

UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA
CENTRO DAS CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

GIOVANNI EIJI DO NASCIMENTO OZAKI

**COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E HISTOQUÍMICA DAS FOLHAS DE TRÊS
ESPÉCIES DO GÊNERO COPAIFERA PRESENTES NO CERRADO DO OESTE
DA BAHIA**

Barreiras – BA

2023

GIOVANNI EIJI DO NASCIMENTO OZAKI

**COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E HISTOQUÍMICA DAS FOLHAS DE TRÊS
ESPÉCIES DO GÊNERO COPAIFERA PRESENTES NO CERRADO DO OESTE
DA BAHIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como
requisito parcial para obtenção do Diploma de
Graduação no Curso de Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Luiz Tulini

Coorientadora: Profa. Dra. Andréia Barroncas de Oliveira

Barreiras – BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

O99 Ozaki, Giovanni Eiji do Nascimento.

Composição centesimal e histoquímica das folhas de três espécies do gênero *Copaifera* presentes no Cerrado do Oeste da Bahia. / Giovanni Eiji do Nascimento Ozaki – 2023.

46f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Fabricio Luiz Tulini.

Monografia (Graduação) – Bacharelado em Farmácia. Universidade Federal do Oeste da Bahia. Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. Barreiras, BA, 2023.

1. Plantas medicinais. 2. *Copaifera*. 3. Óleos. I. Tulini, Fabricio Luiz. II. Universidade Federal do Oeste da Bahia – Centro das Ciências Biológicas e da Saúde. III. Título.

CDD 615.321

GIOVANNI EIJI DO NASCIMENTO OZAKI

**COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E HISTOQUÍMICA DAS FOLHAS DE TRÊS
ESPÉCIES DO GÊNERO COPAIFERA PRESENTES NO CERRADO DO OESTE
DA BAHIA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Federal do Oeste da Bahia, como
requisito parcial para obtenção do Diploma de
Graduação no Curso de Farmácia.

Aprovado em 13 de julho de 2023.

BANCA EXAMINADORA:

BANCA EXAMINADORA:



Documento assinado digitalmente
FABRICIO LUIZ TULINI
Data: 22/07/2023 15:42:59-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.^(a) Dr. Fabricio Luiz Tulini
(Orientador)



Documento assinado digitalmente
ANDREIA BARRONCAS DE OLIVEIRA
Data: 23/07/2023 16:27:42-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.^(a) Dr^a Andréia Barroncas de Oliveira
(Coorientador)



Documento assinado digitalmente
VOLNEI BRITO DE SOUZA
Data: 23/07/2023 22:05:01-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.^(a) Dr. Volnei Brito de Souza
(Membro)

Rafael da Conceicao
Simoes:81219873500

Assinado digitalmente por Rafael da Conceicao
Simoes:81219873500
ND: CN=Rafael da Conceicao Simoes:81219873500, OU=UFOB -
Universidade Federal do Oeste da Bahia, O=ICPEdu, C=BR
Razão:
Localização: Barreiras-Ba
Foxit PDF Reader Versão: 12.1.2

Prof.^(a) Dr. Rafael da Conceição Simões
(Membro)

AGRADECIMENTOS

Agradeço principalmente a Deus por me dar forças e saúde para ter chegado até esta etapa da minha vida. Assim como aos meus pais e irmãos que me deram todo o suporte necessário para conseguir realizar minha graduação. Aos meus amigos e familiares que contribuíram psicologicamente para que eu conseguisse finalizar meu TCC e não ele a mim. E agradeço enormemente ao meu orientador, o professor Dr. Fabricio Luiz Tulini, o qual aceitou me orientar sem nem se quer me conhecer pessoalmente e para trabalhar com algo que foge um pouco de sua zona de conforto, eu pedi um orientador e recebi um amigo e mentor, e não tenho palavras para expressar minha gratidão e admiração. E tão importante quanto, agradeço a minha coorientadora, a professora Dra. Andréia Barroncas de Oliveira, a quem eu procurei no meu primeiro semestre pedindo para me intrometer em suas pesquisas e que sempre me acolheu e me orientou de bom grado, sendo sempre muito prestativa, caridosa e uma verdadeira amiga, obrigado de coração por tudo que fizeste por mim. Não posso me esquecer de agradecer a UFOB por toda a estrutura que oferece aos alunos e também a cada um dos professores, com quem tive contato durante o curso, por todo o conhecimento que me foi transmitido.

“... o bálsamo é celebrado com razão por seu excelente odor e muito maior efeito para curar feridas, e outros diversos remédios para enfermidades, que nele se experimentam...”

Jesuíta José Acosta, sobre o óleo de
Copaífera.

RESUMO

O gênero *Copaifera* L. é amplamente conhecido devido à óleo-resina extraída de seus caules, com aplicação na medicina popular e em diversos setores industriais. Os óleos produzidos por essas espécies são ricos em terpenos e podem ser encontrados em todos os órgãos da planta. As espécies do Cerrado costumam ser arbustivas, logo, não possuem a capacidade de produzir óleo-resina em proporções similares às espécies arbóreas da Amazônia e devido a isso estudos que determinem o potencial medicinal e nutricional delas são escassos. Portanto, o objetivo desta pesquisa é avaliar a composição centesimal das folhas de *Copaifera depilis*, *Copaifera luetzelburgii* e *Copaifera sabulicola*, presentes no Cerrado do Oeste da Bahia, assim como analisar a distribuição dos componentes no tecido vegetal, por meio de testes histoquímicos. Para isso, folhas saudáveis e totalmente expandidas foram coletadas na Serra da Bandeira, no município de Barreiras, BA, Brasil, sendo que uma parte das amostras foi seca em temperatura branda (30 °C) e pulverizada para o emprego das metodologias de composição centesimal e o restante das amostras foram destinadas às análises histoquímicas com a realização de cortes a mão livre para a confecção de lâminas observadas por microscopia de luz. Não foram observadas grandes variações na composição centesimal entre as espécies de *Copaifera* estudadas. Os teores de fibras, cinzas, proteínas e compostos fenólicos obtidos indicam que essas espécies apresentam potencial nutricional. Além disso, foram identificadas cavidades secretoras em todas as espécies e a histoquímica indica a presença de um produto lipídico e constituído por compostos fenólicos em seu interior, o que demonstra a presença de compostos com potencial interesse farmacêutico.

Palavras-chave: *Copaifera*. Plantas medicinais. Potencial nutricional.

ABSTRACT

The genus *Copaifera* L. is widely known due to the oil-resin extracted from its stems, with application in popular medicine and in several industrial sectors. The oils produced by these species are rich in terpenes and can be found in all organs of the plant. Cerrado species tend to be shrubs, but they do not have the ability to produce oil-resin in proportions similar to Amazon trees. Because of this, studies on the evaluation of the medicinal and nutritional potential of *Copaifera* are scarce. In this sense, the objective of this research is to evaluate the proximal composition of the leaves of *Copaifera depilis*, *Copaifera luetzelburgii* and *Copaifera sabulicola* from the Cerrado of Western Bahia, as well as to analyze the distribution of the components in the plant tissue, using histochemical assays. For this, healthy and fully expanded leaves were collected in Serra da Bandeira, in the city of Barreiras, BA, Brazil. Some of the leaves were dried at a mild temperature (30 °C) and pulverized for proximal composition analyses, and some of the leaves were used in histochemical analyses, with freehand cuts prepared that were observed by light microscopy. No major variations were observed in the proximal composition among *Copaifera* species. Dietary fiber, ash, protein and content of phenolic compounds indicate that these species have nutritional potential. In addition, secretory cavities were identified in all species and histochemical analyses indicate the presence of a lipid product consisting of phenolic compounds in its interior, which demonstrates the presence of compounds with potential pharmaceutical interest.

Key words: *Copaifera*. Medicinal plants. Nutritional potential.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C.	<i>Copaifera</i>
°C	Graus Celsius
FDA	Food and Drugs Administration
g	Grama
GMD	Ganho Médio Diário
kg	Quilograma
L.	Linnaeus
LDS	Laboratórios Didáticos em Saúde
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
nm	Nanômetro
PANC	Plantas Alimentícias Não Convencionais
sp.	Espécie
UFOB	Universidade Federal do Oeste da Bahia
µL	Microlitros
TACO	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapeamento das regiões aonde foram encontradas espécies de gênero *Copaifera* L. pag. 13
- Figura 2** – Principais sesquiterpenos detectados nas óleo-resinas de copaíbas pag. 15
- Figura 3** – Principais diterpenos detectados na óleo-resina de copaíbas pag. 16
- Figura 4** – Espécies de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia; A – *Copaifera depilis*; B – *Copaifera luetzelburgii*; C – *Copaifera sabulicola*. pag. 29
- Figura 5** – Folhas de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia; A – *Copaifera depilis*; B – *Copaifera luetzelburgii*; C – *Copaifera sabulicola*. pag. 29
- Figura 6** – Histoquímica da nervura central e mesofilo de *Copaifera depilis*. A – Branco; B – Cloreto férrico III; C – Dicromato de potássio; D – Azul mercúrio de bromofenol; E – Floroglucinol; F – Sudan III; G – Lugol. Legenda: Co - Córtex; Cu – Cutícula; CS – Cavidade secretora; FF – Fibra floemática; FI – Floema; FV – Feixe vascular; PC – Parênquima clorofiliano; Xi – Xilema. pag. 37
- Figura 7** – Histoquímica da nervura central e mesofilo de *Copaifera luetzelburgii*. A – Branco; B – Cloreto férrico III; C – Dicromato de potássio; D – Azul mercúrio de bromofenol; E – Floroglucinol; F – Sudan III; G – Lugol. Legenda: Co - Córtex; Cu – Cutícula; FF – Fibra floemática; FI – Floema; FV – Feixe vascular; PC – Parênquima clorofiliano; Xi – Xilema. pag. 38
- Figura 8** – Histoquímica da nervura central e mesofilo de *Copaifera sabulicola*. A – Branco; B – Cloreto férrico III; C – Dicromato de potássio; D – Azul mercúrio de bromofenol; E – Floroglucinol; F – Sudan III; G – Lugol. Legenda: Co - Córtex; Cu – Cutícula; CS – Cavidade secretora; FF – Fibra floemática; FI – Floema; FV – Feixe vascular; PC – Parênquima clorofiliano; Xi – Xilema. pag. 39

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Resumo dos resultados dos testes histoquímicos pag. 25
- Tabela 2** – Histoquímica das folhas (pecíolo e limbo) de *Copaifera depilis*, *Copaifera luetzelburgii* e *Copaifera sabulicola*. pag. 30
- Tabela 3** – Composição centesimal das folhas de espécies de *Copaifera* L., em % pag. 31
- Tabela 4** – Teor de compostos fenólicos totais nas folhas de três espécies de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia. pag. 34
- Tabela 5** – Teor de açúcares redutores (glicose) e não-redutores (sacarose) nas folhas de três espécies de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia, em % pag. 36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1.O GÊNERO <i>Copaifera</i>	13
2.2. A ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA	14
2.3. PROPRIEDADES MEDICINAIS DO GÊNERO <i>Copaifera</i> L	18
2.4. POTENCIAL NUTRICIONAL DA ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA	21
3. OBJETIVOS	23
3.1. OBJETIVO GERAL	23
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
4. MATERIAIS E MÉTODOS	24
4.1. MATERIAIS	24
4.2. MÉTODOS.....	24
4.2.1. Testes histoquímicos e registro das imagens	24
4.2.2. Secagem e pulverização das amostras	25
4.2.3. Determinação da composição centesimal	25
4.2.3.1. Umidade	25
4.2.3.2. Resíduos por incineração (cinzas)	26
4.2.3.3. Lipídios.....	26
4.2.3.4. Proteínas	26
4.2.3.5. Fibras	26
4.2.3.6. Carboidratos.....	27
4.2.4. Determinação de glicídios redutores (em glicose) e glicídios não- reduzores (em sacarose).....	27
4.2.5. Quantificação de fenólicos totais	28
4.2. ESTATÍSTICA.....	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Copaifera* L., pertencente à família Fabaceae e a subfamília Caesalpinoideae, é composto por 38 espécies dispersas em regiões tropicais do planeta, sendo possível encontrar 26 espécies no Brasil, das quais 22 são endêmicas (COSTA, 2007; JUDD *et al.*, 2009; NASCIMENTO, 2010). A Bahia se destaca como o estado brasileiro com a maior diversidade de espécies do gênero, possuindo ao todo 13 espécies, podendo-se citar: *C. depilis* Dwyer, *C. luetzelburgii* Delf, *C. sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz e *C. marginata* Benth (COSTA, 2007).

As espécies de *Copaifera* L. são popularmente conhecidas como “copaíbas”, “copaibeiras” ou “pau-d’óleo”. O conhecimento sobre seu óleo e propriedades medicinais datam do período pré-colombiano, tendo sido utilizadas pelos índios brasileiros para o tratamento de doenças de pele e proteção contra picadas de insetos. Acredita-se que esse conhecimento é oriundo da observação dos indígenas ao comportamento de alguns animais que se atritavam aos troncos destas árvores a fim de cicatrizar suas feridas (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009).

Essas espécies são árvores ou arbustos que podem chegar a atingir 40 metros de altura, sendo que as espécies arbóreas da Amazônia e *C. langsdorffii*, presente em diversos biomas do território nacional, apresentam amplo valor comercial, tanto pela madeira para a construção de compensados, quanto pela óleo-resina extraída do caule com aplicação na medicina popular, além do uso pela indústria cosmética e de combustíveis (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; MARTINS-DA-SILVA; PEREIRA; LIMA, 2008). As espécies arbustivas que predominam no Cerrado, não são exploradas comercialmente e estudos que avaliem possíveis aplicações das mesmas são escassos e por isso relevantes.

O óleo de *Copaifera* L. possui como componentes bioativos majoritários os sesquiterpenos e diterpenos (MOURA *et al.*, 2017; LEANDRO *et al.*, 2012). O mesmo possui efeitos comprovados cientificamente, como anti-inflamatório, cicatrizante, laxante, ação diurética, antitetânico e inibidor tumoral utilizados pela via tópica ou oral (QUEMEL *et al.*, 2021). Além de potente ação antimicrobiana contra espécies de bactérias Gram-positivas (MOURA *et al.*, 2017). Além disso, estudos recentes têm demonstrado benefícios no uso do óleo de copaíba na suplementação animal, como

a melhora na qualidade da carne em ruminantes e aves de corte suplementados (MOURA *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2015).

Estudos sobre a avaliação nutricional de espécies de *Copaifera* são raros, tendo-se apenas dados da composição centesimal da farinha do arilo da semente de *C. langsdorffii* e os efeitos da ingestão nos lipídios séricos e na glicemia de ratos. Obtendo-se efeitos redutores de colesterol e glicemia após suplementação (ESTEVES *et al.*, 2011). Logo, é válido investigar se outros órgãos vegetais deste gênero também apresentam potencial para uso na alimentação.

Apesar da extração da óleo-resina ocorrer a partir da perfuração do lenho, o mesmo pode ser encontrado em todos os órgãos da planta, como as folhas (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009). E tendo em mente que as espécies do Cerrado são predominantemente arbustivas, a quantidade de óleo presente nos caules não justifica a sua exploração, devido a isso há poucos estudos envolvendo essas espécies e avaliando seu real potencial (COSTA, 2007).

Contudo, espécies que apresentam potencial nutricional e uso medicinal, como é o caso das espécies do gênero *Copaifera*, são de grande relevância na investigação científica, logo, o objetivo desta pesquisa é analisar a composição centesimal e localização histológica das substâncias que compõe as folhas de *Copaifera depilis*, *Copaifera luetzelburgii* e *Copaifera sabulicola* presentes no Cerrado do Oeste da Bahia, além de avaliar o valor nutricional, a presença de compostos de interesse medicinal, gerar dados que auxiliem no controle de qualidade destas espécies.

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 O GÊNERO *Copaifera* L.

Pertencente à família Fabaceae, subfamília Caesalpinoideae, *Copaifera* L. é um gênero pantropical, constituído por 38 espécies que se distribuem nos continentes africano (4 sp.), asiático (1 sp.), central americano (4 sp.) e sul americano (29 sp.) (Figura 1). No Brasil é possível encontrar 26 espécies, sendo 22 endêmicas, elas se distribuem em todos os biomas brasileiros, sendo nove espécies encontradas na região amazônica e 17 nas regiões extra-amazônicas (COSTA, 2007; NASCIMENTO, 2010; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; MARTINS-DA-SILVA; PEREIRA; LIMA, 2008; JUDD *et al.*, 2009).

Figura 1 – Mapeamento das regiões aonde foram encontradas espécies de gênero *Copaifera* L.



Fonte: VEIGA-JUNIOR & PINTO - 2002

Essas plantas possuem hábitos arbóreos ou arbustivos, podendo atingir 40 metros de altura e viver por aproximadamente 400 anos (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009). Elas são conhecidas, popularmente, como “copaíba”, nome de origem tupi kupa’ iwa cujo significado é “árvore depósito”, referindo-se ao óleo característico das espécies deste gênero e que possui diversas aplicações industriais e na medicina popular (QUEMEL *et al.*, 2021; TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018).

O conhecimento sobre as espécies de *Copaifera* L. e o uso do seu óleo é datado desde o século XVI, tendo-se relatos documentados dos jesuítas notificando o efeito cicatrizante do óleo. Esses saberes foram obtidos dos povos nativos que observaram o comportamento de animais feridos que se esfregavam aos troncos destas árvores com a finalidade de cicatrização de suas feridas (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009).

Além do efeito cicatrizante, foram atribuídas diversas outras propriedades medicinais às copaíbas, como: anti-inflamatória, antimicrobiana e para o tratamento de blenorragias, gonorreias e afecções da via urinária. Devido ao valor comercial dessas espécies, o governo imperial, em 1818, decretou que a derrubada destas árvores ficaria a encargo do Estado, o que não ocorreu na prática (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009). Porém, até hoje, as espécies de *Copaifera* tem grande valor comercial e ambiental, tanto que elas constituem uma das principais espécies medicinais e aromáticas na conservação do bioma amazônico (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

1.2 A ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA

A óleo-resina de *Copaifera*, popularmente conhecida como óleo de copaíba, é um exsudato formado por ácidos resinosos e compostos voláteis. Trata-se de um líquido translúcido de coloração que varia de amarelo ao marrom (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002). Apresenta aroma forte e característico e com sabor acre e amargo (CASTEJON, 2013).

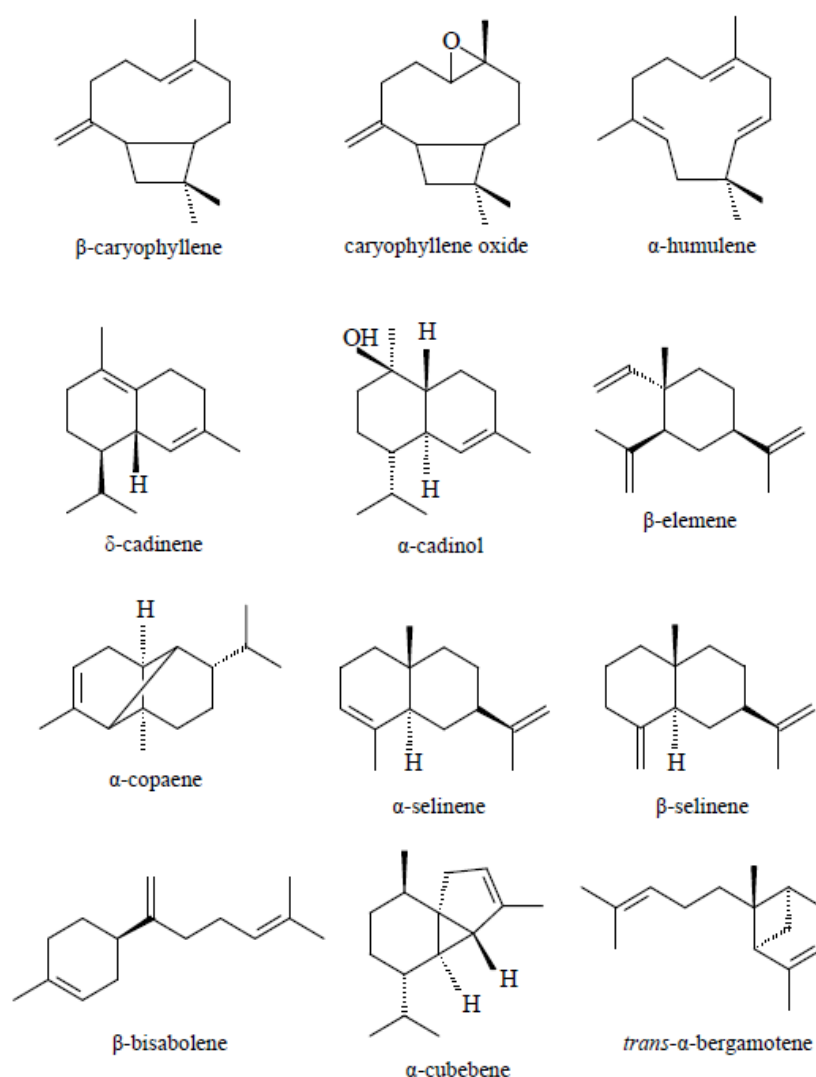
O óleo de *Copaifera* provem de canais secretores que estão presentes em todas as partes da planta, mas tem sua extração proveniente da perfuração do lenho, podendo-se obter até 50 litros de óleo por árvore na primeira retirada (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002). As espécies presentes no Cerrado são, em sua maioria, arbustivas e, portanto, não apresentam caules grossos com grandes reservas de óleo, logo, não há, tradicionalmente, a extração da óleo-resina nessas espécies e com isso não há estudos abrangendo as propriedades das mesmas.

A obtenção da óleo-resina concentra-se em quatro espécies, sendo que 70% é oriundo apenas da *C. reticulata*, seguida de *C. guianensis* (10%), *C. multijuga* (5%) e

C. officinalis (5%) (VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002). A mesma é constituída de uma fração sólida e não volátil, composta por diterpenos e uma porção volátil composta de sesquiterpenos (sesquiterpenos oxigenados e hidrocarbonetos sesquiterpênicos) (QUEMEL *et al.*, 2021).

Os sesquiterpenos são tidos como os principais responsáveis pelas atividades farmacológicas das óleo-resinas de *Copaifera*, ao todo foram detectados 38 compostos diferentes, mas os principais sesquiterpenos detectados no óleo de copaíba (Figura 2) são: β -cariofileno, óxido de cariofileno, α -humuleno, δ -cadineno, α -cadinol, α -cubebeno, α -selineno, β -selineno, β -elemeno, α -copaeno, *trans*- α -bergamoteno, β -bisaboleno, β -bisabolol e germacrene B (LEANDRO *et al.*, 2012; BECKER, 2020).

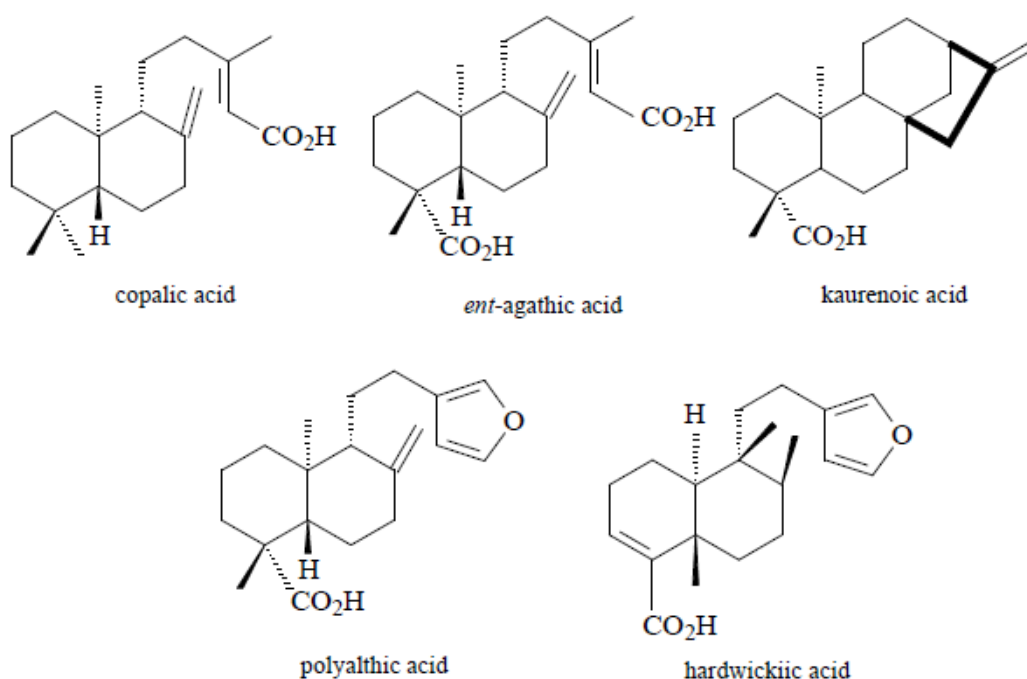
Figura 2 – Principais sesquiterpenos detectados nas óleo-resinas de copaíba



Esses compostos não são exclusivos do gênero *Copaifera*, tendo sido isolados inicialmente de outras espécies. Há diversos ensaios farmacológicos com esses sesquiterpenos isolados, tendo sido atribuído a eles diversas atividades biológicas, como: anti-inflamatória, antimicrobiana, inseticida, anticarcinogênica e antiviral (LEANDRO *et al.*, 2012; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002).

Os principais diterpenos encontrados nas óleo-resinas de *Copaifera* (Figura 3) são: ácido copálico, ácido caurenóico e ent-caurenóico, ácido poliáltico, ácido hardwíckico e os seus derivados, ácido 3-hidroxicopalico, 3-acetocopálico e ent-agático. Ao todo foram identificados 28 diterpenos nos óleos de copaíba, pertencentes aos esqueletos: caurano, labdando e clerodano (LEANDRO *et al.*, 2012; CARVALHO, 2012).

Figura 3 – Principais diterpenos detectados na óleo-resina de copaíba



Fonte: LEANDRO *et al.* - 2012

Diversos ensaios farmacológicos foram realizados com os diterpenos isolados do óleo de copaíba, sendo observada ação antimicrobiana, larvicida, anti-inflamatória e vasodilatadora. Assim como os sesquiterpenos, os diterpenos que constituem as

óleo-resinas de copaíba não são exclusivos destas espécies, tendo sido encontrados também em outros gêneros (LEANDRO *et al.*, 2012).

Há muita variação na composição química das óleo-resinas de *Copaifera* L., elas podem variar devido a fatores genéticos, climáticos, edáficos, geográficos, dentre outros. Mas o β -cariofileno e ácido copálico são constituintes detectados nas óleo-resinas de todas as espécies de copaíba estudadas, podendo ser utilizados como marcadores, mesmo não sendo os componentes majoritários (ARRUDA *et al.*, 2019; LEANDRO *et al.*, 2012).

A comercialização da óleo-resina de copaíba para a Europa é datada do final do século XVIII. Ela chegou a representar o segundo lugar nas exportações brasileiras de drogas medicinais, durante esse período. Tendo seu auge de exportações na primeira metade do século XX. Seus principais mercados externos são países como Alemanha, França, Estados Unidos e Inglaterra (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002).

Além da utilização para fins medicinais, o óleo de *Copaifera* é utilizado como aditivo em alimentos e flavorizante de comidas e bebidas, aprovado em 1972 pelo FDA (Food and Drugs Administration) nos Estados Unidos (TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018; CARVALHO, 2012; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002).

A óleo-resina de copaíba é amplamente explorada pela indústria de cosméticos devido a sua propriedade emoliente, ação bactericida e anti-inflamatório na fabricação de sabonetes, cremes e produtos capilares. Mas também pelo seu aroma, apreciado pela indústria de perfumes (PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002; TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018).

Outras aplicações para o óleo de copaíba incluem: secativo para indústria de tintas e vernizes. Como aditivo na fabricação de borracha sintética. Utilização pela indústria fotográfica para melhorar imagens em áreas de baixa resolução e contraste. E adição ao óleo diesel em proporções de 1:9, como alternativa de energia limpa, devido a óleo-resina ser uma fonte renovável de hidrocarbonetos (TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018; PIERI; MUSSI; MOREIRA, 2009; VEIGA-JÚNIOR; PINTO, 2002).

O primeiro registro de publicação de patente envolvendo a óleo-resina de *Copaifera* L. ocorreu em 1898, desde então os registros envolvendo essa matéria prima tornaram-se constantes, tendo apresentado crescimento no número de proteções em 1997, atingindo o auge em 2003 com o total de 20 registros. Isso

provavelmente se deve ao crescimento de publicações científicas sobre esse gênero no mesmo período. (SOUSA *et al.*, 2012)

O Brasil é o país que se destaca com o maior número de publicações envolvendo a óleo-resina de copaíba, ao todo foram documentados 32 artigos, seguido dos Estados Unidos com apenas 4 artigos publicados sobre o tema, porém em relação ao registro de patentes, os EUA se sobressaem com 19 patentes depositadas, enquanto que o Brasil encontra-se na quinta posição com apenas três proteções de patente, atrás de países como Canadá, Alemanha e Japão. (SOUSA *et al.*, 2012)

Segundo a pesquisa de Sousa *et al.* (2012), a área de processos se destaca com o maior número de patentes registradas, sendo ao todo 144 patentes, seguido da área de cosméticos com 69 e alimentos com 63. O seguimento farmacêutico possui 53 patentes registradas enquanto que o de aplicações medicinais detêm de 37.

As áreas científicas que mais lançaram publicações com o termo *Copaifera* foram a farmacologia e as ciências vegetais, sendo que as áreas de agricultura, tecnologia de alimentos e toxicologia as que menos publicaram artigos com espécies desse gênero (SOUSA *et al.*, 2012).

A toxicidade foi avaliada por diferentes ensaios tanto para a óleo-resina, como para extratos das cascas, folhas e frutos, sendo que a dose letal aguda do óleo é estimada em 2000 mg/kg de peso corporal. Logo, há uma segurança na utilização da óleo-resina de *Copaifera* por via oral, mas a mesma em altas doses pode gerar efeitos adversos, como: diarreia, irritação gástrica, redução do ganho de peso e alterações metabólica e hepáticas (BECKER, 2020; SACHETTI *et al.*, 2009).

A óleo-resina não se mostrou ser genotóxica, mutagênica ou citotóxica. E os extratos das folhas apresentaram potencial de proteção celular contra agentes prejudiciais ao DNA (TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018; LEANDRO *et al.*, 2012; SACHETTI *et al.*, 2009). Porém há uma contraindicação de uso da óleo-resina por gestantes e lactantes, devido a capacidade de encurtamento da gestação pelo aumento de contrações uterinas que ele promove, porém, sem gerar efeitos tóxicos ao feto ou a gestante em doses recomendadas (TRINDADE; SILVA; SETZER, 2018).

2.3 PROPRIEDADE MEDICINAIS DO GÊNERO *Copaifera* L.

Há diversas indicações etnofarmacológicas para o óleo de copaíba, como: anti-inflamatória, analgésica, para o tratamento de gonorreia, bronquite, cistos ovarianos, blenorragia, úlceras, dermatites, infecção de garganta, câncer, leishmaniose, entre outras (LEANDRO *et al.*, 2012). Porém nem todas as indicações de uso da medicina popular se confirmam como eficazes.

A atividade anti-inflamatória é a mais citada em estudos para a óleo-resina de *Copaifera* L., diferentes ensaios farmacológicos apontaram efeitos benéficos do óleo de copaíba na cascata de inflamação por meio da diminuição de agentes pró-inflamatórios, como: histamina e serotonina (LEANDRO *et al.*, 2012).

A ação cicatrizante do óleo de copaíba foi evidenciada em testes com animais, aonde ela promoveu uma sutil antilipoperoxidação, uma forte ação antioxidante e anti-inflamatória, com precoce aparecimento de tecido de granulação com fibras de colágeno e fibroblastos mais estruturados quando comparados aos grupos controle (ZANBONIN *et al.*, 2019).

Em relação à atividade antimicrobiana, há vários ensaios farmacológicos utilizando a óleo-resina de diferentes copaibeiras contra bactérias de relevância na saúde humana e animal. No geral, o óleo de copaíba mostra-se eficiente na inibição de diversos gêneros de bactérias, como: *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Pseudomonas* e *Shigella*, revelando-se como uma potencial fonte de compostos para serem utilizados como antimicrobianos em infecções e como conservantes em alimentos (LEANDRO *et al.*, 2012; PIERI *et al.*, 2012).

A óleo-resina age na parede celular bacteriana podendo gerar lise da mesma ou danos que induzem a liberação de compostos citoplasmáticos, alterações morfológicas e redução no volume celular (SANTOS *et al.*, 2008). Abrão *et.al.* (2021) avaliaram o potencial antimicrobiano da óleo-resina de três espécies de *Copaifera* e de alguns de seus componentes isolados, sendo verificado, para ambos, atividade antimicrobiana e antibiofilme.

A atividade antifúngica de espécies de *Copaifera* L. foi avaliada pela capacidade de inibição do crescimento de leveduras do gênero *Candida* e de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus*. Nesse sentido, foi observado ação antifúngica para todas as espécies estudadas frente aos diferentes microrganismos testados, sendo que o extrato das folhas apresentou atividade superior à óleo-resina (ANDRADE *et al.*, 2020; DEUS; ALVES; ARRUDA, 2011; DIAS *et al.*, 2023).

A atividade antineoplásica foi avaliada contra diferentes tipos de linhagens de células de origem tumoral, em testes *in vivo* e *in vitro*, sendo observado inibição tumoral, redução da produção de mediadores inflamatórios no líquido ascítico e melhora na contagem de células sanguíneas e da medula para a óleo-resina bruta e suas frações clorofórmica e hexânica (ARRUDA *et al.*, 2020; FROTA, 2018). Resultados semelhantes foram obtidos para os extratos das folhas, a qual observou-se ainda atividade quimiopreventiva, protegendo o DNA contra lesões (ZAMBONIN *et al.*, 2019).

A óleo-resina de *Copaifera* apresenta ainda ação anti-nociceptiva por via oral e tópica, por meio da mediação de receptores opiáceos. Doses de 50-100 mg/kg, em ratos, das frações clorofórmicas e hexânicas da óleo-resina de *C. multijuga* apresentaram ação anti-nociceptiva superior a morfina (ARRUDA *et al.*, 2019; SILVA, 2019; BECKER, 2020; LEANDRO *et al.*, 2012).

Há ainda ação gastroprotetora para a óleo-resina de *Copaifera* e para extrato das folhas, aonde elas atuam na prevenção de danos ao tecido do cólon, mas também promove a diminuição da secreção gástrica e estimula a produção de muco, o que promove melhora na cicatrização de úlceras crônicas (ZANBONIN *et al.*, 2019; ARRUDA *et al.*, 2019).

Diferentes espécies de *Copaifera* apresentam óleo com atividade ansiolítica em testes com ratos e camundongos, a utilização de 300 mg/kg da óleo-resina de *C. glycyarpa* apresentou efeitos semelhantes ao Diazepam, revelando o potencial ansiolítico e sedativo para essa espécie (CARVALHO, 2012; LEANDRO *et al.*, 2012).

É constatada ainda a ação larvicida para a óleo-resina e para os extratos das folhas e cascas de espécies de *Copaifera* L., mostrando-se eficaz na mortalidade de larvas de *Culex quinquefasciatus* (principal transmissor da filariose bancroftiana), *Aedes aegypti* (transmissor da dengue, zika, chikungunya e febre amarela) e contra *Anopheles darlingi*, inseto transmissor da malária no Brasil. Além de ação acaricida e repelente (ARRUDA *et al.*, 2019; LEANDRO *et al.*, 2012).

A atividade antileishmania foi avaliada para o óleo de copaíba, assim como alguns de seus compostos isolados, sendo observada a ação leishmanicida para *L. amazonenses*, além de efeitos benéficos para o tratamento da leishmaniose por via oral, com efeito semelhante ao antimoniato de meglumina, droga de referência para o tratamento desta doença (ARRUDA *et al.*, 2019; LEANDRO *et al.*, 2012).

A óleo-resina de *Copaifera* mostra-se ainda como um eficaz antiparasitário por reduzir a parasitemia do *Plasmodium falciparum*, protozoário causador da malária. E por afetar a produção e desenvolvimento dos ovos de *Schistosoma mansoni*, vetor da esquistossomose (ARRUDA *et al.*, 2019). Além de inibir a proliferação intracelular do *Toxoplasma gondii* (TEIXEIRA *et al.*, 2020).

Testes com óleo-resina de oito espécies diferentes de *Copaifera* demonstraram significativo efeito tripanocida em diferentes estágios de desenvolvimento do *Tripanossoma cruzi*, agente causador da doença de Chagas (IZUMI *et al.*, 2013; ARRUDA *et al.*, 2019).

Outras propriedades observadas para a óleo-resina de copaíba foram: ação benéfica na endometriose, atenuação da acne após 21 dias de tratamento, e diminuição do eritema, espessura da pele e descamação em casos de psoríase crônica após seis meses de tratamento por via oral. Extratos feitos a partir das folhas e demais partes aéreas, mostraram-se benéficos em impedir a formação de cálculos renais e nefrolitíase. (ARRUDA *et al.*, 2019).

Entre os ensaios farmacológicos com espécies de *Copaifera* L. é notório a variações entre as espécies estudadas e a utilização de óleo-resinas comerciais. Segundo Vieira-Junior e Pinto (2002), há muitas adulterações nos óleos de copaíba comerciais, além de uma grande dificuldade em identificar a espécie de origem da mesma.

Os óleos de diferentes espécies de *Copaifera* mesmo sendo semelhantes em composição, apresentaram atividades diferentes (LEANDRO *et al.*, 2012). Das atividades medicinais comprovadas para o óleo de copaíba, nenhum estudo avaliou o potencial das espécies endêmicas do Cerrado.

2.4 POTENCIAL NUTRICIONAL DA ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA

Estudos sobre a suplementação animal com óleo de copaíba demonstrou efeito antioxidante e gastroprotetor que podem ser benéficos para ruminantes. Essa suplementação em cordeiros demonstrou maior eficiência alimentar e ganho médio diário (GMD) de peso, o que reduz o tempo de confinamento destes animais, sem alterar negativamente as características da carcaça ou a qualidade da carne (MOURA *et al.*, 2017).

Além disso, outros estudos como a avaliação dos efeitos da suplementação alimentar com a óleo-resina de *C. Langsdorffii* em carnes de coxa e peito de frango, demonstraram que ela é capaz de tornar a carne da coxa de frango mais leve e com menor cozimento, ela auxilia na retenção de água dentro das fibras musculares, melhorando textura e aumentando a maciez. Além disso, ela diminuiu a peroxidação lipídica da coxa pré-cozida, o que sugere atividade antioxidante (LIMA *et al.*, 2015).

No estudo conduzido por Bezerra *et al.* (2015), avaliou-se que o uso de óleo de *Copaifera sp.* na alimentação de galos reprodutores semipesados, e foi observado que o aumento na concentração do óleo de copaíba na ração, promoveu melhora na conversão alimentar e o índice reprodutivo, sem alterar a morfologia seminal

Foi avaliado ainda a aplicação do óleo de copaíba bálsamo em um revestimento bioativo a base de fécula de mandioca e beterraba para a conservação de carnes *in natura*, da qual concluiu-se que o uso desse óleo auxiliou na manutenção da qualidade organoléptica da carne, trazendo desse modo mais segurança nutricional e alimentar ao consumidor (SOUZA; LIMA; SILVA, 2021).

Tendo em vista as aplicações do óleo de *Copaifera L.* voltadas para a alimentação, é importante que se conheça a composição nutricional dos órgãos das espécies desse gênero, as quais armazenam e/ou produzem essa óleo-resina, como é o caso das folhas, considerando também o potencial de aplicação em suplementação animal e tecnologia de alimentos, áreas pouco exploradas pela ciência para a utilização dessa matéria-prima.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar a composição centesimal e localização histológica das substâncias que compõem as folhas de *Copaifera depilis* Dwyer, *Copaifera leutzelburgii* Delf. e *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz presentes no Cerrado do Oeste da Bahia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o valor nutricional das folhas de três espécies de *Copaifera*.
- Avaliar a presença de compostos de interesse medicinal.
- Gerar dados que auxiliem no controle de qualidade destas espécies.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A coleta das amostras foi realizada no dia 29 de abril de 2022 às 09h da manhã, na área verde e antropizada da Serra da Bandeira, no município de Barreiras, Bahia, Brasil. No campo foram marcadas no mínimo três indivíduos de *Copaifera depilis* Dwyer, *Copaifera luetzelburgii* Delf. e *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz situados à latitude 12°06'02.6"S e longitude 45°02'58.1"W. Foram coletadas amostras contendo material vegetativo e reprodutivo das espécies em questão e confeccionadas exsiccatas, as quais foram depositadas no Herbário da Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB), sob o número de registro: 6009 (*C. depilis*), 6010 (*C. luetzelburgii*), 5998 (*C. sabulicola*). Foram coletadas ainda folhas sadias (totalmente expandidas) para a realização dos testes histoquímicos, secagem e pulverização para as análises da composição centesimal. Os equipamentos, instrumentos e reagentes utilizados e descritos nos métodos a seguir estão disponíveis no Laboratório de Botânica (Fisiologia e Anatomia Vegetal) da Universidade Federal do Oeste da Bahia (UFOB) e no Laboratório Didático de Saúde (LDS), anexo a UFOB.

4.2 MÉTODOS

4.2.1. Testes histoquímicos e registro das imagens

Para a aplicação de diferentes testes histoquímicos foram realizados, a partir de amostras foliares recém coletadas, cortes do material fresco à mão livre utilizando-se lâmina descartável e isopor como suporte, com o objetivo de identificar compostos específicos da planta e os locais aonde eles se concentram. Foram testados os reagentes: Sudan III (Johansen, 1940) para detecção de lipídios totais, floroglucinol (Johansen, 1940) para detecção de lignina, dicromato de potássio (Gabe, 1968) e cloreto férrico III (Johansen, 1940) para detecção de compostos fenólicos gerais, azul mercúrio de bromofenol (Mazia et al., 1953) para detecção de proteínas e lugol (Jensen, 1962) para detecção de amido. As lâminas, com material vegetal, foram analisadas utilizando-se microscopia de luz. Utilizou-se das literaturas específicas da área como Evert (2013), Ventrella et al. (2013), Simões et al. (2017), Taiz et al. (2017) entre outros para auxiliar nas descrições e classificações anatômicas. E o registro das

imagens foi realizado por meio de câmera de celular (Xiaomi Mi 9T) sob a lente do microscópio (ZEISS).

Tabela 1 – Resumo dos resultados dos testes histoquímicas.

Reagente	Composto	Coloração positiva
Sudan III	Lipídios totais	Laranja
Floroglucinol	Lignina	Rosa
Dicromato de potássio	Compostos fenólicos gerais	Marrom acastanhado
Cloreto férrico III	Compostos fenólicos gerais	Marrom enegrecido
Azul mercúrio de bromofenol	Proteínas	Azul
Lugol	Amido	Roxo enegrecido

Fonte: Autor.

4.2.2. Secagem e pulverização das amostras vegetais

As amostras foliares (limbo foliar) das três espécies vegetais, individualmente, foram secas em secador solar à temperatura branda (30 °C) e posteriormente maceradas para a obtenção de um pó, o qual foi utilizado nas análises da composição centesimal.

4.2.3. Determinação da composição centesimal

A composição centesimal das folhas foi avaliada conforme as metodologias descritas pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), exceto para a análise de fibras, detalhadas a seguir.

4.2.3.1. Umidade

A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até peso constante, calculada com base na massa perdida durante o processo. O resultado foi expresso em % (m/m) de umidade. Sendo ainda, utilizado como parâmetro para o controle de qualidade, assim como preconizado na farmacopeia.

4.2.3.2. *Resíduos por incineração (cinzas)*

O teor de cinzas foi determinado pela incineração em mufla realizando-se uma rampa de temperatura até atingir 600 °C, até peso constante. O resultado foi expresso em % (m/m) de cinzas. Sendo ainda, utilizado como parâmetro para o controle de qualidade, assim como preconizado na farmacopeia.

4.2.3.3. *Lipídios*

O teor de lipídios para as folhas foi determinado pelo método de Soxhlet, utilizando éter de petróleo para obtenção do extrato etéreo. A massa de extrato etéreo foi quantificada, e o resultado foi expresso em % (m/m) de lipídios.

4.2.3.4. *Proteínas*

O teor de proteínas foi determinado pela digestão da amostra em ácido sulfúrico (adicionado de mistura catalítica composta de sulfato de cobre e sulfato de sódio 1:10) sob aquecimento a 350 °C, e em seguida submetida ao processo de destilação de nitrogênio em destilador tipo Kjeldahl. A amônia destilada foi coletada em solução de ácido bórico 2% adicionado de indicador vermelho de metila, e quantificada utilizando solução padrão de ácido clorídrico 0,1 M. Para o cálculo do teor de proteínas foi utilizado o fator de correção de 6,25, e o resultado foi expresso em % (m/m) de proteínas.

4.2.3.5. *Fibras*

Foi determinado o teor de fibra detergente neutro (representado pela celulose, hemicelulose e lignina) de acordo com a metodologia de Van Soest *et al.* (1991) com modificações propostas por Souza *et al.* (1999). Para isso, cerca de 1,5 g de amostra foi adicionada em balão de fundo redondo com 10 mL de água e 0,25 mL de enzima amilase termoestável (Termamyl - Novozymes, Araucária, Brasil), sendo a mistura

aquecida à 80 °C por 20 min. Em seguida, foram adicionados 40 mL de solução detergente neutro (Sousa *et al.* 1999) ao balão e a mistura foi submetida à ebulição por 1 h, sob refluxo. Logo após, o material foi filtrado em papel filtro quantitativo previamente seco e tarado, lavando o material com 10 mL de acetona. Após secagem do filtro com resíduo a 105 °C, o material foi incinerado em mufla a 600 °C, até peso constante (determinação da matéria mineral). O teor de fibra detergente neutro foi então obtido por meio da diferença entre as pesagens do filtro, e descontando o material mineral, sendo que sua massa foi expressa em % (m/m).

4.2.3.6. Carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado por diferença, isto é, foi obtido pela subtração dos teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras de 100%, sendo expresso em % (m/m) de carboidratos.

4.2.4. Determinação de glicídios redutores (em glicose) e glicídios não redutores (em sacarose)

As análises foram realizadas utilizando ácido dinitrossalicílico (DNS), como descrito por Maldonade *et al.* (2013), a partir de um extrato aquoso preparado com as folhas. Para isso, foi preparada uma solução de DNS 0,03 M (0,171 g DNS em 25mL de NaOH 0,35M) e uma solução de tartarato duplo de sódio e potássio 0,053M (0,755 g em 50 mL de água). Para a análise, 0,25 mL da amostra foi misturada com 0,25 mL da solução de DNS e aquecida a 100 °C por 5 min, sendo logo após resfriada em gelo. Em seguida, foi adicionado 4 mL de solução de tartarato e realizada a leitura em 540 nm. O branco foi preparado nas mesmas condições, utilizando água no lugar da amostra. O resultado foi expresso em g de glicídios redutores por 100 g de amostra, com base em uma curva de calibração obtida previamente (g/L), utilizando glicose como padrão e seguindo o mesmo protocolo de análise. Para a quantificação de glicídios não redutores, a amostra foi previamente hidrolisada com HCl 2M sob fervura por 5 min, e neutralizada com NaOH 2M. A amostra hidrolisada foi analisada como descrito anteriormente, e o resultado foi expresso em g de glicídios não redutores por

100 g de amostra, considerando o fator de 0,95 para conversão da massa dos monossacarídeos glicose/frutose em sacarose.

4.2.5. Quantificação de fenólicos totais

Foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu, de acordo com Singleton *et al.* (1999), com modificações. Foi realizada uma extração prévia em etanol 50% por 30 min para obtenção dos compostos fenólicos presentes nas folhas. Em seguida, 0,25 mL do extrato a 20% foram misturados com 0,25 mL do reagente de Folin-Ciocalteu, e diluídos em 2 mL de água destilada. Após 3 minutos de incubação a temperatura ambiente, foram adicionados 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio (30% m/v) e a mistura reacional foi incubada a 37 °C por 30 minutos. Logo após, foi realizada a leitura da absorbância a 750 nm em espectrofotômetro e o resultado foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico por g de folha, com base em uma curva de calibração obtida previamente, utilizando ácido gálico como padrão e seguindo o mesmo protocolo de análise.

4.3 ESTATÍSTICA

Os experimentos foram realizados em triplicatas e foi aplicado o test-t para avaliar diferenças estatísticas entre médias, considerando $p < 0,05$, (Programa GraphPad Prism).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As espécies *Copaifera depilis* Dwyer (Figura 4A), *Copaifera luetzelburgii* Delf. (Figura 4B) e *Copaifera sabulicola* J.A.S. Costa & L.P. Queiroz (Figura 4C) presentes no Cerrado do Oeste da Bahia são arbustivas que podem atingir cinco metros de altura, apresentam folhas compostas (Figura 5), pecioladas, de consistência coriácea e glabras à exceção de *C. luetzelburgii* que é pilosa. Visualmente, são muito semelhantes entre si, em especial *C. depilis* e *C. luetzelburgii*, sendo difícil a identificação entre as espécies.

Figura 4 – Espécies de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia; A – *Copaifera depilis*; B – *Copaifera luetzelburgii*; C – *Copaifera sabulicola*.



Fonte: Autor

Figura 5 – Folhas de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia; A – *Copaifera depilis*; B – *Copaifera luetzelburgii*; C – *Copaifera sabulicola*.



Fonte: Autor

Os resultados da histoquímica (Figura 6; Figura 7; Figura 8) das espécies de *Copaifera* analisadas nesse estudo estão apresentados na Tabela 2. Não foram observadas variações de localização dos compostos detectados na histoquímica entre as espécies avaliadas neste trabalho. A histoquímica é uma análise eficiente para determinar a presença de certos grupos químicos nas plantas. Uma vez que permite uma avaliação química qualitativa do material vegetal, além de atuar como uma ferramenta que conduz as investigações de metabolitos secundários e determina os tecidos de localização e concentração de tais compostos (SIMÕES *et al.*, 2017).

Tabela 2 – Histoquímica das folhas (pecíolo e limbo) de *Copaifera depilis*, *Copaifera luetzelburgii* e *Copaifera sabulicola*.

Composto	Composto fenólico		Lipídios	Proteínas	Lignina	Amido
Reagente	Dicromato de potássio	Cloreto férrico III	Sudan III	Azul mercúrio de bromofenol	Floroglucinol	Lugol
Coloração positiva	Marrom acastanhado	Marrom enegrecido	Laranja	Azul	Rosa	Roxo enegrecido
Cavidades	+	+	+	-	-	-
Córtex	+	+	-	+	+	-
Floema	-	-	-	+	Fibras +	-
Xilema	-	-	-	-	+	-
Feixe vascular	-	-	-	-	+	-
Cutícula	-	-	+	-	-	-
Parênquima clorofiliano	+	+	-	+	-	+

Legenda: +, positivo; -, negativo.

Fonte: Autor

Os resultados obtidos nas análises de composição centesimal das folhas *in natura* de três espécies de *Copaifera* L., estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 – Composição centesimal das folhas de espécies de *Copaifera* L., em %.

Parâmetros	<i>C. depilis</i>	<i>C. luetzelburgii</i>	<i>C. sabulicola</i>
Umidade	30,67 ($\pm 0,64$) ^a	28,08 ($\pm 0,79$) ^b	29,61 ($\pm 0,41$) ^a
Cinzas	2,35 ($\pm 0,08$) ^a	2,26 ($\pm 0,11$) ^a	2,69 ($\pm 0,29$) ^a
Lipídios	1,80 ($\pm 0,08$) ^a	2,25 ($\pm 0,03$) ^b	3,53 ($\pm 0,46$) ^c
Proteínas	7,40 ($\pm 0,11$) ^a	7,90 ($\pm 0,19$) ^b	6,92 ($\pm 0,46$) ^a
Fibra alimentar	48,11 ($\pm 0,80$) ^a	50,53 ($\pm 2,23$) ^a	45,03 ($\pm 0,94$) ^b
Carboidratos	9,67	8,98	12,22

Fonte: Autor. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

Os valores observados da composição centesimal das espécies de *Copaifera* (Tabela 3) não apresentam grandes variações entre si, o que condiz ao fato delas pertencerem ao mesmo gênero. Assim como observado por Santos *et al.* (2015), o qual avaliaram a composição centesimal das folhas de diferentes espécies do gênero *Pereskia* (Cactaceae), não encontrando variações significativas em sua composição.

Com relação aos dados do teor de umidade (Tabela 3), nota-se que não há grande acúmulo de água nas folhas das espécies em questão quando comparado com folhas de plantas medicinais, como: sabugueiro (*Sambucus australis* - Adoxaceae) e goiabeira (*Psidium guajava* - Myrtaceae), e alimentícias, como: almeirão (*Cichorium intybus* - Asteraceae) e taioba (*Xanthosoma sagittifolium* - Araceae) cuja a composição de umidade ultrapassa 60% e representa mais de 90% a depender da espécie (ALMEIDA *et al.*, 2003; STORCK, *et al.*, 2013; TACO, 2011).

O teor de cinzas (Tabela 3) corresponde ao conteúdo de minerais presentes nas amostras avaliadas, assim observa-se que os valores registrados para as folhas de copaíba mostram-se condizentes com o relatado nas folhas de outras plantas, como espinafre (*Spinacia oleracea* - Amaranthaceae), couve-flor (*Brassica oleracea* - Brassicaceae) e cenoura (*Daucus carota* - Apiaceae) (STORCK, *et al.*, 2013). Testes de caracterização dos minerais presentes e determinação dos teores são necessários para compreender quais possíveis fontes de suplementação dos mesmos poderiam ser supridas com o consumo destas espécies.

A avaliação do teor de cinzas em folhas de plantas medicinais, como sabugueiro (*Sambucus australis* - Adoxaceae) e alfavaca (*Ocimum gratissimum* - Lamiaceae) (PEDRO *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2003) e plantas alimentícias não convencionais (PANC), como ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* – Cactaceae) e moringa (*Moringa oleífera* - Moringaceae) (RIBEIRO *et al.*, 2019) apresentam teor de cinzas acima de 7%, significativamente, superior ao obtido para as folhas de *Copaifera*. Porém quando comparado a hortaliças cultivadas no Bioma Cerrado, o valor do conteúdo mineral mostra-se semelhante (BOTREL *et al.*, 2020). Isso provavelmente se deve à baixa disponibilidade de minerais presentes no solo do Cerrado o qual acaba por diminuir o acúmulo dos mesmos por essas plantas (HADASAN, 2000; MALAVOLTA *et al.*, 1965).

A avaliação da umidade e cinzas totais são métodos utilizados para o controle de qualidade de matérias-primas vegetais. A determinação desses parâmetros é utilizada para detectar impurezas inorgânicas não voláteis e o acúmulo de umidade por mal acondicionamento, o qual pode acarretar a ação de enzimas que degradem a amostra e aumenta o risco de contaminação por microrganismos. A recomendação dessas análises consta em diversas farmacopeias, como método de controle de qualidade de drogas vegetais (SOARES *et al.*, 2005). Sendo assim, os resultados obtidos nesse estudo (Tabela 2) podem servir de parâmetro nos controles de qualidade para essas espécies.

A concentração de lipídios nas folhas de *Copaifera* nessa pesquisa (Tabela 3) encontra-se em quantidades condizentes a outras espécies de plantas medicinais, como por exemplo o eucalipto (*Eucalyptus tereticornis* - Myrtaceae) o qual, assim como no gênero *Copaifera*, apresenta cavidades secretoras no mesofilo capazes de armazenar óleo (ALMEIDA *et al.*, 2003). O teste com reagente sudan III (Figura 6F; Figura 7F; Figura 8F), para a detecção de lipídios totais, identificou a presença deste macronutriente apenas na cutícula que recobre toda a epiderme das folhas, além das cavidades secretoras localizadas no mesofilo e no peciólulo.

Ao comparar os teores de lipídios (Tabela 3) das três espécies de *Copaifera* em questão é notório que há uma perceptível variação entre as mesmas, sendo que *C. sabulicola* (3,53%) possui um conteúdo superior a *C. depilis* (1,8%) e *C. luetzelburgii* (2,25%), demonstrando que possivelmente esta espécie tem maior capacidade de produção e/ou armazenamento de óleo em suas folhas. Ainda, considerando que as

propriedades medicinais e nutricionais atribuídas ao gênero *Copaifera* advém do óleo extraído das cavidades secretoras, é possível presumir que *C. sabulicola* apresenta maior potencial de extração de óleo de interesse farmacêutico.

O teor de proteínas (Tabela 3) encontrado para as folhas de espécies de *Copaifera* apresenta-se superior ao obtido de folhas comuns na alimentação, como: acelga (1,4%) (*Beta vulgaris* - Amaranthaceae), agrião (2,7%) (*Nasturtium officinale* - Brassicaceae) e alface (1,3%) (*Lactuca sativa* - Asteraceae) (TACO, 2011). Demonstrando-se como boas fontes proteicas de origem vegetal. Pela reação com azul mercúrio de bromofenol (Figura 6D; Figura 7D; Figura 8D), registrou-se a reação positiva para proteínas no parênquima clorofiliano do mesófilo foliar, além das células do córtex e do floema, assim como na membrana de todas as células vegetais, evidenciando que as proteínas estão distribuídas ao longo do tecido foliar.

A análise de fibras pelo método de detergente neutro permite a quantificação da celulose, hemicelulose e lignina, as quais compõem as paredes celulares vegetais primárias e secundárias (SALMAN *et al.*, 2010). As folhas das espécies de *Copaifera* estudadas apresentam alto teor de fibras (Tabela 3), o que possivelmente demonstra o potencial nutricional das mesmas, visto que conforme Bernaud & Rodrigues (2013), o consumo de alimentos com alto teor de fibras podem auxiliar na prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes e distúrbios gastrointestinais, além de melhorar os níveis séricos de lipídios, reduzir a pressão arterial, melhorar o controle da glicemia em pacientes com diabetes melito, auxiliar no sistema imune e na redução de peso (BERNAUD; RODRIGUES, 2013).

A histoquímica utilizando-se do reagente floroglucinol (Figura 6E; Figura 7E; Figura 8E) permite detectar a deposição de lignina em células com espessamento secundário, presente entre os compostos que constituem a fibra alimentar. A mesma é perceptível nas células esclerificadas da nervura central (no córtex, no xilema e fibra floemática) e nos feixes vasculares secundários do mesófilo. A lignina é um constituinte da parede celular secundária que confere a planta um revestimento estável, capaz de protegê-la de ataques biológicos, químicos e físicos (APPEZATO-DA-GLÓRIA; CARMELLO-GUERRERO, 2006). Além dela, as fibras são constituídas de celulose e hemicelulose, polissacarídeos constituintes da parede celular vegetal (SALMAN *et al.*, 2010).

Tabela 4 – Teor de compostos fenólicos totais nas folhas de três espécies de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia.

Espécie	Fenólicos totais (mg EAG*/g)
<i>C. depilis</i>	114,68 ($\pm 5,71$) ^a
<i>C. luetzelburgii</i>	104,40 ($\pm 8,57$) ^a
<i>C. sabulicola</i>	76,70 ($\pm 2,13$) ^b

Fonte: Autor

*EAG – Equivalente em ácido gálico por g de folha; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

A quantificação de compostos fenólicos totais (Tabela 4) demonstra que *C. depilis* (114,68 mg EAG/g) e *C. luetzelburgii* (104,40 mg EAG/g) apresentam concentrações semelhantes e superiores aos obtidos em *C. sabulicola* (76,70 mg EAG/g). A histoquímica com os reagentes cloreto férrico III (Figura 6B; Figura 7B; Figura 8B) e dicromato de potássio (Figura 6C; Figura 7C; Figura 8C) cujo objetivo é identificar e localizar compostos fenólicos testaram positivo nas células da região cortical, no parênquima clorofiliano e nas cavidades secretoras.

Quando comparado ao teor encontrado em folhas de plantas medicinais, como: cerne-amarelo (*Terminalia brasiliense* - Combretaceae) com 667,90 mg EAG/g de extrato e canela-de-velho (*Cenostigma macrophyllum* – Fabaceae) com 483,63 mg EAG/g de extrato, assim como folhas de plantas alimentícias, como: Alface (*Lactuca sativa* - Asteraceae) com 108,72 mg EAG/g de extrato e rúcula (*Eruca sativa* - Brassicaceae) com 126,84 mg EAG/g de extrato, nota-se que as folhas das três espécies de *Copaifera* apresentam considerável teor de compostos fenólicos (SOUSA *et al.*, 2007; ARBOS *et al.*, 2010). Pode-se presumir, a partir disto, que as folhas dessas espécies apresentam potencial nutricional e medicinal, sendo necessários estudos de caracterização destes compostos a fim de comprovar os benefícios de sua utilização.

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários constituídos principalmente pelas classes dos: flavonoides, taninos, estilbenos e ácidos fenólicos.

Os mesmos apresentam diversas propriedades biológicas, como ação antioxidantes e quimiopreventiva. Além de serem os responsáveis por conferir a cor, aroma e sabor aos vegetais, sendo amplamente explorados devido as propriedades tecnológicas e funcionais de alimentos (PEREIRA; ANGELIS-PEREIRA, 2014).

A presença de compostos fenólicos totais oriundos de alimentos já se provou responsável por múltiplos efeitos biológicos, como antioxidante, anti-inflamatório, anticarcinogênico e antimicrobiano (SANTOS *et al.*, 2015). O consumo de alimentos ricos em tais compostos é associado à prevenção de doenças crônicas não infecciosas (PEREIRA; ANGELIS-PEREIRA, 2014), revelando assim, provavelmente, um potencial benefício na utilização nutricional das folhas de *Copaifera*.

A associação de fibras com polifenóis demonstra-se como uma promissora alternativa para obesidade, conforme proposto num estudo com folhas de amoreira (*Morus atropurpurea* - Moraceae), no qual avaliou-se a suplementação de fibras e polifenóis individualmente e em associação, em ratos, sendo que o uso concomitante promoveu redução de peso e gordura mais acentuada em comparação a suplementação destes compostos isolados (LI *et al.*, 2019). Logo, tendo em vista que folhas de espécies de *Copaifera* apresentam alto teor de fibras e compostos fenólicos, essas espécies mostram-se como promissoras à futuros ensaios farmacológicos para avaliação no controle da obesidade.

O teor de carboidratos, nessa pesquisa, foi obtido pela diferença (Tabela 3), sendo observado que *C. sabulicola* (12,22%) apresenta maior concentração de glicídios quando comparada a *C. depilis* (9,67%) e *C. luetzelburgii* (8,98%). A quantificação dos açúcares redutores, expressos em glicose, e não-redutores, expressos em sacarose está representada na Tabela 5.

A histoquímica com o reagente lugol (Figura 6G; Figura 7G; Figura 8G), com objetivo de identificar e localizar o polissacarídeo de reserva energética vegetal, o amido, mostrou-se presente apenas no parênquima clorofiliano, o que condiz ao evidenciado por Taiz *et al.* (2017), os quais afirmam que há armazenamento de amido nos cloroplastos de células fotossintetizantes.

Tabela 5 - Teores de açúcares redutores (glicose) e não-redutores (sacarose) nas folhas de três espécies de *Copaifera* do Cerrado do Oeste da Bahia, em %.

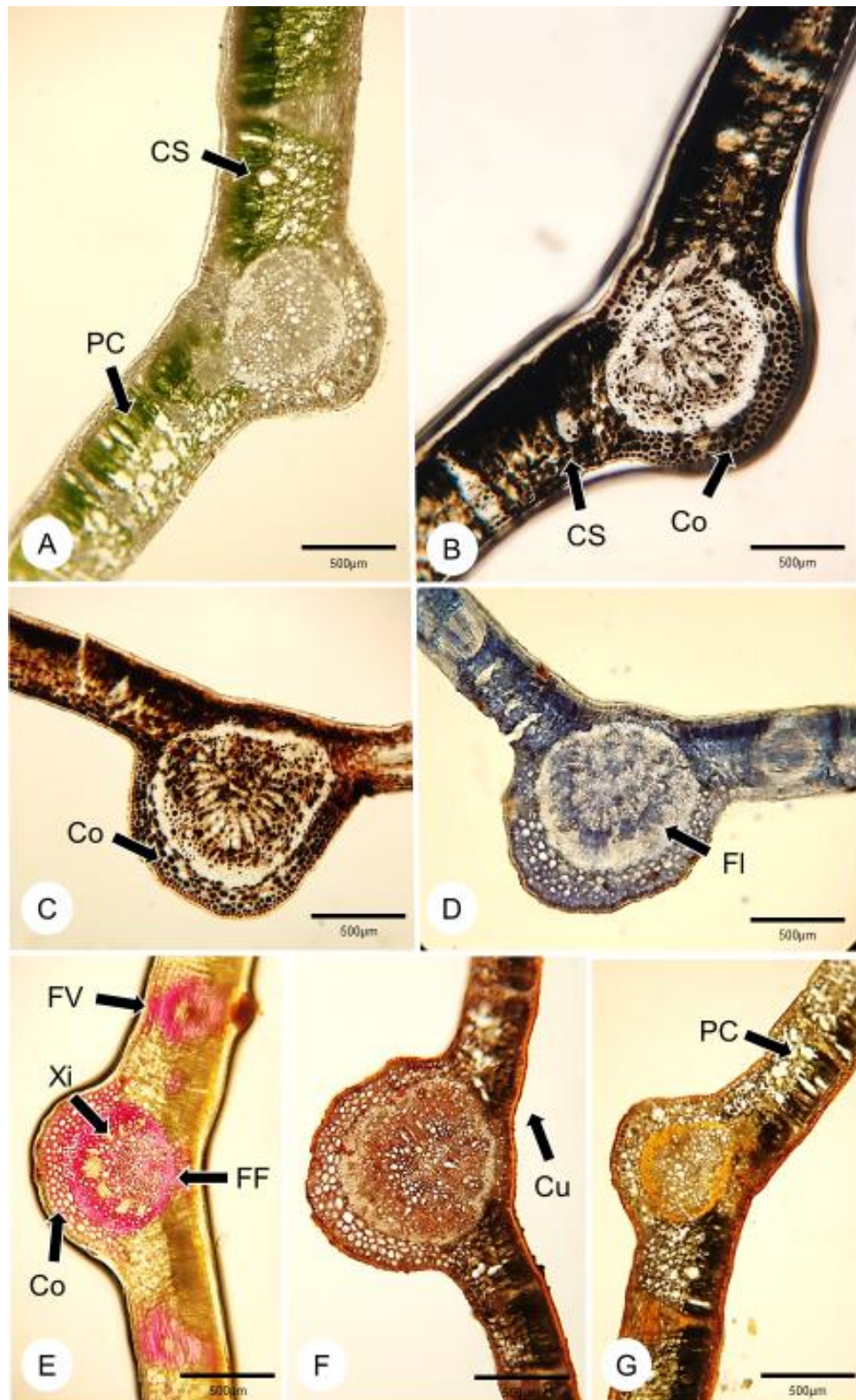
	<i>C. depilis</i>	<i>C. luetzelburgii</i>	<i>C. sabulicola</i>
Glicose	11,26 ($\pm 0,49$) ^a	11,97 ($\pm 0,39$) ^a	4,43 ($\pm 0,45$) ^b
Sacarose	4,61 ($\pm 0,53$) ^a	4,07 ($\pm 0,33$) ^a	2,35 ($\pm 0,03$) ^b

Fonte: Autor. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$).

É notório que os valores de açúcares redutores, expressos em glicose, não condiz com a realidade presente nas folhas, visto que os valores ultrapassam os teores de carboidratos obtidos na análise da composição centesimal. Isso, possivelmente, se deve a interferência de outros compostos extraídos das folhas na leitura por espectrofotometria no UV-vis. A utilização de um DNS com fenol torna o teste mais sensível à interferência por aminoácidos, sendo uma alternativa a ser aplicada afim de dosar precisamente esses açúcares (TEIXEIRA *et al.*, 2012).

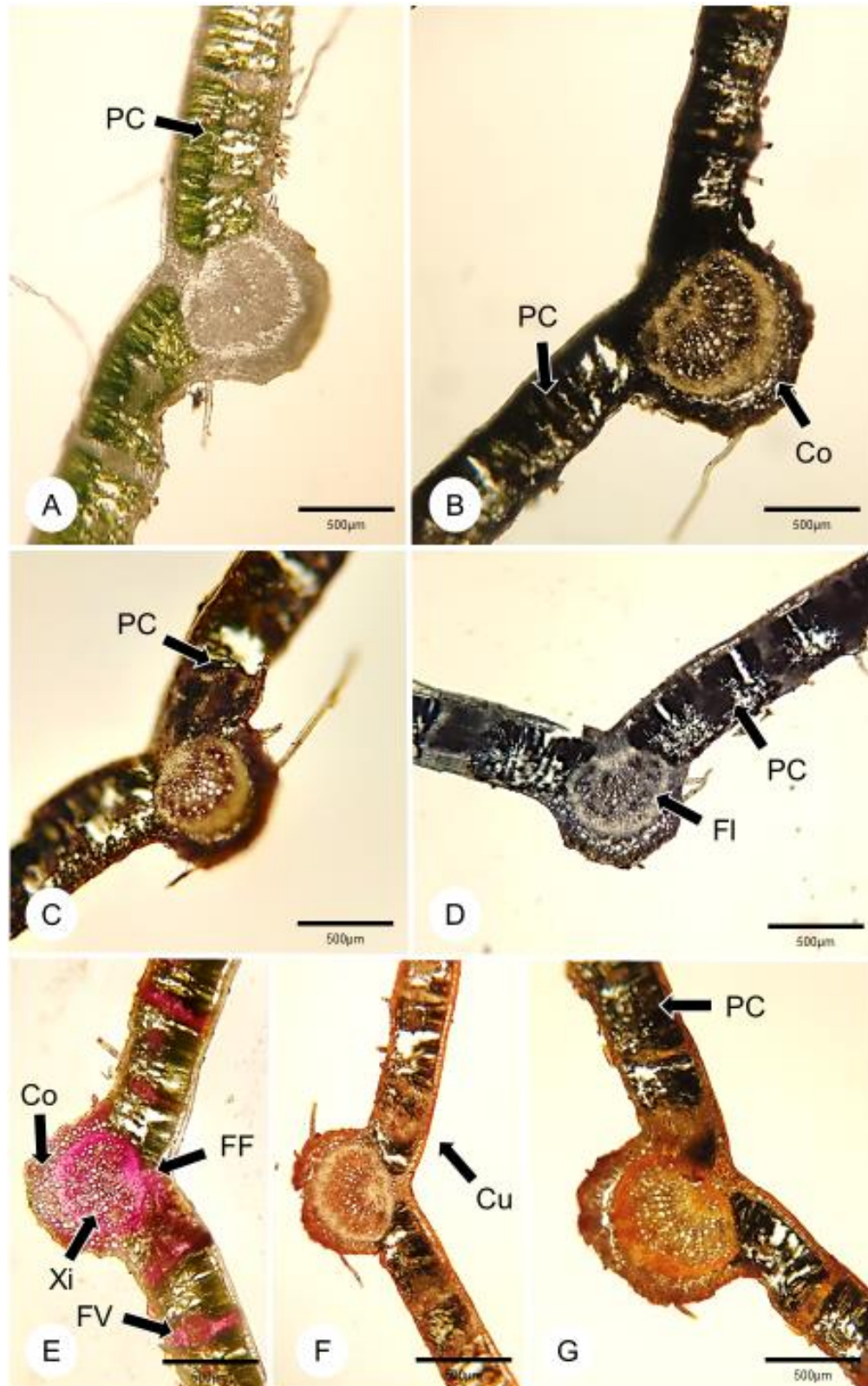
A partir da histoquímica de *C. depilis* (Figura 6), *C. luetzelburgii* (Figura 7) e *C. sabulicola* (Figura 8) é possível determinar que todas apresentam cavidades secretoras, as quais submetidas aos reagentes Sudan III, dicromato de potássio e cloreto férrico III revelaram a presença de um composto de natureza lipídica e constituído de compostos fenólicos. Isso demonstra que há produção e/ou armazenamento de uma substância de interesse farmacêutico nas folhas das três espécies de *Copaifera* L. estudadas neste trabalho. Assim, ressalta-se que estudos de caracterização e composição química das folhas e avaliação das propriedades biológicas tornam-se necessários para determinação de possíveis aplicações, tais como: produção de fitoterápicos ou isolamento de moléculas para uso terapêutico ou como aditivo alimentar.

Figura 6 – Histoquímica da nervura central e mesofilo de *Copaifera depilis*. A – Branco; B – Cloreto férrico III; C – Dicromato de potássio; D – Azul mercúrio de bromofenol; E – Floroglucinol; F – Sudan III; G – Lugol.



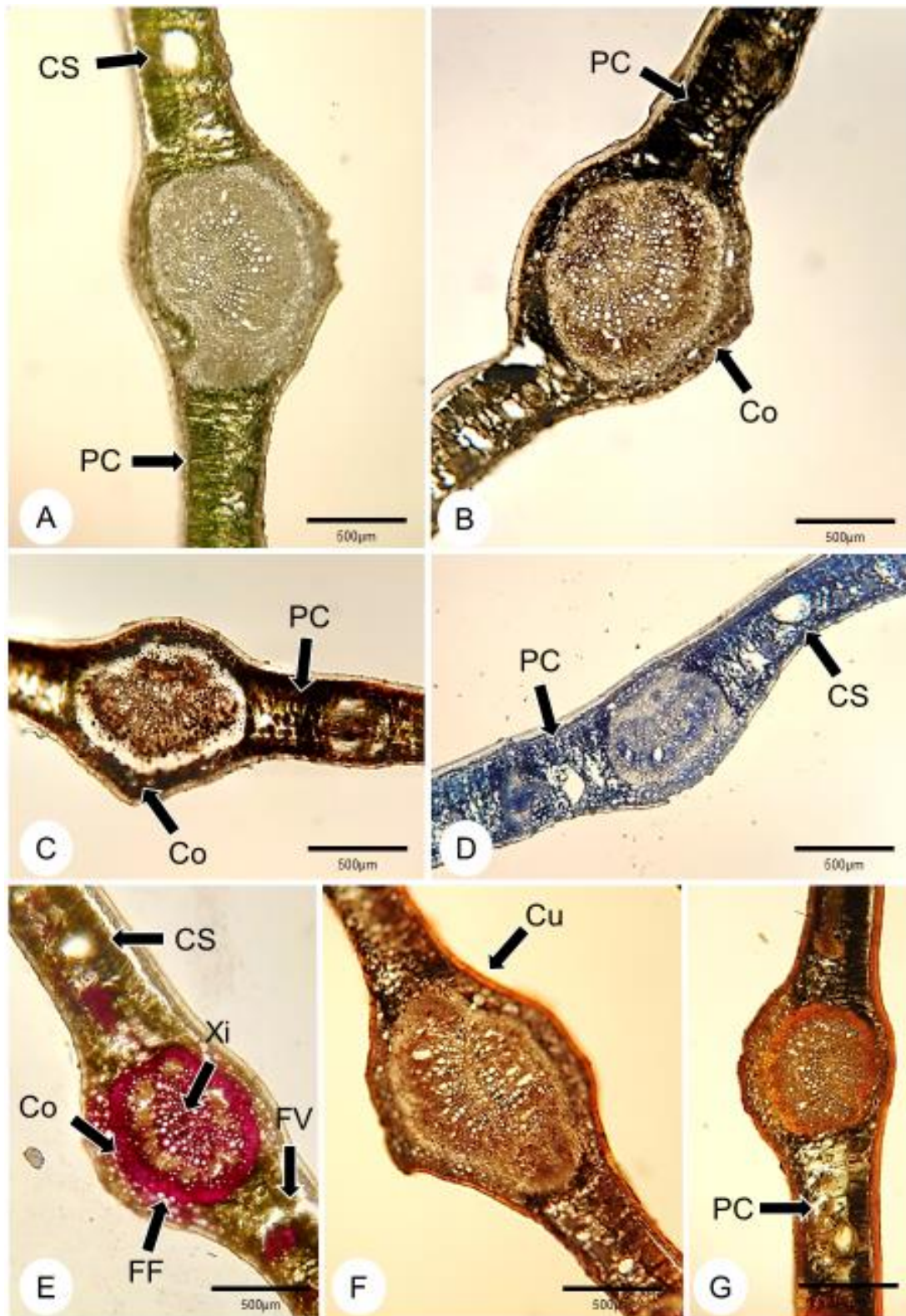
Legenda: Co - Córtex; Cu – Cutícula; CS – Cavidade secretora; FF – Fibra floemática; Fl – Floema; FV – Feixe vascular; PC – Parênquima clorofiliano; Xi – Xilema.

Figura 7 – Histoquímica da nervura central e mesofilo de *Copaifera luetzelburgii*. A – Branco; B – Cloreto férrico III; C – Dicromato de potássio; D – Azul mercúrio de bromofenol; E – Floroglucinol; F – Sudan III; G – Lugol.



Legenda: Co - Córtex; Cu – Cutícula; FF – Fibra floemática; FI – Floema; FV – Feixe vascular; PC – Parênquima clorofiliano; Xi – Xilema.

Figura 8 – Histoquímica da nervura central e mesofilo de *Copaifera sabulicola*. A – Branco; B – Cloreto férrico III; C – Dicromato de potássio; D – Azul mercúrio de bromofenol; E – Floroglucinol; F – Sudan III; G – Lugol.



Legenda: Co - Córtex; Cu – Cutícula; CS – Cavidade secretora; FF – Fibra floemática; FI – Floema; FV – Feixe vascular; PC – Parênquima clorofiliano; Xi – Xilema.

6 CONCLUSÃO

As folhas das três espécies do gênero *Copaifera* L. estudadas nesse trabalho apresentam composição centesimal semelhante e não há variação na distribuição dos compostos avaliados na histoquímica ao longo do tecido foliar entre essas espécies. As mesmas apresentam altos teores de fibras, proteínas e cinzas, o que sugere o potencial nutricional das mesmas, além de considerável concentração de compostos fenólicos os quais possuem diversas atribuições funcionais, assim como aplicações medicinais. Ainda, os teores encontrados de umidade e cinzas podem servir de parâmetro de controle de qualidade para essas espécies.

Foram identificados lipídios e compostos fenólicos nas cavidades secretores que servem de indicativo do óleo característico destas espécies e que possui diversas aplicações industriais e propriedades medicinais e nutricionais, logo, *C. depilis*, *C. luetzelburgii* e *C. sabulicola* mostram-se como plantas promissoras para usos nutricionais e medicinais, sendo necessários novos estudos da composição química e avaliação de possíveis aplicações terapêuticas e alimentícias para estas espécies.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, F. *et al.* Oleoresins and naturally occurring compounds of *Copaifera* genus as antibacterial and antivirulence agents Against periodontal pathogens. **Nature**. 2021.
- ALMEIDA, M. M. B. *et al.* Determinação de umidade, fibras, lipídios, cinzas e sílica em plantas medicinais. **B. CEEPA**. Curitiba, v. 21, n. 2, p. 343-350, 2003.
- ANDRADE, G. *et al.* Brazilian *Copaifera* species: Antifungal activity against clinical relevant *Candida* species, cellular target, and in vivo toxicity. **Journal of fungi**, v. 6, n. 153, 2020.
- APEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERRERO, S.M. **Anatomia Vegetal**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006.
- ARBOS, K. A. *et al.* Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 30, p. 501-506, 2010.
- ARRUDA, C. *et al.* Occurrence, Chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera* genus – A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, 2019.
- BECKER, Gabriela. **Oleorresina de copaíba apresenta atividade antinociceptiva tópica em um model de queimadura de pele induzido por radiação UVB em camundongos**. Orientadora: Sara Marchesan de Oliveira. Dissertação (Mestrado em ciências biológicas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2020.
- BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, 2013
- BEZERRA, N. S. *et al.* Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.) na alimentação de galos reprodutores semipesados. **Revista científica de avicultura e suinocultura**, v. 1, n. 1, 2015.
- BOTREL, N. *et al.* Valor nutricional de hortaliças folhosas não convencionais cultivadas no Bioma Cerrado. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 23, 2020.
- CARVALHO, Marissa Figueiredo. **Atividade antinociceptiva e anti-inflamatória da óleo-resina da *Copaifera glycyarpa* (Ducke)**. Orientador: Wellington da Silva Côrtes. 2012. 111 f. Dissertação (Mestrado em ciências fisiológicas) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2012.
- CASTEJON, Fernanda Vieira. **Adição de óleos de copaíba (*Copaifera* sp.) e sucupira (*Pterodon* sp.) a rações de frangos de corte**. Orientador: José Henrique Stringhini. 2013. 79 f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) – Universidade Federal do Goiás, Goiânia, 2013.

COSTA, Jorge Antônio Silva. **Estudos taxonômicos, biossistemáticos e filogenéticos em *Copaifera* L. (Leguminosae - Detarieae) com ênfase nas espécies do Brasil extra-amazônico**. Orientador: Luciano Paganucci de Queiroz. 2007. 249 f. Tese (Doutorado em botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2007.

DEUS, R. J. A.; ALVES, C. N.; ARRUDA, M. S. P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Ver. Bras. Pl. Med.** Botucatu, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2011.

DIAS, J. S. A. *et al.* Avaliação in vitro da atividade antifúngica do óleo resina de copaibeira (*Copaifera reticulata* Ducke) e da sua nanoemulsão sobre uma cepa selvagem de *Aspergillus fumigatus* Fresenius isolada da castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Bompl.). **Research, Society and Development**. v. 12, n. 4, 2023.

ESTEVES, E. A. *et al.* Nutritional composition of *Copaifera langsdorffii* Desf. aril flour and its effect on sérum lipids and glucose in rats. **Food Research International**. v. 44, p. 2357-2361, 2011

FARMACOPÉIA brasileira: plantas medicinais. 6. ed. v. 2. Brasília. 2019.

FROTA, Jhêssica Krhistine Caetano. **Avaliação química e atividade antitumoral in vitro do óleo resina de *Copaifera reticulata* Ducke**. Orientadora: Elaine Cristina Pacheco de Oliveira. 2018. 63 f. Dissertação (Mestrado em biociências) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, 2018.

HARIDASAN, M. Nutrição mineral de plantas nativas do Cerrado. **R. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 12, p. 54-64, 2000.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. Ed. (1ª Edição digital), 2018.

IZUMI, E. *et al.* Toxicity of oleoresins from the Genus *Copaifera* in *Trypanosoma cruzi*: a comparative study. **Planta Med.** v. 79, p. 952-958, 2013.

JUDD *et al.* **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

LEANDRO, L. M. *et al.* Chemistry and biological activities of terpenoids from copaíba (*Copaifera* spp.) oleoresins. **Molecules**, v. 17, p. 3866-3889, 2012.

LI, Q. *et al.* Mulberry leaf polyphenols and fiber induce synergistic antiobesity and display a modulation effect on gut microbiota and metabolites. **Nutrients**. v. 11, 2019.

LIMA, C. B. *et al.* Effects of the dietary supplementation of Sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) and Copaiba (*Copaifera langsdorffii*) resins on chicken breast and thigh meat quality and oxidative stability. **Revista brasileira de ciência avícola**, 2015.

MALAVOLTA, E. *et al.* Estudos sobre a fertilidade dos solos do cerrado: efeitos da calagem na disponibilidade do fósforo. **Anais da E. S. A.**, v. 22, 1965.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B. de; FERREIRA, N. A. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. 4p. 2013. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2013.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREIRA, J. F.; LIMA, H. C. O Gênero *Copaifera* (Leguminosae-Caesalpinioideae) na Amazônia brasileira. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 3, p. 455-476, 2008.

MOURA, L. V. *et al.* Feed efficiency and carcass traits of feedlot lambs supplemented either monensin or increasing doses of copaíba (*Copaifera spp.*) essential oil. **Animal Feed Science and Technology**, Dourados, v. 232, p 110-118, 2017.

NASCIMENTO, Manoel Euclides. **Caracterização anatômica em diferentes ambientes e óleos essenciais de cinco espécimes de *Copaifera langsdorffii* Desf.** Orientador: José Eduardo Brasil Pereira Pinto. 2010. 166 f. Tese (Doutorado em fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

OLIVEIRA, R. L. C. *et al.* Uso e conhecimento da copaíba (*Copaifera pubiflora* Benth.) pela comunidade Makuxi Darora na savana de Roraima. **Anais da XII semana nacional de ciência e tecnologia em Roraima**, 2017.

PEDRO, F. G. G. *et al.* Composição centesimal e mineral de plantas medicinais comercializadas no mercado do Porto de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Ver. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 297-306, 2016.

PEREIRA, R. C.; ANGELIS-PEREIRA, M. C. **Compostos fenólicos na saúde humana: do alimento ao organismo.** Editora UFLA: Lavras, 2014.

PIERI, F. A. *et al.* Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 64, n. 1, p. 241-244, 2012.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera sp.*): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista brasileira de plantas medicinais**. Botucatu, v. 11, n. 4, p.465-472, 2009.

QUEMEL, G. K. C. *et al.* Propriedades medicinais do óleo de *Copaifera Langsdorffii*: uma revisão integrativa de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 4, n. 3, 2021.

RIBEIRO, A. S. *et al.* Composição centesimal e mineral de plantas alimentícias não convencionais: tupinambor (*Helianthus tuberosus*), ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) e moringa (*Moringa oleifera*), comercializadas em Porto Belo, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 21, p. 38-44, 2019.

SACHETTI, C. G. *et al.* Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 4, 2009.

SALMAN, A. K. D. *et al.* Metodologias para avaliação de alimentos para ruminantes domésticos. 1. ed. Porto Velho: EMBRAPA, 2010.

SANTOS, L. S. *et al.* Análise química de folhas de cactácea do gênero *Pereskia*. **Revista Agrarian**. Dourados, v. 8, n. 30, p.343-350, 2015.

SILVA, Evandro de Araújo. **Avaliação química e farmacológica do óleo destilado de copaíba (*Copaifera* spp. – Leguminosae-Caesalpinoideae) e aplicações biotecnológicas**. Orientador: Emerson Silva Lima. 2019. 138 f. Tese (Doutorado em inovação farmacêutica) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOARES, M. L. *et al.* Caracterização farmacognóstica de folhas de *Davilla elliptica* St.-Hil. (Dilleniaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, 2005.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Quim. Nova**. v. 30, n. 2, 351-355, 2007.

SOUSA, R. B. *et al.* Aplicação do óleo resina de *Copaifera* L. na medicina popular: uma prospecção tecnológica. **Revista Geintec**, São Cristóvão, v. 3, n. 1, 2012.

SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. A.; SUMI, L. M.; BATISTA, L. A. R. **Método alternativo para a determinação de fibra em detergentes neutro e detergente ácido**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 21 p. (Boletim de Pesquisa, 4.) 1999.

SOUZA, I. I. M. S.; LIMA, R. L. F. A.; SILVA, C. S. Revestimento bioativo à base de fécula de mandioca (*Manihot esculenta*) e beterraba acrescido de óleo de copaíba bálsamo (*Copaifera officinalis*) para conservação de carne bovina in natura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, 2021.

STORCK, C. R. *et al.* Folhas, talos, cascas e sementes de vegetais: composição nutricional, aproveitamento na alimentação e análise sensorial de preparações. **Ciência Rural**. v. 43, n. 3, 2013.

TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO) 4. ed. Campinas, Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – UNICAMP, 2011.

TEIXEIRA, R. S. S. *et al.* Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity measurements. **Carbohydrate Research**. v. 363, p. 33-37, 2012.

TEIXEIRA, S. C. *et al.* *Copaifera* spp. oleoresins impair *Toxoplasma gondii* infection in both human trophoblastic cells and human placental explants. **Scientific reports**. v. 10, 2020.

TRINDADE, R.; SILVA, J. K.; SETZER, W. N. *Copaifera* of the Neotropics: A Review of the Phytochemistry and Pharmacology. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, 2018.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science, Champaign**, v. 74 (10), p. 3583-3597. Doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O Gênero *Copaifera*. L. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, 2002.

VENTRELLA, M. C. *et al.* **Métodos histoquímicos aplicados às sementes**. UFV, 2013.

ZAMBONIN, F. *et al.* Copaíba (*Copaifera* sp.): uma revisão bibliográfica sobre suas propriedades terapêuticas. **Health and Diversity**. v. 3, p. 58-64, 2019.