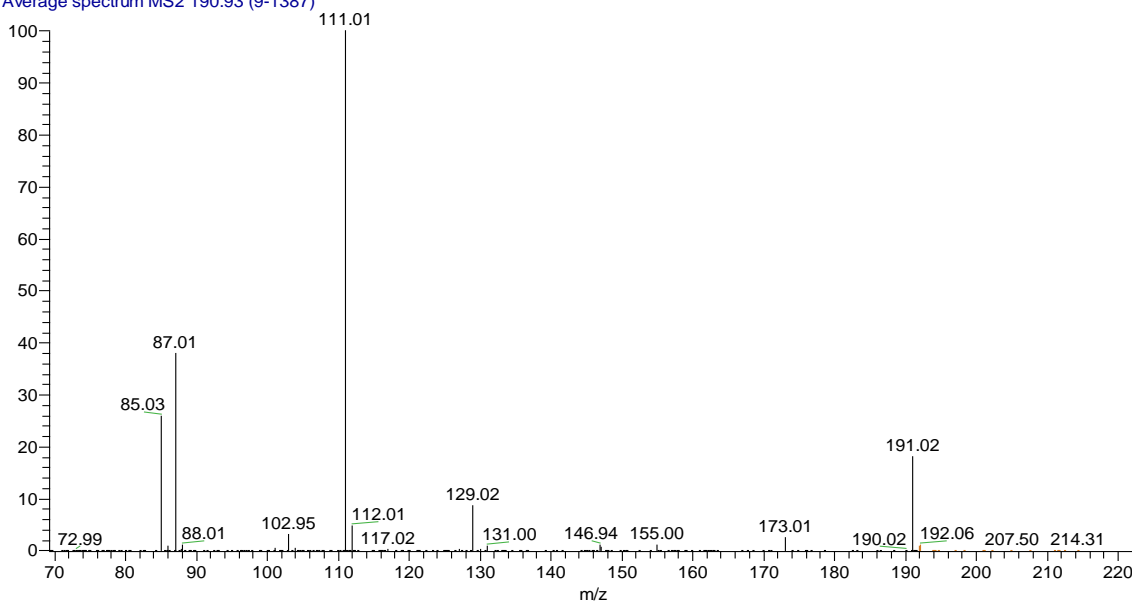


Figura 29 – Espectro de massa do íon 191  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato aquoso de *Ambelania acida*.

6G\_NEG #9-1387 RT: 0.03-4.28 AV: 40 NL: 8.23E6  
T: Average spectrum MS2 190.93 (9-1387)



Trata-se de um ácido comumente encontrado em frutas, principalmente nas cítricas. No entanto, a maior parte da sua comercialização provém da fermentação, sendo a minoria de extração dos citrinos. Ele é o responsável pela acidez de frutas

cítricas. Na indústria, o ácido cítrico é fabricado pela fermentação aeróbica do açúcar bruto (sacarose) ou açúcar de milho (dextrose) por uma casta especial de *Aspergillus niger* (FIORUCCI, et al, 2002).

É empregado principalmente no setor alimentício *em bebidas carbonatadas* e como conservante de alimentos, e na prevenção e a proliferação de microorganismos devido ao seu poder antioxidante. É utilizado como estabilizante nos laticínios; ajuda na manutenção do pH ideal de doces; realça o sabor dos refrigerantes; *no campo médico, é empregado na fabricação de citratos e de sais lefervescentes* (Shreve e Brink, 1980) (FIORUCCI, et al, 2002).

- **Íon 289  $m/z$**

O íon 289  $m/z$  foi detectado apenas no extrato etanólico de *Ambelania acida* e pode ser associado ao favonoide catequina. A estrutura foi confirmada pelo fragmento 245, 205, 203 e 179  $m/z$  (Llorent-Martínez et al., 2017). Essa estrutura já foi descrita na polpa e nas cascas dos estratos de *Ambelania duckei* (CORRÊA et al., 2023).

Figura 30 – Estrutura da catequina

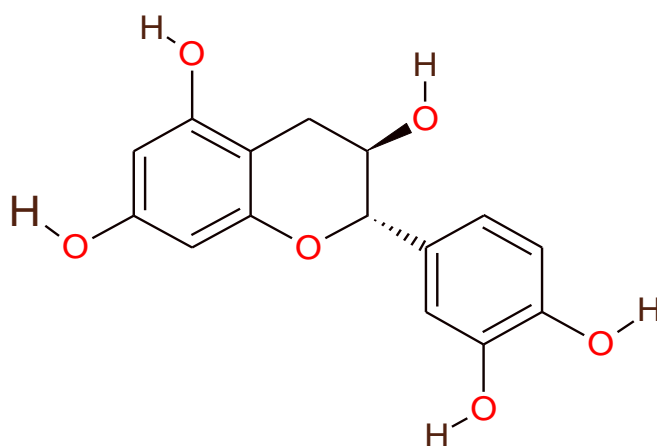
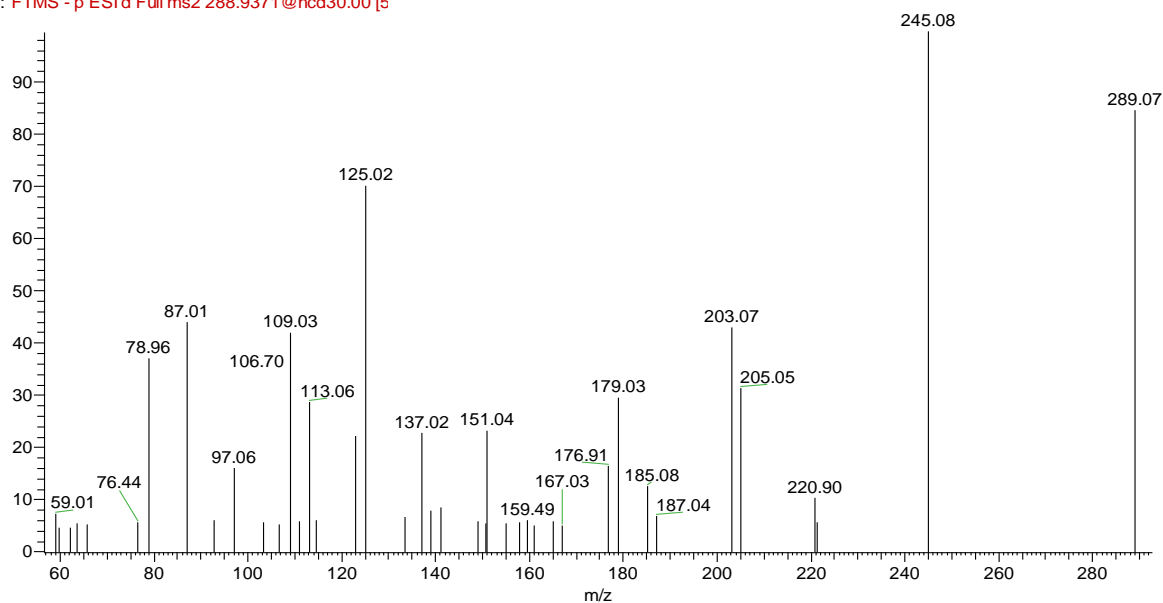


Figura 31 – Espectro de massa do íon 289  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida*.

5G\_NEG #464-2314 RT: 3.94-4.11 AV: 2 NL: 2.78E4  
F: FTMS - p ESI d Full ms2 288.9371@hcd30.00 [5]



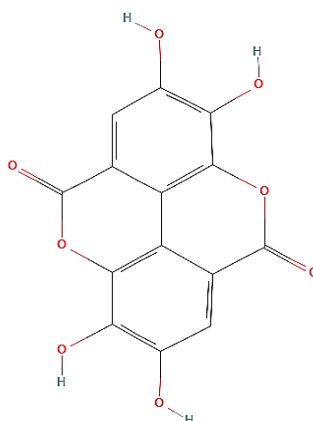
A catequina é um fitonutriente do grupo dos polifenóis e apresenta uma forte ação antioxidante. Inclui em sua composição epicatequinas (EC), epicatequinas gallate (ECG), epigallocatequina (EGC) e epigallocatequina galato (EGCG) (LAMARAO E FILHO. 2009).

Há aplicabilidade de catequina na indústria farmacêutica devido à redução de gordura que a mesma apresenta no organismo, alguns tipos com grande eficácia e outras com um pouco menos ação (SOUZA, et al, 2002).

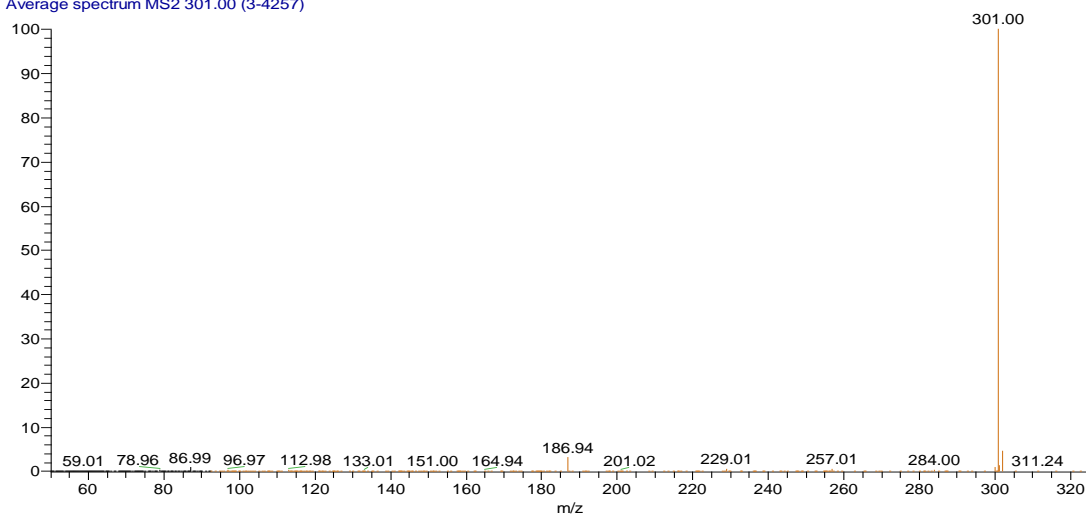
- **Íon 301  $m/z$**

O íon 301  $m/z$  foi detectado em ambos os extratos de *Ambelania acida* e pode ser associado ao ácido elágico. O espectro de fragmentação do íon 301  $m/z$  gerou os íons 257, 229 e 185; o íon 257  $m/z$  pode ser relacionado à perda do grupo  $\text{CO}_2$  (44 Da), o íon 229  $m/z$  pode ser associado à perda de CO (28 Da) e o íon 185  $m/z$  pode ser associado à perda de  $\text{CO}_2$  (44 Da) (SUN et al., 2007; CHISTÉ & MERCADANTE, 2012).

Figura 32 – Estrutura do ácido elágico

. Figura 33 – Espectro de massa do íon 301  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida*.

5G\_NEG #3-4257 RT: 0.02-10.92 AV: 51 NL: 1.13E6  
T: Average spectrum MS2 301.00 (3-4257)

Figura 34 – Espectro de massa do íon 301  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida* (espectro com zoom).

5G\_NEG #3-4257 RT: 0.02-10.92 AV: 51 NL: 1.13E6  
T: Average spectrum MS2 301.00 (3-4257)

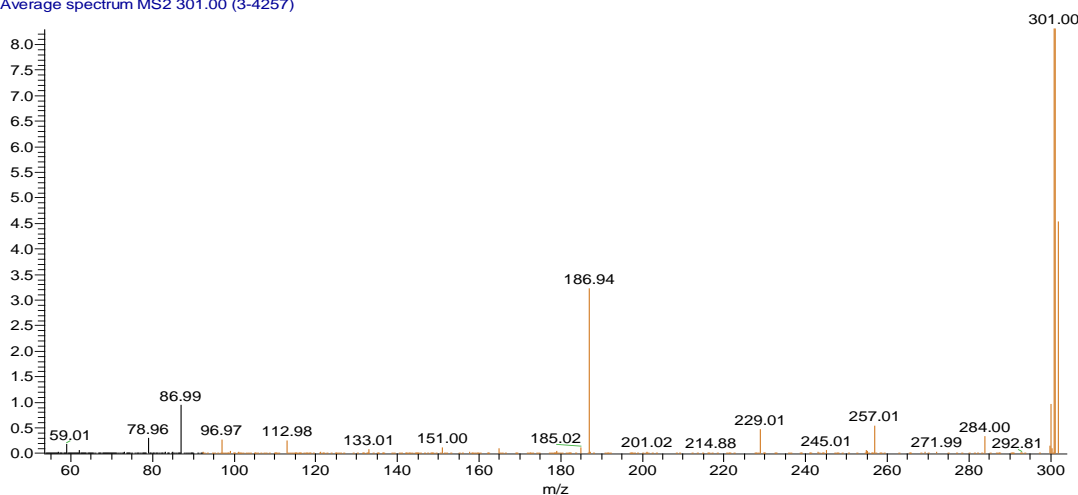


Figura 35 – Espectro de massa do íon 301  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato aquoso de *Ambelania acida*.

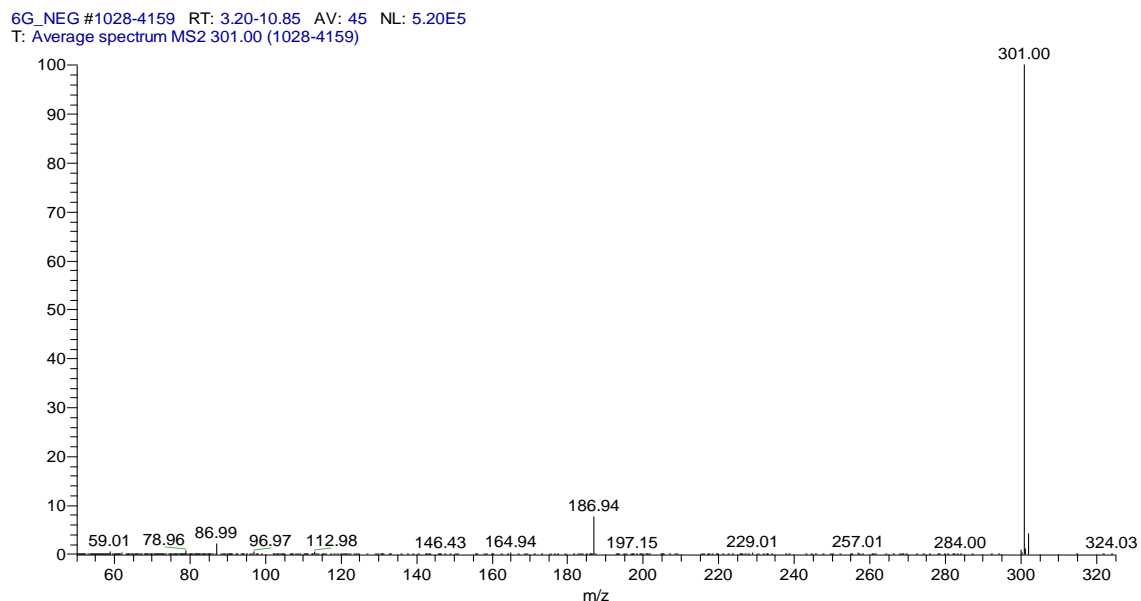
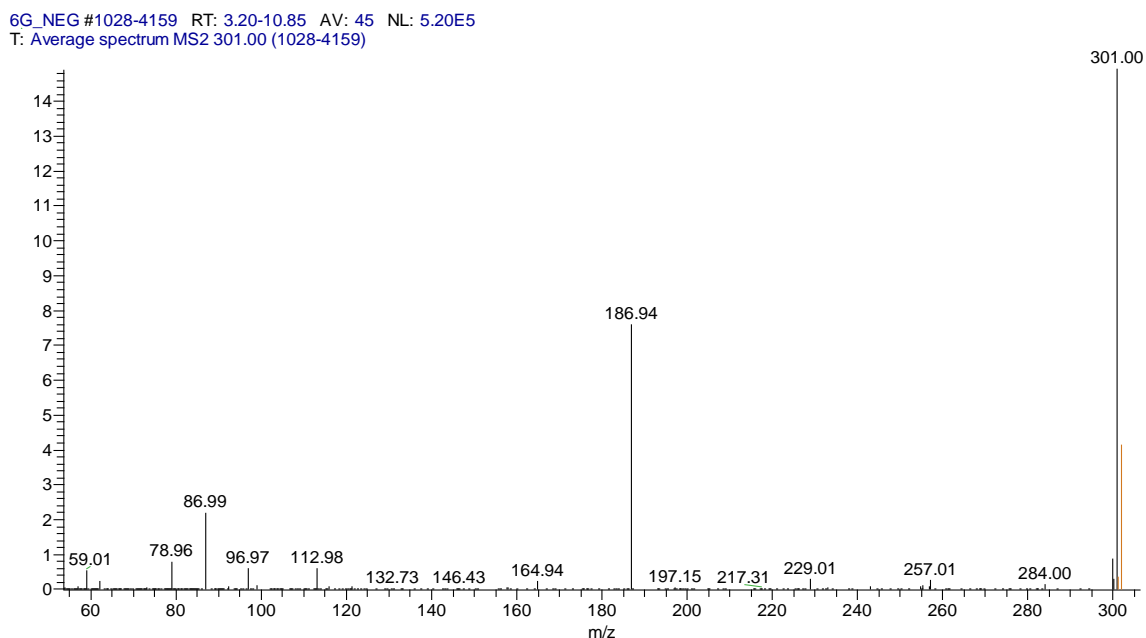


Figura 36 – Espectro de massa do íon 301  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato aquoso de *Ambelania acida* (espectro com zoom).



O ácido elágico é um bifenol do grupo dos taninos hidrolisáveis, sendo uma molécula plana com quatro grupos hidroxila e dois grupos lactona (BARCH et al., 1996). O AE é formado espontaneamente da lactonização do ácido



hexahidroxidifênico liberado através da hidrólise sofrida pelos elagitaninos. (BATE-SMITH, 1972, HANDIQUE et al., 2002; HÄKKINEN et al, 2000).

A ação do AE foi observada em estudos que apontaram atividades antimutagênica, anticarcinogênica e antioxidante in vivo e in vitro (TAKAGI et al., 1995; KHANDUJA et al., 1999). Esse ácido se mostrou capaz de minimizar significativamente a indução de células cancerígenas, além de possuir efeito anticarcinogênico e antimutagênico a alguns carcinógenos (SZAEFER et al., 2003).

- **Íon 353  $m/z$**

O íon 353  $m/z$  pode ser associado ao ácido clorogênico que já foi relatado nas cascas e na polpa de *Ambelania duckei*, sendo encontrada majoritariamente na polpa. O espectro de fragmentação do íon 353  $m/z$  gerou os íons 191, 179 e 173; o íon 191  $m/z$  pode ser relacionado ao ácido quínico, gerado pela quebra da ligação éster, que é o íon mais abundante para os isômeros de ácido clorogênico. O íon 173  $m/z$  pode ser associado à perda do grupo  $H_2O$  (18 Da) do ácido quínico. O íon 179  $m/z$  pode ser associado ao ácido cafeico (WILLEMS et al., 2016; CORRÊA et al., 2023).

Figura 37 – Estrutura do ácido clorogênico.

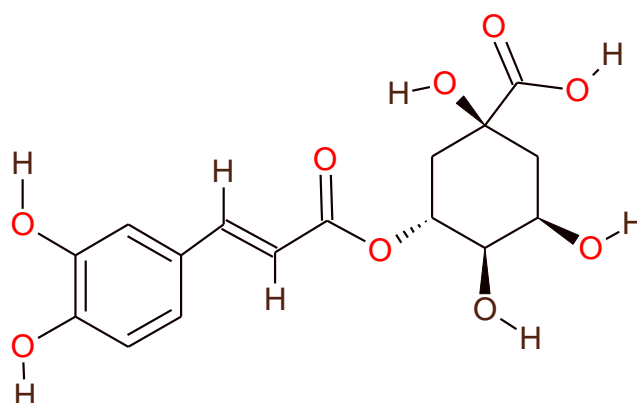


Figura 38 – Espectro de massa do íon 353  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida*.

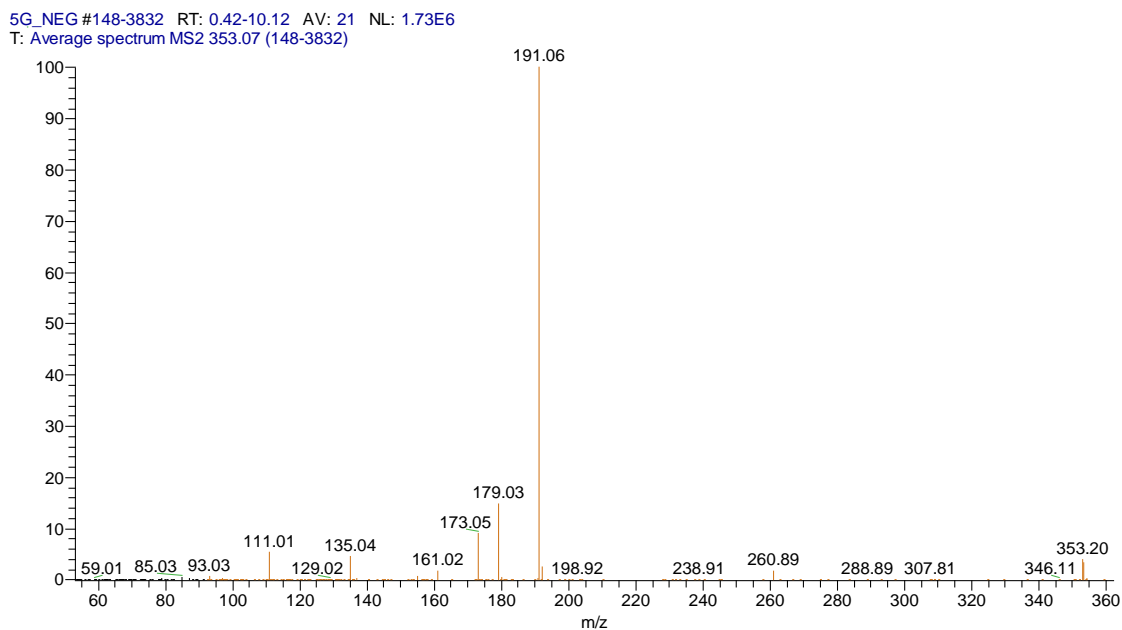
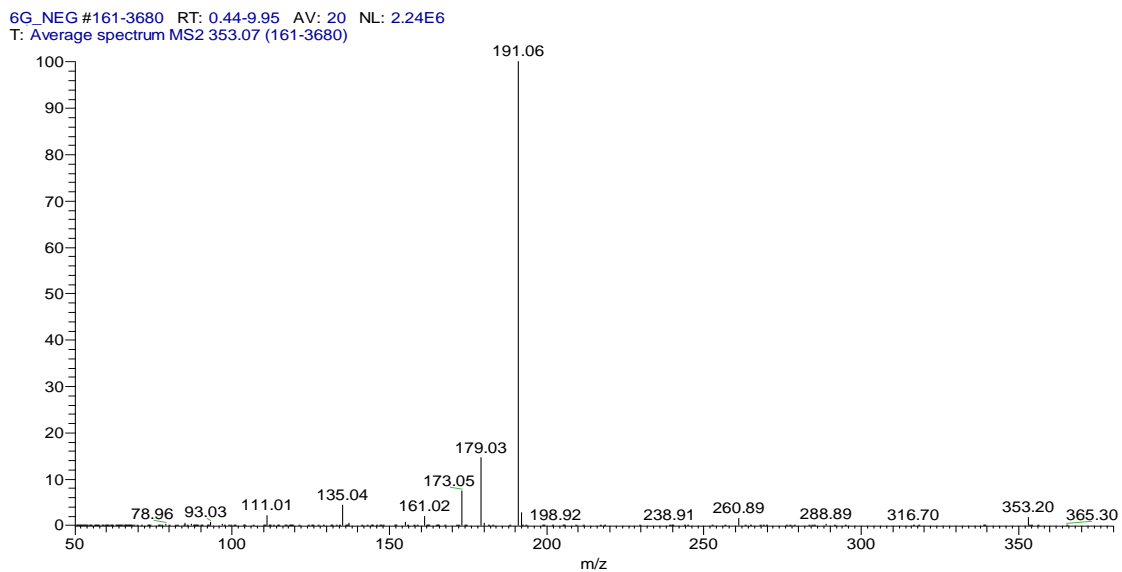


Figura 39 – Espectro de massa do íon 353  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato aquoso de *Ambelania acida*.



O ácido clorogênico, é um composto fitoquímico derivado da interação entre o cloreto férrico e o ácido cafeico. O ACG apresenta benefícios na regulação da

glicemia, do colesterol, no controle da pressão arterial. (GARAMBONE e ROSA, 2007).

De acordo com Caranbone e Rosa (2007), os ácidos clorogênicos incluem-se entre os mais encontrados em alimentos como café, frutas cítricas, frutas silvestres, entre outras. O mais comum dos ácidos clorogênicos e o mais estudado dos fenóis dietéticos biologicamente ativos é o 5-cafeolquinico.

- **Íon 387m/z**

O íon 387  $m/z$  pode ser associado ao aduto da sucrose  $[M+HCOO]^-$ , que é um açúcar presente nas frutas, destacando-se por ser o pico mais abundante nos cromatogramas do extrato etanólico e aquoso. O espectro de fragmentação  $ms^2$  do íon 387  $m/z$  gerou os íons 341, 179 e 161; o íon 341  $m/z$  pode ser relacionado ao íon da sucrose após a perda do aduto (46 Da); os íons 179 e 161 são característicos da clivagem da sucrose (VALGIMIGLI, et al., 2012).

Figura 40 – Estrutura da sucrose.

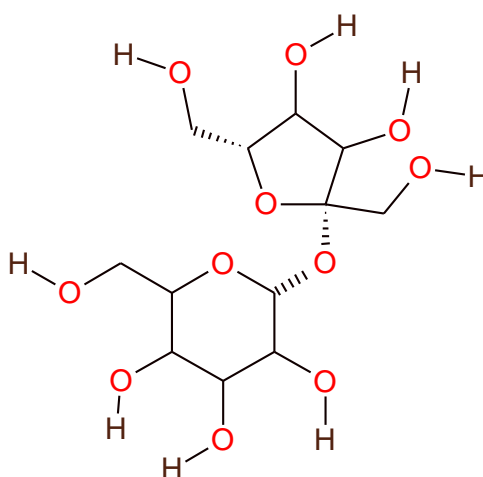


Figura 41 – Espectro de massa do íon 387  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato etanólico de *Ambelania acida* (espectro com zoom).

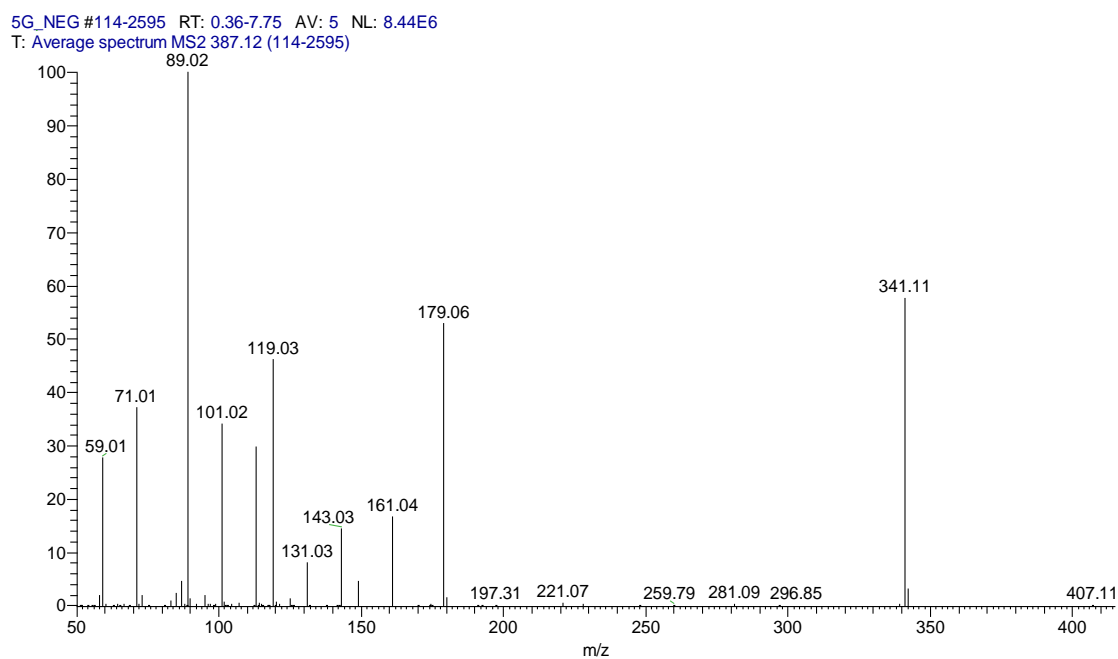
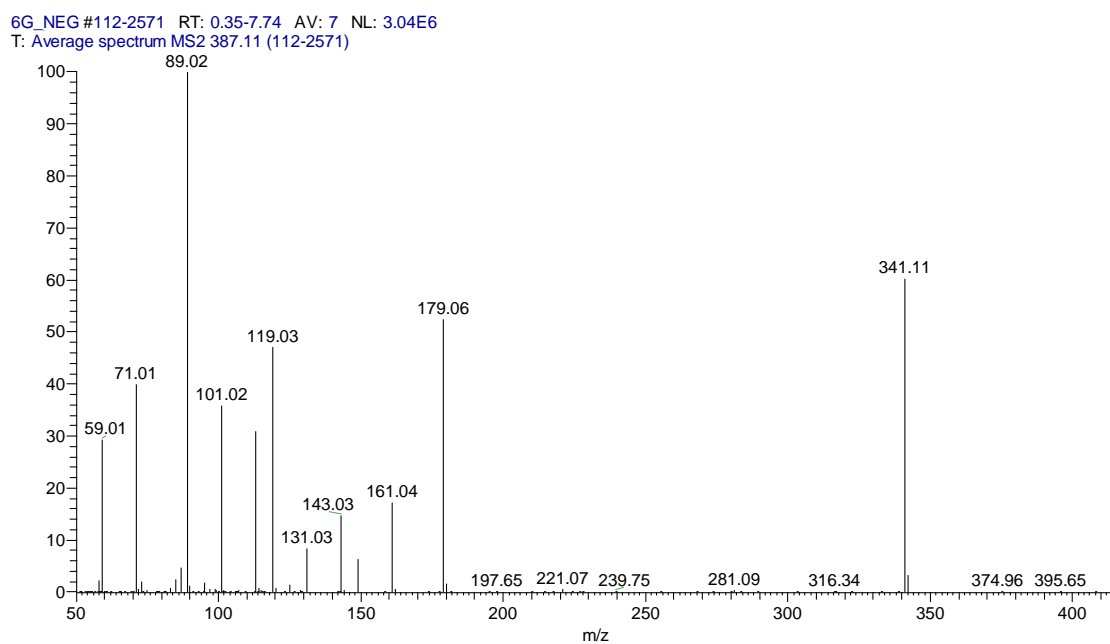


Figura 42– Espectro de massa do íon 387  $m/z$  modo negativo de ionização do extrato aquoso de *Ambelania acida* (espectro com zoom).



A sucrose ou sacarose, é um dissacarídeo hidrossolúvel resultante da ligação glicosídica de dois monossacarídeos, ele controla alguns processos metabólicos das plantas. A sacarose pode estimular os genes que codificam a ADP-glicose pirofosforilase (AGPase), a amido sintase I ligada aos grânulos e a UDP-glicose pirofosforilase e promove a indução floral em inúmeras espécies. Influencia vários processos de crescimento, como a divisão celular, sínteses ribossômicas, entre outros. (YOON, et. al, 2020).

Esse dissacarídeo, conhecido como açúcar de mesa, pode se apresentar como açúcar refinado, cristal, mascavo, açúcar de confeitiro, invertido e líquido. Ele é extraído principalmente na cana e na beterraba. (CORDEIRO, et. al., 2022).

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

É notório que os avanços tecnológicos se destacam em vários setores da sociedade, havendo a necessidade acompanhá-la as pesquisas na área da ciência vêm sendo intensificadas seja na área dos cosméticos, da farmacologia, da medicina ou até mesmo na indústria de alimentos.

Em relação a *Ambelania acida*, enfatizamos que, por meio dos resultados dessa investigação, foi possível obter informações sobre as características físicas e botânicas do mesmo e a partir dos dados analisados neste trabalho concluímos que o pepineiro do mato é de fácil adaptação, podendo ser cultivado em todos os períodos do ano. Sendo a sua primeira frutificação dois anos após o plantio e permanecendo com sua produção de frutos o ano inteiro, os estudos e exploração do potencial biológico do pepino do mato podem ser considerados vantajosos.

Quanto a avaliação química, através da avaliação dos resultados conclui-se que esse fruto apresenta uma concentração de fenóis totais com potencial antioxidante, apresentando valores de substâncias relevantes como Ácido gálico, Ácido cítrico, Catequina, Ácido elágico, Ácido clorogênico, Sucrose, entre outras que são considerados bioativos e podendo ser usadas na produção de cosméticos.

Há também componentes importantes que, atualmente estão em foco na área farmacêutica, podendo ser exploradas como matéria prima. Destacamos inclusive, que o consumo da polpa pode ser realizado na forma in natura do fruto ou como suplemento alimentar, visto que, o mesmo possui em sua composição valor nutricional.

Enfim, a *Ambelania acida* apresenta um potencial considerável que merece investigações mais aprofundadas. Investimentos em pesquisas são formas sistematizadas, podem assegurar o futuro da ciência, identificando as fontes emergentes de matéria prima com potencial biotecnológico que, provavelmente, produzirão os maiores benefícios econômicos e sociais.

## 7. REFERÊNCIAS

AGUIAR, S.; 2003. Morfologia e ontogenia de frutos e sementes de espécies de Apocynaceae do cerrado do estado de São Paulo. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

ALLER, R.; DE LUIS, D. A.; IZAOLA, O.; LA CALLE, F.; DEL OLMO, L.; FERNANDEZ, L.; ARRANZ, T.; HERNANDEZ, J. M. Effect of soluble fiber intake in lipid and glucose levels in healthy subjects: a randomized clinical trial. *Diabetes Research and Clinical Practice*, v. 65, n. 1, p. 7-11, 2004.

AMARAL, L.; *Trabalhos práticos de química*. São Paulo: Nobel, 1996

*Ambelania* Aubl. in GBIF Secretariat (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2023-04-15.

ANDRADE, L. D.; *Plantas das caatingas*. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1989. 243p.

BASTOS, V. D.; *Biopolímeros e Polímeros de Matérias-Primas Renováveis Alternativas aos Petroquímicos*. *Revista do BNDES*, Rio de Janeiro, v. 14, n. 28, p. 201-234, dez. 2007.

BARCH, D.H., RUNDHAUGEN, LM., STONER, GD, PILLAY, N.S., ROSCHE, WA. Structure function relationships of the dietary anticarcinogen ellagic acid. *Carcinogenesis* 17(2): 265-269, 1996.

BATE-SMITH, EC.; Detection and determination of ellagitannins. *Phytochemistry*, 11.1153-1156, 1972.

BHATTACHARYA, S. N.; *Rheology: fundamentals and measurements*. Rheology and Materials Processing Centre. Royal Melbourne Institute of Technology, 1997.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Manual de laboratório de química de Alimentos*. São Paulo Livraria Varela, 2003.

BORSCHIEVER, S.; ALMEIDA, L.F.M.; ROITMAN, T. Monitoramento Tecnológico e Mercadológico de Biopolímeros. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.18, n. 3, p. 256-261, 2008.

BRANCO, N. B. C. *Mucilagem do Cladódio de Cereus hidmannianus K. Schum: Caracterização Física, Química e Reológica*. 2011. (Mestrado). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BRAVO L., Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, *Nutr. Rev.*, 56, 317–333, 1998.

BRITO, G. F.; AGRAWAL, P.; ARAUJO, E. M.; MELO, T. J. A. Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.6, n. 2, p.127-139, 2011.

CAI, W.; GU, X.; TANG, J. Extraction, purification, and characterization of the polysaccharides from *Opuntia milpa alta*. *Carbohydrate Polymers*, v. 71, n. 3, p. 403-410, 2008.

CÁRDENAS, A.; ARGUELLES, W. M.; GOYCOOLEA, F. M. On the Possible Role of *Opuntia ficus-indica* Mucilage in Lime Mortar Performance in the Protection of Historical Buildings. *Journal of the Professional Association for Catus Development*, v. 3, p. 1-8, 1998.

CAPITANI, M.I.; CORZO-RIOS, L.J.; CHEL-GUERRERO, L.A.; BETANCUR-ANCONA, D.A.; NOLASCO, S.M.; TOMÁS, M.C. Rheological properties of aqueous dispersions of chia (*Salvia hispanica* L.) mucilage. *Journal of Food Engineering*, v. 149, p. 70–77, 2015.

CAPITANI, M.I.; IXTAINA, V.Y.; SPOTORNO, V.; NOLASCO, S.M.; TOMÁS, M.C. Microstructure, chemical composition and mucilage exudation of chia (*Salvia hispanica* L.) nutlets from Argentina. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 93, p. 3856– 3862, 2013.

CASTRO LS, PERAZZO FF, MAISTRO EL. Genotoxicity testing of *Ambelania occidentalis* (Apocynaceae) leaf extract in vivo. *Genetics and Molecular Research*, v. 8, p. 440-447, 2009.

CECCHI, H.M.; *Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos*. Editora da UNICAMP, 2003.

CEVOLI, C. et al. Rheological characterisation of selected food hydrocolloids by traditional and simplified techniques. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 33, n 1. p. 142-150. Aug 2013.

CHISTÉ, R. C.; 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*, [S.L.], v. 60, n. 23, p. 5884-5892, 4 jun. 2012. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf301904f>.



COELHO, A. H. R. Qualidade pós-colheita de pêssegos. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.17, n.180, p. 31-39, 1994.

COLACASIA *esculenta* inhame-selvagem. Disponível em: <<http://www.plantamed.com.br>>. Acesso em: 15 dez. 2022.

COLE, R. B. Em *Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, and Applications*; Cole, R.B., ed.; John Wiley & Sons: New York, 1997, p. 12.

COLONETTI, C.V.; de 2012. Caracterização da mucilagem do fruto e cladódio de *Cereus hildmannianus* K. Schum. Dissertação (Engenharia Química)- Universidade Federal de Santa Catarina- Florianópolis.

CORREA, P. G.; MOURA, L. G. S.; AMARAL, A. C. F.; SOUZA, F. Ch. A.; AGUIAR, J. P. L.; ALELUIA, R. L.; SILVA, J. R. A.. Chemical and nutritional characterization of *Ambelania duckei* (Apocynaceae) an unexplored fruit from the Amazon region. *Food Research International*, [S.L.], v. 163, p. 112290, jan. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112290>.

CORNELIUS, M. T. F. Atividade Biológica e Identificação dos Constituintes Químicos das Isolados das Espécies Vegetais: *Plumeria lancifolia* MULL. ARG. (Apocynaceae) e *Solanum crinitum* LAM. (Solanaceae) e Identificação da Acetanilida Exsudada por *Xenohyla truncata* (Izecksohn, 1998). 2006, 117f. Tese de Doutorado, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006.

COVIELLO, T.; MATRICARDI, P.; MARIANECCI, C.; ALHAIQUE, F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *Journal of Controlled Release*, v. 119, n. 1, p. 5-24, 2007.

COSTA, S. L. A. et al. Mapeamento Tecnológico do Processo de Obtenção do PHB através da Análise de Patentes. *Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias*, v. 3, n. 2, p. 055-069, 2013.

CROFT, K.D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Annals of the New York Academy of Science*, New York, v.854, p.435-442, 1998.

DEMARCO, d. 2005. Estruturas secretoras florais e coléteres foliares em espécies de cerrado de *Aspidosperma* Mart. e *Blepharodon decne* (apocynaceae s.l.). Tese de mestrado, universidade estadual de campinas, campinas.

DHINGRA, D.; MICHAEL, M.; RAJPUT, H.; PATIL, R.T. Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, v. 49, n. 3, p. 255–266, 2012.

EVERT, R.F. 2006. *Esau's plant anatomy*, 3ed. Wiley-Interscience: New York.

FAHN, A. 1979. Secretory tissues in plants. London, Academic Press.

FAO. Food fruit bearing forest species 3 exemples from latin America. 1986.

FARIAS, S. S.; SIQUEIRA, S. M. C.; CRISTINO, J. H. S.; ROCHA, J. M. Biopolímeros: uma Alternativa para Promoção do Desenvolvimento Sustentável. Revista Geonorte, Edição Especial 5, v.7, n.26, p.61-77, 2016.

FARAHNAKY, A. et al. Effect of various salts and pH condition on rheological properties of Salvia macrosiphon hydrocolloid solutions. Journal of Food Engineering. Essex, v. 116, n. 4, p. 782-788, June 2013.

FENN, J. B.; MANN, M.; MENG, C. K.; WONG, S. F.; WHITEHOUSE, C. M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. Science, New York, v. 246, n. 4926, p. 64-71, Oct 1989.

FERGUSON, L.R., HARRIS, P.J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fiber and phytochemicals. European Journal of Cancer Prevention, Oxford, v.8, n.1, p.17-25, 1999.

FILHO, R. P. V. Aplicação de polissacarídeos em emulsão cosmética: análises reológicas 2009. Dissertação de mestrado Setor de Ciências Biológicas Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

FIORUCCI, A. R.; HORBERT, M., SOARES, F. B.. Éder Tadeu Gomes CAVALHEIRO, E. T. G.. Ácidos Orgânicos: dos primórdios da química experimental à sua presença em Nosso Cotidiano. Química nova na escola. Vol. 15, maio. 2002.

GALLAGHER, E.; GORMLEY, T.R.; ARENDT, E.K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products. Trends in Food Science & Technology, v.15, n.3, p.143- 152, 2004.

GARAMBONE, E., ROSA, G., Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. Alim. Nutr., Araraquara, v.18, n.2, p. 229-235, abr./jun. 2007

GARTI, N.; REICHMAN, D.; Hydrocolwids as Food Emulsifiers and Stabilizers Food Structure, Vol. 12, 1993 (Pages 411-426) Scanning Microscopy International, Chicago.

GASKELL, S. J. Electrospray: Principles and Practice. Journal of Mass pectrometry, Chichester, v. 32, n. 7, p. 677-688, Jul 1997.

GEBHARDT, R. In vitro screening of plant extracts and phytopharmaceuticals: Novel approaches for the elucidation of active compounds and their mechanisms. Planta medica, v. 66, n. 2, p. 99-105, 2000.

GOYCOOLEA, F. M.; CARDENAS, A. Pectins from *Opuntia* spp.: A short review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2003.

GREGORY, M. & BAAS, P. 1989. A survey of mucilage cells in vegetative organs of the dicotyledons. *Israel Journal of Botany* 38: 125-174.

GRENAND F. Nommer son univers: Pourquoi Comment Exemples parmi des sociétés amazoniennes. In: Prat D, Raynal RA, Roguenant A (Org). *Peut-on classer le vivant Linné et la systématique aujourd'hui*. Paris: Belin, p. 119-130.

HAGEL, JILLIAN M.; EDWARD C.; YEUNG; PETER J. FACCHINI. Got milk? The secret life of laticifers. *Trends in Plant Science*, v. 13, n. 12, p. 631–639, 2008.

HAM, B. M. *Even Electron Mass Spectrometry with Biomolecule Applications*. New Jersey – USA. John Wiley & Sons, 2008. 421p.

HANDIQUE, J.G, Baruah, JB.. Polyphenolic compounds: an overview. *Reactive & Functional Polymers* 52: 163-188, 2002.

HAKKINEN, S.H.; KARENLAMPI, S.O. MYKKÄNEN, H.M, HEINONEN, I.M, TORRONEN, A.R Ellagic acid content in berries: influence of domestic processing and storage. *Eur Food Res Technol* 212: 75-80, 2000.

HOCMAN, G. 1988. Chemoprevention of cancer: phenolic antioxidants (BHT, BHA). *Int. J Biochem*. Vol. 20, No. 7, pp.639-651.

JANI, G. K.; SHAH, D. P.; PRAJAPATI, V. D.; JAIN, V. C. Gums and mucilages: versatile excipients for pharmaceutical formulations. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 4, n. 5, p. 309-323, 2009.

KHANDUJA K.L GANDHI, R.K; PATHANIA, V.; SYAL, N. PREVENTION of N nitrosodiethylamine induced lung tumorigenesis by ellagic acid and quercetin in mice. *Food and Chemical Toxicology* 37: 313-318, 1999.

KLINK, C.A.; MACHADO,R.B. 2005; Conservation of the cerrado. *Conservation biology* 19(3): 707-713.

KUSKOSKI. E. M.; ASUERO. A. G.; MORALES. M. T.; FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1.283-1.287, 2006.

LAMARAO, r. c., FILHO, E., Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal *Rev. Nutr.*, Campinas, 22(2):257-269, abr., 2009

LETELIER M.E.; RODRIGUEZ E., WALACE A., LORCA M., REPETTO Y., MORELLO A., ALDUNATE J., Trypanosoma cruzi: A possible control of transfusion- induced chagas disease by phenolic antioxidants, *Exp. Parasitol.*, vol.71, p. 357–363, 1990.

LLORENT-MARTÍNEZ, E. J.; SPÍNOLA, V.; CASTILHO, P. C.. Phenolic profiles of Lauraceae plant species endemic to Laurisilva forest: a chemotaxonomic survey. *Industrial Crops And Products*, [S.L.], v. 107, p. 1-12, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.023>. Chisté & Mercadante, 2012).

MANN, M.; HENDRICKSON, R. C.; PANDEY, A.. Analysis of proteins and proteomes by mass spectrometry. *Annual Review of Biochemistry*, Palo Alto, v. 70, n 1, p. 437-473, Jul 2001.

MARIZ, S.R.; BORGES, A.C.R.; MELO-DINIZ, M.F.F.; MEDEIROS, I.A. Possibilidades terapêuticas e riscos toxicológicos de *Jatropha possypiifolia* L.: uma revisão narrativa. *Rev Bras Plantas Med.* 2010.

MAURER, S., JUNGHANS, A. VILGIS. T. A. Impact of xanthan gum, sucrose and fructose on the viscoelastic properties of agarose hydrogels *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 29, n. 2, p. 298-307, 2012.

MESBAHI, G., JAMALIAN, J.; FARAHNAKY, A. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food Hydrocolloids*, Oxford, v. 19, n. 4, p. 731-738, July 2005.

MISAKI, A.; ITO, T.; HARADA, T. Constitutional Studies on the Mucilage of “Yamanoimo” *Dioscorea batatas* Decne, forma Tsukune: isolation and structure of a mannan. *Agricultural and Biological Chemistry*, Bethesda, v. 36, n. 5, p. 761-771, 1972.

MOROKAWA, R; SIMÕES, A.O.; KINOSHITA, L.S. Apocynaceae s. atr. do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia*, Rio de Janeiro, v. 64, n. 1, p. 179- 199, 2013.

MUÑOZ, L.A.; AGUILERA, J.M.; RODRIGUEZ-TURIENZO, L.; COBOS, A.; IAZ, O. Characterization and microstructure of films made from mucilage of *Salvia hispanica* L. and whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, v. 111, p. 511–518, 2012a.

NENONENE, A.Y.; KOKA, K.; SANDA, K.; RIGAL, L. Composition and Binding Properties of Mucilages from Stem Bark of *Grewia venusta* and Calyx of *Bombax costatum*, two Tropical Plants Growing Wild in Togo. *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* 44(2), 247-253, 2009.

NISHINARI, K.; TAKAHASHI, R. Interaction in polysaccharide solutions and gels. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 8, n. 4-5, p. 396-400, 2003.

OHNO, Y.; FUKUDA, K.; TAKEMURA, G.; TOYOTA, M.; WATANABE, M.; YASUDA, N.; XINBIN, O.; MARUYAMA, R.; AKAO, S.; GOTOU, K.; FUJIVARA, T.; FUJIVARA, H. Induction of apoptosis by gallic acid in lung cancer cells. *Anticancer Drugs*, 10, 845-851, 1990.

OLIVEIRA, V. M. M.; MEDEIROS, T.D. S.; SOARES, N. R. M.; ARRAES, D. R. S.; COSTA, M. K. V.; FERREIRA, A. M. S. D.; QUEIROZ, G. A.; FARIAS, A. L. F.; CANTUÁRIA, P. C.; ALMEIDA, S. S. M. S.. ANÁLISE FITOQUÍMICA, CITOTÓXICA E ANTIMICROBIANA DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE AMBELANIA ACIDA AUBLET (APOCYNACEAE). *Plantas Mediciniais do Estado do Amapá: dos relatos da população à pesquisa científica*, [S.L.], p. 14-28, 2021. Editora Científica Digital. <http://dx.doi.org/10.37885/210404186>.

PICKARD, W. F. Laticifers and secretory ducts: two other tube systems in plants. *New Phytologist*, v. 177, n. 4, p. 877-888, 2008.

PILETTI, R. Extração da mucilagem da tuna (*Cereus hildmaniannus* K. Schum) para aproveitamento industrial. 2011. (Mestrado). Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PRIOLO DE LUFRANO, N.S. & CAFFINI, N.O. 1981. Mucílagos foliares de *Chorisia H.B.K.* (Bombacaceae): análise fitoquímica e enfoque quimiotaxonômico. *Phyton* 40: 13-20

QUEIROGA, B.A.L. Dossiê Espessantes-foodingredientes-Brasil nº40–2017. Disponível em <[revista-fi.com.br](http://revista-fi.com.br)> Acesso em:03/11/2021.

RABELO, A. 2012. Frutos nativos da Amazônia comercializados nas feiras de Manaus. Editora Inpa, Manaus. 390p.

RAM. V.J. e KUMARI, S. Natural products of plant origin as anticancer agents. *Drug News Perspect.* 14: 465-482. 2001.

RAMAYYA, N. e BAHADUR, B. Morphology of the “squamellae” in the light of their ontogeny. *Current Science* 18:520-522. 1968

RAZAVI, S. M. A; TAHERI, H; QUINCHIA, L. A. Steady shear flow properties of wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum as a function of. 2011.

ROCHA, J. F.; PIMENTEL, R. R.; MACHADO, S. R. Estruturas secretoras de mucilagem em *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae): Distribuição, caracterização morfoanatômica e histoquímica. *Acta Botanica Brasilica*, v. 25, n. 4, 751-763, 2011.

ROCHA, W. S.. COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E TANINOS CONDENSADOS EM FRUTAS NATIVAS DO CERRADO. Rev. Bras. Frutic, Jaboticabal - Sp, v. 33, p. 1215-1221, dez. 2011.

ROSHCHINA, V.V. & ROSHCHINA, V.D. 1993. The excretory function of higher plants. Berlin, Springer-Verlag.

SALAS, M. G.; CRUZ, A.Z., BELMARES, S. Y.; URDIALES, B. V.; HERRERA, R. R.; GONZALEZ, C. A.; CHAVEZ, J. M.. Actividad Anticancerígena del Ácido Gálico en Modelos Biológicos in vitro. Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, v. 5, n. 9. 2013.

SANTOS, V. 2023. Frutos. Disponível em: <https://www.biologianet.com/botanica/frutos.htm>. Acesso em 10 maio. 2023.

SIMÕES, A.O., CASTRO, M. de M. & KINOSHITA, L.S. 2006. calycine colleters of seven species of apocynaceae (apocynoideae) from Brazil. Botanical Journal of the Linnean society 152:387-398.

SIMÕES, A.O., 2020. Ambelania in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB33607>. Acesso em 15-04-2023.

SILVA, M.R., FREITAS, L.G., SOUZA, A. A.G. ARAÚJO, R.L.B., LACERDA, I. C.A., PEREIRA, H.V., AUGUSTI, MELO, J.O.F.. Antioxidant Activity and Metabolomic Analysis of Cagaitas (*Eugenia dysenterica*) using Paper Spray Mass Spectrometry. **Braz. Chem. Soc. Printed in Brazil - Sociedade Brasileira de Química**, Vol. 30, No. 5, 1034-1044, 2019.

SILVA, N.M.F., VALENTE, M. C., ALENCASTRO, F.M.M.R. de, PEREIRA, J.F. & SUCRE, B.d. 1975. contribuição ao estudo das asclepiadaceae brasileiras. estudo taxonômico e anatômico de: *Gonioanthela odorata* (decne.) Malme e *Gonioanthela hilariana* (Fourn.) Malme. **Revista Brasileira de Biologia** 35:745-756.

SOUZA, P. S., BRITO, J.A., ABREU, B.B., MARREIRO, D. N., PAIVA, A. A., MOREIRA, R. S., CARVALHO, C. R., MARTINS, M. C., FROTA, K. M.. Aspectos metabólicos das catequinas na obesidade e doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo, v.16. n.101. p.397-408. Abril. 2022.

SUN, J., LIANG, F., BIN, Y., LI, P., DUAN, CH.. Screening Non-colored Phenolics in Red Wines using Liquid Chromatography/Ultraviolet and Mass Spectrometry/Mass Spectrometry Libraries. **Molecules**, 12, 679-693, 2007.

SZAEFER, H. JODYNIS-LIEBERT, J. CICHOCKI, M: MATUSZEWSKA, A. BAER-DUBOWSKA, W Effect of naturally occurring plant phenolics on the induction of drug metabolizing enzymes by o-toluidine. *Toxicology* 186 67-77, 2003

TANAKA, K.; WAKI, H.; IDO, Y.; AKITA, S.; YOSHIDA, Y.; YOSHIDA, T.; MATSUO, T. Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, London, v. 2, n. 8, p. 151-153, Aug 1988.

TAKAGI, A.; Sai, K.; UMEMURA, T., HASEGAWA, R., KUROKAWA, Y. Inhibitory effects of vitamin E and ellagic acid on 8-hydroxy-deoxyguanosine formation in liver nuclear DNA of rats treated with 2-nitropropane. *Cancer Letters* 91: 139-144, 1995.

THOMPSON, J.J.; Rays of Positive Electricity and their Application to Chemical Analysis. London: Longmans, Green and Co. Ltd., 1913.

TONELI, J. L.; MURR, F. X.; PARK, K. J. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, Especial, v.7, n.2, p.181-204, 2005.

TURRA, Andersson F.; MARÇAL, Flaviano J.B.; BARETTA, Irinéia P.; TAKEMURA, Orlando S.; LAVERDE-JR, Antonio. Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (cactaceae). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, v. 11, n. 1, p. 9–14, 2007.

VALGIMIGLI, Luca; GABBANINI, Simone; MATERA, Riccardo. CHAPTER 26. Analysis of Maltose and Lactose by U-HPLC-ESI-MS/MS. **Food And Nutritional Components In Focus**, [S.L.], p. 443-463, 2012. Royal Society of Chemistry. <http://dx.doi.org/10.1039/9781849734929-00443>.

VRIESMANN, L. C., TEÓFILO, R. F. PETKOWICZ, C. L. O Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid *Food Science and Technology*, Trivandrum, v. 49, n. 1. p. 108-116, Nov. 2012.

WILLEMS, Jamie L.; KHAMIS, Mona M.; SAEID, Waleed Mohammed; PURVES, Randy W.; KATSELIS, George; LOW, Nicholas H.; EL-ANEED, Anas. Analysis of a series of chlorogenic acid isomers using differential ion mobility and tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [S.L.], v. 933, p. 164-174, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2016.05.041>.

YAMASHITA, M.; FENN, J.B. Negative ion production with the electrospray ion source. *Journal of Physical Chemistry*, Vol. 88, no 20, Pp.4671, 1984.

YAPO, B. M. Pectic substances: from simple pectic polysaccharides to complex pectins: a new hypothetical model. *Carbohydrate Polymers*, Barking, v. 86, n. 2. p. 373-385, 2011

YOON, Jinmi; CHO, Lae-Hyeon; TUN, Win; JEON, Jong-Seong; AN, ynheung. Sucrose signaling in higher plants. *Plant Science*, [S.L.], v. 302, p. 110703, jan. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110703>.

ZARUCCHI, L.J. (1988). A revision of the e Ambelanieae (Apocynaceae-plumerioideae)