



**Laise de Jesus dos Santos**

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E QUÍMICA DE CASCAS  
DE ESPÉCIES AMAZÔNICAS COMO FONTE DE  
ANTIOXIDANTES NATURAIS**

**LAVRAS – MG**

**2022**

**LAISE DE JESUS DOS SANTOS**

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E QUÍMICA DE CASCAS DE ESPÉCIES  
AMAZÔNICAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES NATURAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração em Madeira como matéria prima para a obtenção do título de Mestra.

Prof. Dr. Fábio Akira Mori  
Orientador

Dra. Graciene da Silva Mota  
Coorientadora

Prof. Dr. Luiz Eduardo de Lima Melo  
Coorientador

**LAVRAS – MG  
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha  
Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados  
informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Santos, Laise de Jesus dos.

Caracterização anatômica e química de cascas de  
espécies amazônicas como fonte de antioxidantes naturais/

Laise de Jesus dos Santos. - 2022.

82 p.

Orientador: Fábio Akira Mori.

Coorientador: Luiz Eduardo de Lima Melo, Graciene da  
Silva Mota.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade  
Federal de Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Compostos fenólicos. 2. Antioxidante natural. 3.  
Extrativos. I. Mori, Fábio Akira. II. Melo, Luiz Eduardo de  
Lima. III. Mota, Graciene da Silva. IV. Título.

**Laise de Jesus dos Santos**

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E QUÍMICA DE CASCAS DE ESPÉCIES  
AMAZÔNICAS COMO FONTE DE ANTIOXIDANTES NATURAIS**

**ANATOMICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF THE BARKS OF  
AMAZONIAN SPECIES AS A SOURCE OF NATURAL ANTIOXIDANTS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, área de concentração em Madeira como matéria prima para a obtenção do título de Mestra.

APROVADA em 15 de julho de 2022.

Dr. Fábio Akira Mori UFLA

Dra. Graciene da Silva Mota

Dra. Alessandra de Oliveira Ribeiro

Prof. Dr. Fábio Akira Mori Orientador

Dra. Graciene da Silva Mota Coorientadora

Prof. Dr. Luiz Eduardo de Lima Melo Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2022**

A Deus e aos meus pais: Alaide de Jesus dos Santos e José Oliveira dos Santos, as pessoas que buscam o uso sustentável dos recursos amazônicos e a todas as mulheres negras que me inspiram!

**Dedico com amor e carinho**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus por nunca ter me desamparado e por ter me dado forças em momentos extremantes complicados. Além de ter me permitido conhecer pessoas incríveis que muitos se tornaram famílias sem laços de sangue ao longo da vida.

À minha família pelo o amor, acolhimento e carinho.

A meu grupo de amigos de todo uma vida: Camila, Deborah, Giselle, Gabriellen, Elke e Otavio, gratidão por vibrar e compartilhar comigo os momentos mais incríveis e tristes a quase duas décadas.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia da Madeira, pela oportunidade, infraestrutura e profissionais. À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Gupo Arboris por todo o suporte, logística de campo e material para o desenvolvimento da pesquisa, além do acompanhamento ao longo do desenvolvimento do estudo. Agradeço ao Sr. Marco Siviero, Sabrina Benmuyal, Jadiel, Ana Paula e todos os outros colabores do Grupo Arboris que contribuíram diretamente ou indiretamente com essa pesquisa.

A seu Zé o parabolânico que foi fundamental no campo para coleta do material, minha imensa gratidão.

Ao meu orientador, prof. Dr. Fábio Akira Mori, pela confiança, ensinamentos e contribuições.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Luiz Eduardo de Lima Melo, pela amizade, confiança, conselhos e o incentivo para continuar pesquisando e contribuindo com o desenvolvimento florestal sustentável da Amazônia.

À minha coorientadora, Dra. Graciene da Silva Mota, pela contribuição na decisão da linha de pesquisa a seguir no mestrado e disponibilidade para ajudar no desenvolvimento da pesquisa.

Aos funcionários dos Departamentos de ciências Florestais, Química e Biologia da UFLA, pelo suporte técnico para realização das várias análises.

Ao Herbário da Embrapa Amazônia Oriental (IAN), Belém (PA).

A todos os colegas do Laboratório de Anatomia da madeira e do Núcleo de Estudos em Anatomia e Produtos Químicos da Madeira (NEAPQUIM). Em especial a Elesandra Araujo e Mario Lorenço por toda contribuição, paciência e carinho comigo durante o desenvolvimento de toda a pesquisa.

As minhas amigas de graduação e de apartamento em Lavras, Thayrine Matos e Gabriele Andrade por terem me acolhido com carinho e serem minha família. E a todos os amigos que

foram famílias em Lavras, sendo: Dafila, Yanka, Michelle, Laura, Alba, Ana, Rafael, João, Otavio, Yony, José, Aline, Luana, Pedro, Renato, Camila, Vittor e Vitor. Se esqueci de alguém saiba que está em meu coração e sou grata por ter compartilhado essa fase da minha vida com você.

A Bianca e Lohana pela amizade e a parceria para trabalhar com cascas de espécies amazônicas, sou muito grata pelo empenho e dedicação de vocês.

Finalmente, sou grata a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho e de todo esse ciclo que Deus abençoe cada um e retribua tudo o que fizeram por mim durante essa jornada.

**Imensamente grata!**

## RESUMO

O objetivo geral foi caracterizar as cascas do caule das espécies arbóreas *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, *Zanthoxylum ekmanii* e *Protium tenuifolium* que ocorrem em área de manejo sustentável na Amazônia brasileira, tendo em vista o potencial de utilização de suas cascas como fonte de compostos fenólicos para aplicação em antioxidantes naturais. As cascas das espécies foram coletadas de oito indivíduos em área de manejo sustentável no município de Dom Eliseu, Estado do Pará, Brasil. A caracterização anatômica consistiu na análise macroscópica e microscópica das cascas. A mensuração das células foi realizada a partir da dissociação do macerado das cascas das espécies. As cascas foram caracterizadas ainda quanto à química somática, componentes minerais, compostos fenólicos e atividade antioxidante. Extratos tânicos foram obtidos das cascas com e sem adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (sulfito de sódio) em relação à massa seca e seus rendimentos em taninos condensados determinados pelo índice de Stiasny. Observou-se que as cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum*, *Z. ekmanii* e *P. tenuifolium* são formadas por floema condutor, floema não condutor e ritidoma. As cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum*, *Z. ekmanii* apresentaram grande quantidade de aglomerados de esclereides, e *P. tenuifolium* foi observado elevada quantidade de células secretoras. Na espécie *S. parahyba* var. *amazonicum* ocorreu astroesclereide. Os principais resultados químicos demonstraram que os extratos das cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum* apresentaram 0,67% de taninos condensados na extração em água e 1,81% com adição de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. Já *S. parahyba* var. *amazonicum* apresentou 0,80% e 1,24%, respectivamente. Em *P. tenuifolium* os valores para as duas condições de extração foram 5,1% e 8,1%, respectivamente, resultados superiores à das outras espécies. Em relação aos resultados de atividade antioxidantes, os valores de IC<sub>50</sub> do extrato de *S. parahyba* var. *amazonicum* foram mais elevados em comparação com o antioxidante comercial butil-hidroxitolueno (BHT), indicando que a casca necessitava de uma maior quantidade de extrato para inibir 50% dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH), entretanto em outras concentrações de amostras foram observado que o extrato da casca apresentou atividade antioxidante mais elevada que o BHT, o mesmo foi observado nos extratos da casca de *Z. ekmanii*. Os extratos da casca de *P. tenuifolium* apresentou os valores de IC<sub>50</sub> superiores em comparação com o antioxidante comercial butil-hidroxitolueno (BHT), indicando que a concentração foi insuficiente para inibir 50% dos radicais livres 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH), entretanto em todas as concentrações de amostras do extrato da casca *P. tenuifolium* foram apresentados atividade antioxidante superior ao BHT. Na concentração de 25 µg mL<sup>-1</sup>, o extrato da casca atingiu 83,5% de inibição contra o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), enquanto o BHT inibiu apenas 75,0%.

**Palavras-chave:** Compostos fenólicos. Antioxidante natural. Extrativos. Amazônia.

## ABSTRACT

The general objective was to characterize the stem barks of the tree species *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, *Zanthoxylum ekmanii* and *Protium tenuifolium* that occur in areas of sustainable management in the Brazilian Amazon, considering the potential use of their barks as a source of phenolic compounds for application in natural antioxidants. The species' barks were collected from eight individuals in a sustainable management area in the municipality of Dom Eliseu, Pará State, Brazil. The anatomical characterization consisted of macroscopic and microscopic analysis of the bark. Measurement of the cells was performed by dissociating the macerated bark of the species. The barks were further characterized for somatic chemistry, mineral components, phenolic compounds, and antioxidant activity. Tannic extracts were obtained from the barks with and without addition of 3% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (sodium sulfite) in relation to dry mass and their yields of condensed tannins determined by the Stiasny index. It was observed that the barks of *S. parahyba* var. *amazonicum*, *Z. ekmanii* and *P. tenuifolium* are formed by conductive phloem, non-conductive phloem and rhytidome. The barks of *S. parahyba* var. *amazonicum*, *Z. ekmanii* showed a large amount of clusters of sclereids, and *P. tenuifolium* had a high amount of secretory cells. In the species *S. parahyba* var. *amazonicum* there were astrochlereids. The main chemical results showed that the bark extracts of *S. parahyba* var. *amazonicum* presented 0.67% of condensed tannins in water extraction and 1.81% with the addition of Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (sodium sulfite). *S. parahyba* var. *amazonicum* showed 0.80% and 1.24%, respectively. In *P. tenuifolium* the values for the two extraction conditions were 5.1% and 8.1%, respectively, which were higher than the other species. Regarding the results of antioxidant activity, the IC<sub>50</sub> values of the extract of *S. parahyba* var. *amazonicum* were higher compared to the commercial antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT), indicating that the bark needed a greater amount of extract to inhibit 50% of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) free radicals, however in other sample concentrations it was observed that the bark extract showed higher antioxidant activity than the BHT, the same was observed in *Z. ekmanii* bark extracts. The extracts of *P. tenuifolium* bark presented IC<sub>50</sub> values higher compared to the commercial antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT), indicating that the concentration was insufficient to inhibit 50% of the free radicals 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH), however, in all concentrations of samples of *P. tenuifolium* bark extract, the antioxidant activity was higher than the BHT. At the concentration of 25 µg mL<sup>-1</sup>, the bark extract achieved 83.5% inhibition against the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH), while BHT inhibited only 75.0%.

**Keywords:** Phenolic compounds. Natural antioxidant. Extractives. Amazon.

## Sumário

|  |    |
|--|----|
| <b>PRIMEIRA PARTE</b> .....  | 11 |
| <b>1 INTRODUÇÃO</b> .....  | 12 |
| <b>2. REFERÊNCIAL TEÓRICO</b> .....  | 14 |
| <b>2.1 <i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> (Huber ex Ducke) Barneby</b> .....  | 14 |
| <b>2.2 <i>Zanthoxylum ekmanii</i> (Urb.) Alain</b> .....   | 15 |
| <b>2.3 <i>Protium tenuifolium</i> (Engl.) Engl</b> .....   | 18 |
| <b>2.4 Anatomia da casca</b> .....   | 19 |
| <b>2.5 Química da casca</b> .....  | 20 |
| <b>2.6 Antioxidantes provenientes de cascas arbóreas</b> .....   | 21 |
| <b>3. CONCLUSÃO</b> .....  | 22 |
| <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | 22 |
| <b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....   | 31 |
| <b>ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E QUÍMICA DAS CASCAS DE <i>Schizolobium parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> E <i>Zanthoxylum ekmanii</i>, DA AMAZÔNIA UTILIZADAS PARA LAMINAÇÃO</b> ..... | 32 |
| <b>ARTIGO 2 – A casca de <i>protium tenuifolium</i> proveniente da Amazônia como fonte de extratos fenólicos com propriedades antioxidantes</b> .....  | 59 |

**PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO

O bioma Amazônia é o maior do Brasil ocupando cerca de 4 milhões de km<sup>2</sup> do território brasileiro (ICMBio, 2022), resultando em aproximadamente 49% do território nacional (INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS, 2022). A Amazônia é formada por diferentes ecossistemas, como: florestas ombrófilas, campinaranas, matas de terra firme, savanas, várzeas, igapós, florestas inundadas e campos abertos (MMA, 2006; INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS, 2022).

Várias partes de espécies amazônicas podem ser exploradas tais como: madeira, folhas, raízes, frutos e cascas. Ressaltando que especificamente as cascas de espécies arbóreas amazônicas são exploradas por populações tradicionais que vivem nesse bioma devido os princípios etnomedicinais presente nessas cascas (AMOROZO,1997; SIANI, et al.,2017 SARAIVA FILHO et al., 2020). Entretanto, ainda são insipientes os estudos científicos em relação as cascas dessas espécies e as possíveis aplicações industriais em produtos de bases renováveis como antioxidantes naturais.

Araujo et al. (2020) destaca que as informações a respeito dos componentes celulares das cascas do caule é um instrumento importante que quando combinado com a composição química, é benéfico para busca de potenciais usos não madeireiros, e assim valorizar as espécies florestais. Já que variados produtos de alto valor agregados podem ser produzidos a partir das cascas de árvores (JANSONE et al., 2017). Além disso, diversos resultados de pesquisa têm informado sobre eficácia das cascas e seus derivados para biorrefinarias e, sobretudo, na extração dos compostos fenólicos (SARTORI et al., 2016; MOTA et al.,2017; SARTORI et al., 2018; NEIVA et al., 2018). Esses extrativos fenólicos das cascas, dentre os quais se destacam os taninos, são utilizados na fabricação de bebidas, indústria farmacêutica, tratamento de água, curtimento de couros, conservantes e adesivos para madeira (SHIRMOHAMMADLI et al., 2018). Nesse sentido, o estudo das cascas de espécies amazônicas é um passo importante para se obter informações para futuramente ofertar compostos a partir dessas cascas, uma vez que na atualidade as principais espécies estudadas quanto aos componentes da casca se encontram nos Biomas Cerrado e Caatinga (ARAUJO et al., 2021).

Na Amazônia o manejo sustentável destaca-se, e possui como principal objetivo a exploração madeireira e na maioria das ocasiões as cascas são descartadas em campo ou no local de beneficiamento do lenho, dessa forma as cascas de árvores de áreas de manejo também podem ser usadas industrialmente como para produzir antioxidantes naturais, entretanto, para isso se faz necessário mais pesquisas que visem caracterizar essas cascas (EMBRAPA, 2022).

Estudos recentes com espécies amazônicas como *Myrcia eximia* e *Astronium lecointei* mostraram atividade antioxidante com potencial para ser aplicado em escala industrial (ARAÚJO et al., 2020; MOTA et al., 2021). Atualmente existe uma crescente busca por esses produtos naturais, já que os sintéticos têm causado efeitos colaterais como variadas alergias nos usuários (GAO et al., 2007; CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

Sendo assim, esse estudo buscou pesquisar as espécies *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby, pertencente à família Fabaceae e que possui como nome popular paricá, *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain, que faz parte da família Rutaceae e é conhecida popularmente como limãozinho e *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl que integra a família Burseraceae e possui como nome vernacular Breu. Existem relatos da utilização das cascas dessas espécies para fins medicinais por populações amazônicas o que pode ser indício de compostos fenólicos, além disso, *Protium tenuifolium* possui cascas com coloração avermelhada, característica que indica a presença de compostos fenólicos (AMOROZO, 1997; THOMAS; GRANT, 2011; SANTOS et al., 2021).

Baseado na hipótese do potencial de extração em compostos fenólicos, a pesquisa foi realizada com o objetivo geral de caracterizar as cascas do caule das espécies arbóreas *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, *Zanthoxylum ekmanii* e *Protium tenuifolium* que ocorrem em área de manejo sustentável na Amazônia brasileira, tendo em vista o potencial de utilização de suas cascas como fonte de compostos fenólicos para aplicação em antioxidantes naturais. Além de especificamente, (i) Descrever a composição anatômica e química das cascas, (ii) Quantificar o rendimento em taninos condensados extraídos com e sem sulfito de sódio, (ii) Avaliar a atividade antioxidante dos extratos das cascas.

## 2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby

*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* é uma variação da espécie *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake, da família Fabaceae, popularmente conhecida como paricá é uma espécie arbórea de ocorrência natural nos estados de Acre, Amazonas, Mato Grosso, Pará e Rondônia (BARNEBY, 1996; LEWIS, 2015; MELO et al., 2018). Essa espécie possui ocorrência registrada em florestas primária de terra firme e várzea alta e também em florestas secundárias, sendo que as árvores podem atingir até 30m de altura e diâmetro de aproximadamente 1, 2 m (SOUSA et al., 2003).

O paricá tem sido explorado tanto em vegetação natural quanto em área abandonada, como matéria prima para compensados (ALVINO et al., 2005). Além de ser explorada a partir de plantios, sendo a espécie madeireira com a maior área plantada na região amazônica, com aproximadamente 90.000 hectares (MASCARENHA et al., 2021).

Ressalta-se a utilização de *S. parahyba* var. *amazonicum* em cultivos florestais e sistemas agroflorestal na Amazônia, devido a qualidade da madeira para diferentes fins, bom desenvolvimento silvicultural, rápido crescimento, adaptação às diversas condições edafoclimáticas e a capacidade de atingir uma produtividade de  $38 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ , sendo assim uma das poucas espécies nativas que possuem uma produtividade semelhante a espécies do gênero *Eucalyptus* (PEREIRA et al., 2017).

A madeira do Paricá é usada principalmente para produzir laminados e painéis compensados devido as características favoráveis a essas aplicações industriais (IWAKIRI et al., 2011). A madeira produzida a partir do Paricá apresenta poucos defeitos e trocos com fatores de forma elevados, tais parâmetros tecnológicos refletem no rendimento e qualidade do compensado produzido (SILVA et al., 2019). Apresenta fibras com tamanho entre 1,10 e 1,59 mm e o teor de lignina de 35% (SOUSA et al., 2003). A madeira de Paricá permite fácil remoção da casca, laminação, secagem, prensagem e excelente acabamento (TEREZO; CORDOVA; SAMPAIO, 2019).

A casca interna é creme-rosada, granulosa, amarga e tem um odor desagradável de almíscar, já a casca externa é lisa e verde quando jovem, tornando-se cinza-amarelada com manchas brancas quando adulta, com lenticelas e marcas anulares provenientes da cicatriz das folhas, podendo atingir até 15 milímetros de espessura, como na figura 1 (SOUSA et al., 2003; CARVALHO, 2007; SOUZA, 2014).

Figura 1 - Casca da espécie, *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby



Fonte: Santos (2021)

Na medicina popular etnias indígenas amazônicas usam a casca para fazer chás e as folhas como febrífugo. Em Barcarena, Pará, o chá da casca do tronco de *Schizolobium amazonicum* é utilizada pela população local para o tratamento de diarreia e outras parte do tronco são usadas para o tratamento de disenteria e hemorragia uterina (AMOROZO,1997). As cascas possuem propriedades terapêuticas adstringentes (FERREIRA et al., 2007).

Extratos das folhas de *Schizolobium amazonicum* possui propriedades capaz de neutralizar veneno de cobra (Mendes et al., 2007). Vale et al. (2011) isolou quatro compostos do extrato aquoso liofilizado de folhas de *Schizolobium parahyba*, sendo esses compostos: isoquercitrina, miricetina-3-O-glicosídeo, catequina e galocatequina esses compostos apresentaram propriedades anti-ofídicas.

Entretanto, não existe muitas informações em relação ao uso específico da casca de *S. parahyba* var. *Amazonicum*. apesar da indústria de laminação fazer uso de um grande volume da madeira da espécie, a casca é descartada não existindo valorização desse matéria-prima, assim como também não existem muitas informações sobre as propriedades tecnológicas da casca dessa espécie e qual o melhor direcionamento industrial.

## 2.2 *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain

*Zanthoxylum* L. é o maior gênero pertencente à família Rutaceae, composto por aproximadamente 225 espécies das quais 26 são encontradas no Brasil (GROPPO; PIRANI, 2017). As árvores desse gênero alcançam de 6 a 18 metros de altura, o tronco e os ramos normalmente possuem acúleos que são estruturas semelhantes a espinhos (LORENZI, 1992).

A espécie *Zanthoxylum ekmanii* é conhecida popularmente na região amazônica como limãozinho é uma árvore com aproximadamente de 7 a 13 metros de altura, possui acúleos na base do tronco, (fig 2) , com ocorrência na Bolívia, Brasil, Costa Rica, Cuba, Equador, Guiana Francesa, México, Panamá e Peru (FACUNDO et al., 2005). De acordo com Ruschel et al. (2015) em um estudo com amostragem de 50 parcelas permanentes de 50 m x 50 m estabelecidas em uma área experimental de 535 ha, na Fazenda SHET, propriedade do Grupo Arboris no município de Dom Eliseu, Pará, do universo amostral de toda a comunidade 16.096 árvores inventariadas, a espécie *Z. ekmanii* ocupou 1,66% (267 árvores) e média de 22,2 árvores.ha<sup>-1</sup>.

Figura 2 - Casca da espécie, *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain



Fonte: Santos (2021)

Todas as partes vegetais de *Zanthoxylum*, folhas, frutos e casca têm sido relatados propriedades medicinais (THOMAS; GRANT, 2011). Pesquisas etnobotânicas relatam que a população que vive na região do baixo madeira em Porto velho - Rondônia utiliza o chá das folhas e raízes da espécie de *Z. ekmanii* na medicina popular para tratar, malária, doenças vaginais e aliviar dor de dente (FACUNDO et al., 2005; SARAIVA FILHO et al., 2020). A espécie *Zanthoxylum rhoifolium* é utilizada pela população amazônica brasileira para tratamento de variadas doenças tais como malária, câncer e redução de processos microbianos (GONZAGA et al., 2003). A casca de *Z. Rhoifolium* é usada como antimaláricos na Guiana Francesa (BESSA et al., 2019).

As diversas espécies de *Zanthoxylum* são ricas em óleos essenciais que tem demonstrado serem eficientes como repelente, inseticida, larvicida, antimalárico, anti-helmíntico, além de

algumas espécies do gênero serem utilizadas na culinária local no nordeste do Brasil (COSTA et al., 2010). Os frutos de *Zanthoxylum rhetsa* são secos ao sol e posteriormente adicionados a alimentos leguminosos e peixes na Índia Ocidental. As cascas do fruto de *Zanthoxylum piperitum* é utilizada para a confecção da pimenta-de-sichuan ou pimenta-chinesa que é uma das especiarias mais importantes da china que integra o condimento conhecido como cinco perfumes chinês que consegue equilibrar os sabores doce, amargo e picante (NOOREEN et al., 2019).

Esses óleos essenciais podem ser encontrados nas folhas de diversas espécies do gênero *Zanthoxylum*, tais como: *Zanthoxylum ekmanii* (11,5%), *Zanthoxylum syncarpum* (9,2–9,3%), *Zanthoxylum setulosum* (13,7%), *Zanthoxylum rubescens* (22,1%), além disso, podem ser encontrados no fruto de *Zanthoxylum schinifolium* e *Zanthoxylum bungeanum*, já a espécie de *Zanthoxylum avicennae* o óleo essencial é encontrado nas folhas e no caule (HE; WANG; ZHU, 2018).

Já a casca de várias espécies do gênero ao longo dos anos, tem sido muito utilizada para dores de dentes, cólicas e reumatismo. Tradicionalmente *Zanthoxylum armatum* é amplamente usada no nordeste da Índia e sudeste Ásia, sob a forma de infusão e decocção. A casca da planta tem berberina, óleo volátil, compostos fenólicos e resina (NOOREEN et al., 2019). *Zanthoxylum gillettii* é utilizada para o tratamento de mordida de cobra, tosse aguda, resfriado e a casca do caule, especificamente, é direcionada para o tratamento de feridas e dor de dentes (GAYA et al., 2013). A casca de *Z. armatum* possui efeito terapêutico para reduzir inflamações, dores e disfunção articular (MA et al., 2015).

De acordo com Tavares et al. (2014) o extrato metanólico das cascas *Z. rhoifolium* apresentou à atividade antimicrobiana contra várias cepas de bactérias (*B. subtilis*, *S. aureus*, *Enterococcus spp*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*) e fungos (*C. tropicalis*, *C. parapslosis*, *C. albicans*, *Morganella morganii*).

Facundo et al. (2003) descreveram a composição química do óleo das folhas fresca de *Zanthoxylum ekmanii* e Facundo et al (2005) realizaram a descrição dos constituintes químicos das folhas e raízes dessa espécie. Dentre os resultados destacados por eles, tem se que algumas substâncias encontradas nos extratos possuem atividade biológica, tais como: skimianina (possui atividade cardiovascular e leishimanicida) e lignana sesamina (apresenta atividade antifúngica e efeito anti-hipertensivo), entretanto segundo os autores o que justifica a utilização etnobotânica dessa espécie é a substância encontrada chamada de lupeol que possui atividade inibitória contra o protozoário *Plasmodium falciparum* que é uma das espécies do gênero *Plasmodium* capaz de causar malária no ser humano.

Nesse sentido, justifica-se a investigação anatômica e química das cascas dessa espécie que até então são limitadas as informações sobre a composição celular e os componentes químicos e as suas respectivas atividades antioxidantes.

### 2.3 *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl

A família Burseraceae compreende cerca de 700 espécies, sendo que no Brasil, ocorrem aproximadamente 100, distribuídas nos gêneros *Protium* Burm. f., *Bursera* Jacq. ex L., *Tetragastris* Gaertn., *Crepidospermum* Hook. f., *Dacryodes* Vahl e *Trattinnickia* Willd (JOLY, 1983; BARRROSO, 1984; TOSTES, 2015). Somente do gênero *Protium* Burm.f. existem 68 espécies que são encontradas no Brasil (SANTANA et al., 2020). Dessas espécies, 20 são encontradas no território brasileiro sendo endêmicas nos biomas, Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Entretanto, Toste (2015) ressalta que grande parte dessas espécies nativas ocorrem na Amazônia.

O gênero *Protium* se destaca na família Burseraceae por apresentar cerca de 146 espécies e essas ocorrem predominantemente na Amazônia legal (DALY, 1987; TOSTE et al., 2020). As suas cascas são lisas, grossas, fissuradas e normalmente apresentam desprendimento de fragmento de variados tamanhos e canais resinosos associados com os tecidos vasculares (DALY, 1987). A madeira do gênero *Protium* é utilizada para construção civil, moveis, barcos, instrumentos musicais e celulose e papel (FERNANDEZ E SCUDELLER, 2011).

Figura 3 - Casca da espécie, *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl



Fonte: Santos (2021)

As espécies do gênero *Protium* possuem um grande potencial para produção de novos produtos, pois produzem as oleoresinas, conhecidas popularmente como breu que são usadas na medicina tradicional pelas populações amazônicas, como é o caso das comunidades quilombolas que vivem no entorno do rio Erepecuru em Oriximiná, Pará. As oleoresinas são usadas como anti-inflamatório, analgésico, expectorante, inseticida natural, bem como incenso e para calafetar barcos. A indústria utiliza principalmente para a fixação de perfumes (SILVA et al., 2017; FERREIRA et al., 2020). As resinas produzidas a partir de espécies de *Protium*,

fazem parte do extrativismo não madeireiro e gera renda para comunidades como acontece no município de Silves, Amazonas (SIANI, et al., 2017). Nas angiospermas, as resinas localizam-se nos aparelhos secretores constituídos por bolsas esquizogêneas que ocorrem no floema primário e xilema de tecido de plantas jovens (PLOWDEN, 2001).

A espécie de *P. altsonii* produz madeira para uso industrial, entretanto não é uma espécie muito explorada na Amazônia (BASTISTA, 2018). Pesquisas que analisaram a composição química das resinas provenientes dessa espécie mostraram um padrão de composição, constituído por limoneno, e p-cymene, trans-dihydro- $\alpha$ -terpineol (MURTHY et al., 2016). Silva (2012) analisou o óleo essencial da madeira dessa espécie e observou que o constituinte predominante deste é o sesquiterpenos e os componentes majoritários identificados foram o  $\alpha$ -calacoreno e o epi- $\alpha$  muurolol.

A espécie *P. tenuifolium* é conhecida popularmente como breu-vermelho na região norte do Brasil. Santos et al. (2021) estudaram o óleo essencial da casca dessa espécie e obtiveram um rendimento de 0,05%. O GC/MS e os principais constituintes químicos do óleo foram o limoneno (56,17%),  $\alpha$ -phellandrene (16,22%) e p-cymene (10,52%), respectivamente. Entretanto, na literatura ainda são escassas informações detalhadas sobre a caracterização anatômica e química da casca de *P. tenuifolium* e do táxon *Protium* sp. tornando necessárias pesquisas nessas linhas de conhecimento.

#### **2.4 Anatomia da casca**

A casca corresponde todos os tecidos exteriores ao câmbio vascular (EVERT; EICHHORN, 2006). O desenvolvimento das cascas se dá a partir dos meristemas secundários, câmbio vascular e o felogênio (FAHN, 1982; EVERT, 2006). O floema secundário é formado a partir do câmbio vascular, sendo constituído por diversos tipos de células (EVERT, 2006).

A periderme é um tecido de revestimento secundário formado a partir do felogênio que produz internamente a feloderme e externamente o súber (FAHN, 1982). A feloderme é um tecido composto por células parenquimáticas vivas que geralmente estão dispostas radialmente com as iniciais do felogênio (FAHN, 1982, EVERT, 2006). Já o súber é um tecido composto por células mortas na maturidade, suberizadas, com arranjo compacto e sem espaços intercelulares (EVERT, 2006).

O câmbio vascular produz menos floema do que xilema, devido a isso o floema é mais comprimido para a periferia (ESAU, 1976). Dessa forma, o floema possui duas regiões diferentes, sendo uma mais interna localizada próxima ao câmbio vascular, estruturalmente organizada e funcionalmente ativa que é o floema não colapsado e outra mais externa,

desorganizada e fisiologicamente inativa para a condução nomeada de floema colapsado (RICHTER et al., 1996).

O felogênio é um meristema formado com um único tipo de células que em cortes transversais apresentam forma retangular (CHATTAWAY, 1953). O felogênio produz através de divisões periclinais, células de felema que é o tecido suberoso (súber) para o exterior e células de feloderme para o interior. A periderme é assim constituída pelo conjunto de feloderme, felogênio e felema. As camadas de tecidos mortos isolados pela última periderme formam o ritidoma. O ritidoma pode incluir uma grande variedade de tecidos e de diferente origem, inclusive incluir tecido primário (ROTH, 1981).

As características anatômicas e morfológicas da casca podem ser utilizadas para fins taxonômicos, avaliações filogenéticas e investigações forenses (GOULART, 2010; CACCIANIGA et al, 2021).

## **2.5 Química da casca**

A composição química da casca é complexa e varia entre a casca interna e externa e entre e dentro de espécies. Essa composição difere da madeira em devido ao alto teor de extrativos solúveis em água ou solventes orgânicos, cinzas e polifenólicos, sendo que os taninos são responsáveis pela fração majoritária dos polifenólicos (FRADINHO et al., 2002).

De acordo com Rowell (2005) estudos sobre os componentes químicos das cascas de variadas espécies demonstraram que a composição química pode ser classificada em quatro grandes grupos: polissacarídeos (celulose, hemiceluloses e materiais pécticos); lignina e polifenóis; suberina e extrativos (gorduras, óleos, fitoesteróis, ácidos de resinas, ceras, taninos, terpenos, flobafenos e flavonoides).

Da mesma forma que nas madeiras, as cascas possuem em sua composição química componentes estruturais e os acidentais orgânicos (extrativos) e inorgânicos (cinzas). Dentre os componentes estruturais encontram-se celulose, hemiceluloses e lignina (GARCÍA HORTAL, 2007, SARTORI, 2016). A madeira possui de 40 a 50% de celulose, o floema contém de 18 a 25% e a casca externa possui de 3 a 17% (PÁSZTORY et al., 2016).

A lignina é um componente principal da casca, sendo descrita como um material polifenólico, que apresenta variadas ramificações, tridimensional e amorfo que confere rigidez à parede celular e atua como um permanente agente de ligação entre as células (GARCÍA HORTAL, 2007). Deineko e Faustova (2015) pesquisando lignina na casca externa de álamo, observaram uma concentração de mais de 20% desse componente químico estrutural.

A suberina é um componente químico importante para casca por ser essencial para a suberificação. Esse biopoliéster é um químico aromático-alifático e hidrofóbico que é

amplamente encontrado nos vegetais (PÁSZTORY et al., 2016). A suberina constitui uma fonte natural de compostos valiosos como como  $\omega$ -hidroxiácidos, ácidos  $\alpha,\omega$  (FERREIRA et al., 2013).

Dada a sua complexidade química as cascas são vistas como uma fonte para novos produtos químicos de alto valor agregado, variando desde a empregabilidade em biorefinaria, compostos naturais bioativos, polímeros verdes, fármacos e diversos materiais de base biológica (JANSONE et al., 2017).

## **2.6 Antioxidantes provenientes de cascas arbóreas**

Os polifenóis são classificados como um dos grupos de metabólitos secundários mais distribuídos no reino vegetal. Nos últimos anos, os polifenóis têm ganhado destaque nas pesquisas na área de saúde médica, biomédica, alimentação e nutrição, além do mercado de cosmetologia (AGARWAL et al., 2021). Esses químicos são conhecidos amplamente devido sua propriedade antioxidante, que consiste na capacidade de doar um elétron ou um átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila, para neutralizar as espécies altamente reativas, como os radicais superóxido ( $O_2^-$ ) e hidroxila ( $OH^-$ ) produzidos devido ao estresse oxidativo (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

Um antioxidante é definido como uma substância que, quando está presente em baixas concentrações em comparação com as de um substrato oxidável, retarda de forma significativa ou impossibilita a oxidação do substrato (HALLIWELL, 1990). Essa definição é válida para antioxidantes que combatem os radicais livres em nosso corpo ou quando são utilizados como aditivos alimentares.

Os radicais livres são compostos reativos que tendem a capturar elétrons de moléculas biológicas estáveis para se estabilizarem. Em situações de diagnóstico de patologia, ocorre uma superprodução de radicais livres devido à presença de compostos pró-oxidantes ou de outros fatores de risco como estresse, tabagismo, excesso de atividade física, entre outros, dando início ao estresse oxidativo (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

Existe uma busca crescente para utilização de antioxidantes de fontes naturais visando subsistir os sintéticos que causam variados efeitos colaterais como alergias nos consumidores (GAO et al., 2007). Dessa maneira pesquisas com antioxidantes de cascas de vegetais contribuem com novas informações que podem ajudar as indústrias a formular antioxidantes de fontes renováveis.

Nesse sentido, Araújo et al. (2020) trabalhando com a casca da espécie amazônica *Myrcia eximia*, observaram que a atividade antioxidante com extrato da cascas foi superior a atividade antioxidante do BHT que é um antioxidante sintético muito utilizado na indústria,

devido as propriedades antioxidantes do extrato da casca de *M. eximia* serem eficaz, os autores indicaram que as cascas dessa espécie pode ser utilizado na indústria química, alimentícia e farmacêutica como fonte de antioxidantes naturais.

Sousa et al. (2021) analisaram a atividade antioxidante do extrato da casca de *Stryphnodendron rotundifolium* e observaram que todas as concentrações avaliadas foram maiores que do butil-hidroxitolueno (BHT), utilizado como padrão. Eles observaram ainda que na concentração de  $250 \mu\text{g mL}^{-1}$ , o extrato da casca atingiu 89,4% de inibição contra o radical 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH), enquanto o BHT inibiu apenas 76,4%. Mota et al. (2021) trabalharam com a casca de *Astronium lecointei* e observaram que o extrato da casca dessa espécie também apresenta atividade antioxidante. Diante do exposto, fica evidente que cascas de espécies arbóreas apresentam atividade antioxidante com potencial de ser aplicada nas indústrias, entretanto ainda são limitados os estudos do potencial antioxidante de casca de espécies amazônicas.

### 3. CONCLUSÃO

Informações de novas espécies amazônicas que gerem matéria prima para compor a matriz de produtos sustentáveis visando substituir material não renovável são extremamente importantes. Dessa maneira, a pesquisa da composição das cascas do caule das espécies florestais de área de manejo sustentável da Amazônia, *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum*, *Zanthoxylum ekmanii* e *Protium tenuifolium*, permitiu o direcionamento de seus constituintes químicos para aplicação em produtos, ou seja, as três espécies são novas fontes de polifenóis que podem ser utilizados como antioxidantes naturais. Outros constituintes químicos dessas espécies como extrativos, ligninas e nutrientes elementares também podem ser usados para confecção de produtos sustentáveis como substratos para plantas. Além disso, o estudo permitiu a caracterização anatômica da casca das três espécies pela primeira vez. Dessa forma, como os lenhos dessas espécies já são utilizados industrialmente, as cascas também podem ser usadas, contribuindo para o desenvolvimento florestal tecnológico de áreas de manejo sustentável da Amazônia.

### REFERÊNCIAS

- AGARWAL, C. et al. Low-frequency, green sonoextraction of antioxidants from tree barks of Hungarian woodlands for potential food applications. **Chemical Engineering Process Intensification**, v.159, 2021.
- ALVINO, F.O. et al. Potencial de uso das espécies arbóreas de uma floresta secundária, na zona bragantina, Pará, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 35, n.4, p.413-420, 2005.

AMOROZO, M. C. de M. Algumas notas adicionais sobre o emprego de plantas e outros produtos com fins terapêuticos pela população cabocla do Município de Barcarena, PA, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v. 13, n. 2, p. 191-213, 1997.

ARAÚJO, E. S. et al. Characterisation and valorisation of the bark of *Myrcia eximia* DC. trees from the Amazon rainforest as a source of phenolic compounds. **Holzforschung**, v.74, n.10, p.989-998, 2020.

ARAUJO, E.S. et al. Quantification of the bark *Myrcia eximia* DC tannins from the Amazon rainforest and its application in the formulation of natural adhesives for wood. **Journal of Cleaner Production**, v. 280, 2021.

BARNEBY, R.C. **Neotropical Fabales at NY: Asides and Oversights**. *Brittonia* 48: 174-187, 1996.

BARROSO, G. M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. v.2. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 377 p. 1984.

BESSA, N.G.F. et al. Antimicrobial activity of Mamica de Porca (*Zanthoxylum rhoifolium* Lam) Extract against Gram-positive and Negative bacteria. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)**, v.6, 2019.

CACCIANIGA et al. Contribution of plant anatomy to forensic investigation: Tree bark morphology. **Forensic Science International**, v.318, 2021.

CARMO, J.F. et al. Chemical and structural characterization of the bark of *Albizia niopoides* trees from the Amazon. **Wood Sci. Technol**, v.50, p.677–692, 2016.

CAROCHO, M.; MORALES, P; FERREIRA, I.C.F.R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in food Science e Technology**, v.71, p.107-120, 2018.

CARVALHO, P.E.R. Paricá *Schizolobium amazonicum*. **Circular Técnica Embrapa**. 2007.

CHATTAWAY, M.M. The occurrence of heartwood crystals in certain timbres. **Aust. J. Bot.** v.1, n.1, pp. 27-42, 1953.

COSTA, J.G.M. et al. Chemical Composition and Antibacterial Evaluation of the Essential Oil of *Zanthoxylum articulatum*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v.13, n.6, p.767 – 773, 2011.

DALY, D.C.B. **A Taxonomic revision of the genus *Protium* (Burseraceae) in eastern Amazonia and the Guianas**. v.1-2. University Microfilms International. Tese de Doutorado. New York, Faculty in Biology, 1987.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **Manejo florestal por espécies na Amazônia é mais rentável e sustentável**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/55862919/manejo-florestal-por-especies-na-amazonia-e-mais-rentavel-e-sustentavel>>. Acesso em 10 abril, 2022.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de métodos de análises do solo**. 3. ed. Revisada e ampliada – Brasília, DF: Embrapa, 573p. 2017.

EVERT, R.F. **Esau's Plant Anatomy: meristems, cells, and tissues of the plant body: their structure, function, and development**. terceira edição. New Jersey/Canada, John Wiley & Sons, Inc. p. 427. 2006.

Facundo, V.A. et al. Constituintes químicos de *Zanthoxylum ekmanii* (URB.) ALAIN. **Quim. Nova**, v.28, n. 2, p.224-225, 2005.

FACUNDO, V.A. et al. Essential oil of *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain. Leaves. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.402-403, 2003.

Fahn, A. **Plant Anatomy**. Pergamon international library. p. 544.1982

FERNANDEZ, M. H.; SCUDELLER, V. V. Identificação morfológica dos breus (*Protium Burm. f.* e *Tetragastris Gaertn.*) da Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé, Manaus-AM. **Diversidade Biológica**. Capítulo 10, p. 169- 185, 2011. **IN: SANTOS- SILVA, E. N.;**

**SCUDELLER, V. V.; CAVALCANTI, M. J.** (Organizadores). *BioTupé: Meio Físico, Diversidade Biológica e Sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia Central - Vol. 03.* Manaus.

FERREIRA, R. et al. Isolation of suberin from birch outer bark and cork using ionic liquids: A new source of macromonomers. **Industrial Crops and Products**, v.44, 520-527, 2013.

FERREIRA, R.G.S. et al. The selective obtaining of amyriins from Amazonian Protium oleoresins. **Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.**, v. 49, n.2, 482-497, 2020.

FRADINHO, D.M. et al. Chemical characterisation of bark and of alkaline bark extracts from maritime pine grown in Portugal. **Industrial Crops and Products**, v.16, p. 23-32, 2002.

GAO, H et al. Antioxidant activity of extracts from the wood and bark of Port Orford cedar. **J Wood Sci.** v.53, p.147–152, 2007.

GARCÍA HORTAL, J. A. **Fibras papeleras.** Barcelona: UPC, 2007. 243 p. 2007.

GONZAGA, W.A et al. Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium*. **Planta Med**, v.69, 773-775, 2003.

GOULART, S.L.2010. 131f. **Características anatômicas, químicas e densidade do barbatimão.** Doutorado (Ciência e Tecnologia da Madeira) Universidade Federal de Lavras, 2010.

GROPPO, M.; PIRANI, J.R. A new species of *Zanthoxylum* (Rutaceae) with a key to the species from Northeastern Brazil. **Phytotaxa**, v.314, n.2, p. 259–265, 2017.

HALLIWELL, B. **How to characterize a biological antioxidante.** Free Rad. Res. Comms. v. 9, n.1, pp. 1-32, 1990.

HE, Q.; WENXIA, W.; ZHU, L. Larvicidal activity of *Zanthoxylum acanthopodium* essential oil against the malaria mosquitoes, *Anopheles anthropophagus* and *Anopheles sinensis*. **Malaria Journal**, v.17, p.194, 2018.

HIJMANS, J.R. et al. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. **International journal of climatology**. v.25, p.1965–1978, 2005.

ICMBIO. **Amazônia**. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/portal/unidadesdeconservacao/biomas-brasileiros/amazonia>. Acesso em: 20 abril. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS. **Bioma Amazônico**. Paraná. Disponível em: <<https://www.ibflorestas.org.br/bioma-amazonico.html>>. Acesso em: 20 abril. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORESTAS. Bioma Amazônico. Paraná. Disponível em: <<https://www.ibflorestas.org.br/bioma-amazonico.html>>. Acesso em: 20 set. 2021.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, SOCIAL E AMBIENTAL DO PARÁ (IDESP). **Estatística Municipal, Dom Eliseu – Clima**. Pará: IDESP, 2012.

IWAKIRI, S. et al. Avaliação da qualidade de painéis compensados produzidos com lâminas de madeira de *Schizolobium amazonicum*. **Floresta**, v. 41, n. 3, p. 451-458, 2011.

JANSONE, Z.; MUIZNIECE, I.; BLUMBERGA, D. Analysis of wood bark use opportunities. **Energy Procedia**, v.128, p.268–274, 2017.

JOLY, A. B. Botânica: **Introdução à Taxonomia Vegetal**. 6ª ed. São Paulo, Ed. Nacional. 777 p. 1983.

LEWIS, G.P. 2015. *Schizolobium* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <Lista do Brasil - Schizolobium parahyba var. amazonicum (Huber ex Ducke) Barneby (jbrj.gov.br)>. Acesso em 10 de agosto de 2021.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Editora Plantarum Ltda. Nova Odessa, São Paulo vol. 1, p. 368, 1992.

MÁRMOL, I. et al. Systematic review of the potential uses of pine bark in food industry and health care. **Trends Food Sci. Technol**, v.88, p.558–566, 2011.

MASCARENHAS, A.R.P. et al. Characterization of wood from *Schizolobium parahyba* var. amazonicum Huber × Ducke trees from a multi-stratified agroforestry system established in the Amazon rainforest. **Agroforestry Systems**, v.95, p.475–486, 2021.

MELO, L.E.L. et al. Planting density effect on some properties of *Schizolobium parahyba* WOOD. **Maderas. Ciencia y tecnologia**, v.20, n.3, p.381 - 394, 2018.

MENDES, M.M. et al. Anti-Snake Venom Properties of *Schizolobium parahyba* (Caesalpinoideae) Aqueous Leaves Extract. **Phytother. Res.** V.22, p.859–866, 2008.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Biomass: Amazônia.** Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomass/amazonia>. Acesso em 25 fev.2021.

MMA. **Uso e Cobertura da Terra na Floresta Amazônica.** 2006. 154 p. Disponível em:<http://mapas.mma.gov.br/geodados/brasil/vegetacao/vegetacao2002/amazonia/documentos/relatoriofinal.pdf> . Acesso em: 20 abril. 2022.

MOTA, G.S. et al. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. **PLoS One**, v.12, p.1–14, 2017.

MOTA, G.S. et al. Bark of *Astronium lecointei* Ducke trees from the Amazon: chemical and structural characterization. **European Journal of Wood and Wood Products**, 2021.

MURTHY, K, S.R. et al. Bioactive principles and biological properties of essential oils of Burseraceae: A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.5, n.2, 247-258, 2016.

NEIVA, D.M. et al. Potential of Eucalyptus globulus industrial bark as a biorefinery feedstock: chemical and fuel characterization. **Ind. Crop. Prod.**, v.123, p.262–270, 2018.

NOOREEN, Z. et al. *Zanthoxylum*: A Review of its Traditional Uses, Naturally Occurring Constituents and Pharmacological Properties. **Current Organic Chemistry**, v.23, p. 1307-1341, 2019.

PÁSZTORY, Z. et al. The Utilization of Tree Bark. **BioResources**, v.11, n.3, p. 7859-7888, 2016.

PEREIRA, K.D. et al. Morphological and physiological changes on *schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber EX Ducke) barneby plants intoxicated by glyphosate. **Cerne**, v. 23, n. 2, p. 267-274, 2017.

PLOWDEN, J.C. 2001. 264 p. **The ecology, Management and marketing of non-timber forest products in the Alto Rio Guamá Indegenous Reserve (Eastern Brazilian Amazon)**. Tese, The Pennsylvania State University, 2001.

RICHTER, B.D. et al. A Method for Assessing Hydrologic Alteration within Ecosystems. **Society For Conservation Biology**, 1996.

ROTH, I. 1981. **Structural patterns of tropical barks**. Gebrüder Borntraeger, Berlin.

ROWELL, R. M. **Handbook of wood chemistry and wood composites**. Boca Raton: CRC, p.703, 2005.

RUSCHEL, A.R. et al. *Zanthoxylum ekmanii* espécie florestal promissora: Estudo de caso em uma Floresta Explorada, no município de Dom Eliseu, Pará. **In: 67ª Reunião Anual da SBPC**, 2015.

SANTANA, R.C. et al. In vitro leishmanicidal activity of monoterpenes present in two species of Protium (Burseraceae) on Leishmania amazonenses. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, 2020.

SANTOS, C. et al. Structural, textural and morphological characteristics of tannins from *Acacia mearnsii* encapsulated using sol-gel methods: applications as antimicrobial agents. **Colloids Surf. B Biointerfaces**, v.151, p.26-33, 2017.

SANTOS, H.C. et al. Chemical investigation, antifungal activity and anatomical aspects of *Protium puncticulatum* J.F Macbr. and *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl. **International Journal for Innovation Education and Research**, v.9, n.5, 2021.

SARAIVA FILHO, D.E. Compostos químicos isolados de extratos e óleos essenciais do gênero *Zanthoxylum* Linnaeus (Rutaceae) e seu potencial antimicrobiano. **Hoehnea**, v. 47, 2020.

SARTORI, C. et al. Chemical characterization of the bark of *Eucalyptus urophylla* hybrids in view of their valorization in biorefineries. **Holzforschung**, v.70, p819–828, 2016.

SARTORI, C.J. et al. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two *Eucalyptus urophylla* hybrids. **BioResources**, v.13, p.4820–4821, 2018.

SARTORI, C.J.2016.137f. **Estudos químicos e anatômicos de cascas de clones de *Eucalyptus***. Doutorado (Ciência e Tecnologia da Madeira) Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2016.

SHIRMOHAMMADLI, Y.; EFHAMISISI, D.; PIZZI, A. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Ind. Crops Prod*, v.126, p316–332, 2018.

SILVA, C.B.R. et al. Properties of juvenile wood of *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (paricá) under different cropping systems. **Agroforest Syst**, v.94, p.583–595, 2020.

SILVA, E.R. et al. Ethnopharmacological Evaluation of Breu Essential Oils from Protium Species Administered by Inhalation. **Hindawi**, 2017.

SIPAM. **Sistema de Proteção da Amazônia. Zoneamento climático do Estado do Pará**. Centro Técnico e Operacional de Belém- Pará: SIPAM, 30f. 2009.

SOUSA, C.R. et al. Paricá: *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber x Ducke) Barneby. **Circular Técnica Embrapa**, 2003.

SOUSA, T.B. et al. The bark of *Stryphnodendron rotundifolium* as a source of phenolic extracts with antioxidant properties. **Wood Science and Technology**, v.55, p.1057–1074, 2021.

SOUZA, D.P.2014.51f. **Aspectos silviculturais e tecnológicos do paricá (*Schizolobium amazonicum* Huber EX Ducke)**. Graduação (Engenharia Florestal). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2014.

SOUZA, L.M. 2016. 41f. **Caracterização morfológica de espécies de burseracea ocorrentes em fragmentos florestais na microrregião de Paragominas- PA.** Bacharelado (Engenharia Florestal) Universidade Federal Rural da Amazônia, 2016.

SUDAM-DRN/EMBRAPA-SNLCS. **Estudos climáticos do estado do Pará, classificação (Köppen) e deficiência hídrica (Thorntwaite, Mather).** Belém, PA: Superintendência de Desenvolvimento da Amazônia, 53p. 1993.

TAVARES, L.C. et al. Structure-Activity Relationship of Benzophenanthridine Alkaloids *from Zanthoxylum rhoifolium* Having Antimicrobial Activity. **Plos One**, v.9, 2014.

TER STEEGE, H. et al. Hyperdominance in the Amazonian Tree Flora. **Science**, v. 342, n. 6156, p. 1243092–1243092, 2013.

TEREZO, R. F.; CÓRDOVA, F.O.; SAMPAIO, C.P. Madeira paricá laminada com colada quimicamente tratada colada (*Schizolobium parahyba* var. *Amazonicum*). **Eng. Agríc.** v.39, n.2, 2019.

TOSTE, L.C.L. 2015. 138f. **Ecofisiologia, morfo- anatomia e atividade antifúngica de *Protium altsonii* Sandwith (Burseraceae): um estudo da semente até a fase adulta.** Doutorado (Ciências de Florestas Tropicais). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus – AM, 2015.

TOSTE, L.C.L. et al. Identification of the secretory structures present in the trunk of *Protium* Burm. f. (Burseraceae) exuding oil-resin. **Brazilian Applied Science Review**, v. 4, n. 3, p. 1860-1872, 2020.

VALE, L; H.F. et al. Protective Effect of *Schizolobium parahyba* Flavonoids Against Snake Venoms and Isolated Toxins. **Medicinal Chemistry**, 11, 2566-2577, 2011.

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

## ARTIGO 1 - CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E QUÍMICA DAS CASCAS DE *SCHIZOLOBIUM PARAHYBA* VAR. *AMAZONICUM* E *ZANTHOXYLUM EKMANII*, DA AMAZÔNIA UTILIZADAS PARA LAMINAÇÃO

Elaborado conforme normas do periódico BioResources (Versão preliminar)

### RESUMO

As cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii*, provenientes da floresta amazônica brasileira, foram estudadas anatomicamente e quimicamente. As cascas *S. var. amazonicum* apresentou ritidoma estreito e *Z. ekmanii* possui o ritidoma mais espesso. Em ambas as espécies foram observados aglomerados de esclereides. Em *S. var. amazonicum* foi observado raios dilatados o que não foi visualizado em *Z. ekmanii*. As análises químicas mostraram que *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* obtiveram, respectivamente: 8,26% e 15,65% de extrativos, 3,56% e 1,86% de suberina, 5,89% e 4,76% de cinzas, 22,01% e 24,38% de lignina total, 60,28 e 53,33 de polissacarídeos. Nas extrações de taninos condensados com somente água e água e Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, foram observados os seguintes rendimentos 0,67% e 1,81% e 0,80% e 1,24% nas espécies *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii*, respectivamente. A quantificação dos fenólicos das extrações feitas em etanol/água, foram: O teor de fenólico total (14,54 e 26,33 mg GAE<sup>-1</sup> extrato), com atividade antioxidante na concentração de 500 µg mL<sup>-1</sup>. Os principais elementos químicos encontrado nas cascas das espécies são Ferro (F), Manganês (MG) e Cálcio (CA). As cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii*, podem ser fonte de compostos fenólicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anatomia de casca. Fenólicos. Amazônia brasileira.

### INTRODUÇÃO

*Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* é uma variação da espécie *Schizolobium parahyba* (Vell.) Blake, da família Fabaceae, popularmente conhecida como paricá. Essa espécie é arbórea de ocorrência natural nos estados de Acre, Amazonas, Mato Grosso, Pará e Rondônia (Barneby 1996; Lewis 2015; Melo et al. 2018). Já *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain, pertencente à família Rutaceae, é conhecida vulgarmente na região amazônica como limãozinho, sendo encontrada na Bolívia, Brasil, Costa Rica, Cuba, Equador, Guiana Francesa, México, Panamá e Peru (Facundo et al. 2005a; Groppo e Pirani 2017). Ambas as espécies são utilizadas industrialmente na região amazônica para laminação e confecção de compensados e durante o processamento do lenho para essas finalidades ocorre a descascamento e grande parte da casca não é aproveitada pelas indústrias (Silva et al. 2019; Mascarenha et al. 2021). Entretanto, populações indígenas fazem uso da casca da espécie *Schizolobium amazonicum*, para o tratamento de diarreia e outras parte do tronco são usadas para o tratamento de disenteria e hemorragia uterina (Amorozo 1997).

Pesquisas etnobotânicas relatam que a população amazônica que vive na região do baixo madeira em Porto velho em Rondônia -RO utiliza o chá das folhas e raízes da espécie de *Z.*

*ekmanii* na medicina popular para tratar, malária, doenças vaginais e alívio dor de dente (Facundo et al. 2005b; Saraiva Filho et al. 2020).

A composição anatômica e química das cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii* não foram estudadas, entretanto estudos químicos com extratos das folhas de *Schizolobium amazonicum*, mostraram que seus componentes possuem propriedades antiofídicas (Mendes et al. 2008; Vale et al. 2011). Diversos estudos apresentam a descrição microscópica e propriedades tecnológicas do lenho da espécie *S. parahyba* (Paula 1980; Coradin et al. 1993; Rodríguez Rojas e Sibille Martina 1996; Silva et al., 2016).

Facundo et al. (2003) descreveram a composição química do óleo das folhas frescas de *Z. ekmanii* e Facundo et al. (2005) descreveram os constituintes químicos das folhas e raízes dessa espécie e encontraram a substância lupeol que inibe o protozoário *Plasmodium falciparum* que é uma das espécies do gênero *Plasmodium* capaz de causar malária no ser humano.

As cascas de árvores vêm sendo caracterizadas anatomicamente e quimicamente nas últimas décadas buscando descrever o seu potencial como matéria-prima para confecção de produtos de alto valor agregado (Araújo et al. 2020; MOTA et al., 2021a). Dentre esses produtos destacam-se os químicos com propriedades antioxidantes e biológicas, que podem ser aplicados em vários setores industriais (Jansone et al. 2017; Mota et al. 2017; Sartori et al. 2018).

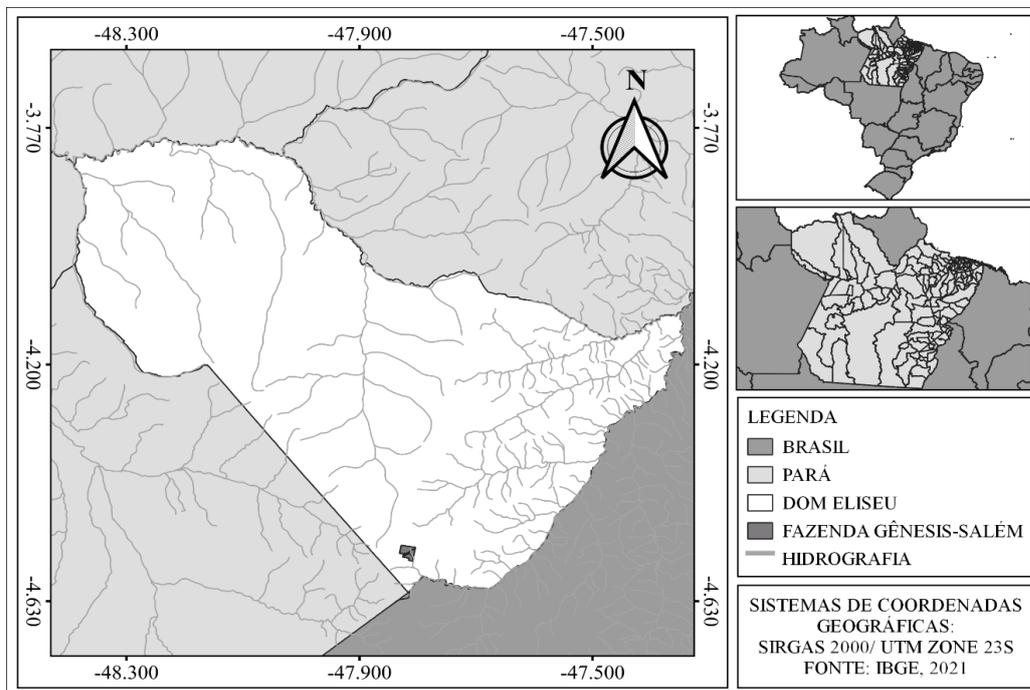
Recentemente vários estudos têm demonstrado que a caracterização anatômica e química da casca é essencial para uma melhor destinação industrial desse material (Carmo et al. 2016a; Baptista et al. 2013; Mota et al. 2017, Sartori et al. 2018; Araújo et al. 2020; Mota et al., 2021a; Mota et al., 2021b). Neste estudo, foi realizada a caracterização anatômica e química das cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii*, enfatizando a composição química somativa e a composição mineral, bem como o conteúdo fenólico e a atividade antioxidante dos extratos. Estas cascas foram quimicamente caracterizadas para analisar o seu potencial para utilizá-las como matéria-prima para indústria. O objetivo subjacente de considerar as suas aplicações é a perspectiva de que a indústria não descarte as cascas dessas espécies durante o processamento do lenho para a confecção de lâminas, aumentando assim as receitas potenciais para a região amazônica.

## **EXPERIMENTOS**

### **Amostragem**

As cascas das espécies *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby e *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain, foram coletadas em floresta nativa em uma área

de manejo sustentável na região amazônica, localizada no município de Dom Eliseu, no sudeste do Estado do Pará, Brasil (Fig. 1). O clima local é tropical úmido com temperatura média anual em torno de 25° C, a precipitação anual média é de 1638 mm e a altitude é 247 metros (Hijmans et al. 2005). A coleta foi realizada no mês de abril de 2021. Foram retiradas cascas do tronco de oito indivíduos de cada espécie, com um diâmetro médio a altura do peito (DAP) de 50,29 cm (*S. parahyba* var. *amazonicum*) e 35,97 cm (*Z. ekmanii*). Foi coletado material botânico de todos os indivíduos e realizado a identificação das espécies por comparação com a coleção do Herbário da Embrapa Amazônia Oriental (IAN), Belém (PA). Todo o material foi coletado com técnicas que visassem o menor impacto possível nos vegetais, inclusive após a remoção da casca, foi aplicado calda bordalesa (sulfato de cobre e cal virgem) para colaborar com a regeneração das cascas desses indivíduos arbóreos.



**Fig. 1.** Localização da área de coleta.

### **Caracterização anatômica da casca**

O estudo anatômico consistiu na análise da casca de cinco indivíduos de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii*. Para a análise macroscópica da casca, as amostras foram seccionadas e as superfícies da seção transversal foram polidas com uma sequência de lixas com granulometrias de 200, 300, 400. Em um estereomicroscópio binocular, utilizando um sistema de imagem, foram obtidas fotografias para observar o ritidoma, periderme e floema condutor e não condutor.

Pequenos fragmentos da casca interna e externa foram retirados e macerados em solução de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  1:1 (v/v) a  $60^\circ\text{C}$  durante aproximadamente 48 h (Franklin 1945). A partir do macerado foram determinados a largura total e a largura do lúmen (para estimar a espessura parede) das fibras, bem como o comprimento das fibras e dos elementos de tubo.

As lâminas permanentes foram feitas com os cortes das seções transversais e longitudinais das cascas. Para retirar os cortes histológicos as cascas foram impregnadas com polietilenoglicol (PEG) 1500 (Quilhó *et al.* 2000). A impregnação consistiu em duas fases, primeiramente as amostras foram adicionadas em solução contendo 20% de PEG 1500 e 80% de água deionizada, e depois aquecidas em estufa a  $60^\circ\text{C}$  durante aproximadamente 48 h. Na segunda fase, apenas foi utilizado PEG puro, e as amostras foram mantidas na estufa durante 2 h a  $60^\circ\text{C}$ . À temperatura ambiente o PEG solidifica e posteriormente foram retirados cortes histológicos variando entre 14 – 18  $\mu\text{m}$  utilizando um micrótomo de deslize Leicam SM 2000.

Foi feita dupla coração de e crisoidina (1%) /azul astra (1%), posteriormente realizou-se a desidratação dos cortes por aumento das séries alcoólicas de 20, 30, 50, 80 e 100%, e  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$  (3:1), (1:1) e 100%. Os cortes foram montados em lâminas e colados a resina sintética Entellan. Na seção transversal, foi determinado o diâmetro dos elementos de tubo e esclereides. Na seção longitudinal tangencial, foi determinado altura, largura e o número de células dos raios por altura. Observações microscópicas e aquisição de dados foram realizadas num microscópio óptico Olympus BX41TF, acoplado a uma câmera digital Pixelink PL-A662. Foram feitas 150 medições em cada espécie para cada parâmetro microscópico utilizando o software WinCELL-PRO. Foram obtidas imagens das seções histológicas utilizando um microscópio acoplado a um sistema de captura de imagens (CX31, Olympus, Tóquio, Japão). A descrição anatômica seguiu a terminologia da Angyalossy *et al.* (2016).

### **Caracterização química somativa da casca**

As cascas secas de cada espécie foram reduzidas em moinho martelo para obter um material homogêneo com granulometria de 60 mesh para as análises químicas. Amostras compostas de cascas de oito árvores por espécie foram misturadas para quantificação de extrativos totais, suberina, cinzas e lignina total. As cinzas foram quantificadas de acordo com as normas TAPPI (T 211 om-93) e os extrativos totais de acordo com as normas TAPPI (T 204 om-88 e T207 om-93).

A determinação do conteúdo de suberina foi feita em cascas livre de extrativos usando  $50\text{ m mol L}^{-1}$  de solução de sódio metálico (Pereira, 1988). Nesse processo, 1,5 g de cascas com 100 ml de solução de sódio metálico a 3% foi aquecido em manto de aquecimento durante

3 h. Posteriormente, a solução foi filtrada através de cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 em condições de vácuo e lavada com metanol, os resíduos retidos no funil foram novamente aquecidos com mais 100 ml de solução de sódio metálico durante 15 minutos e filtrados mais uma vez.

A solução filtrada resultante foi acidificada a um PH 6 com 2 mol L<sup>-1</sup> de solução de ácido sulfúrico metanol. Após a acidificação, o metanol foi recuperado por um evaporador rotativo e o balão foi lavado com 50 mL de água desionizada e o resíduo foi derramado num funil separador durante três lavagens sucessivas com 50 ml de diclorometano cada. No final, foram adicionadas duas espátulas de sulfato de sódio anidro, e a solução foi armazenada num frigorífico durante a noite. No dia seguinte, a solução foi filtrada por um papel filtro para remover o sulfato de sódio anidro e o volume, determinado. Num balão volumétrico limpo e seco, a solução foi derramada, e o diclorometano recuperado por um evaporador rotativo. O frasco foi armazenado a 60 °C durante a noite e depois a 100 °C durante 2 h. O teor de suberina foi determinado gravimetricamente e os resultados expressos em relação à massa seca inicial. A análise foi realizada em duplicata.

A lignina Klason foi determinado em duplicata de acordo com a Norma TAPPI T222 om-88. A lignina solúvel foi quantificada a partir do material filtrado da lignina de Klason, realizando as leituras de absorvância a 205 nm num espectrofotômetro, de acordo com a TAPPI UM 250.

#### **Análise elementar quantitativa da casca**

As cascas foram moídas e as partículas que passaram através de uma peneira de 60 mesh foram utilizadas. Uma amostra composta de 100g de casca das oito árvores foram homogeneizadas para análise. A composição elementar das cascas (macro e micronutrientes) foi quantificada por espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP-OES, Spectro Instrumentos Analíticos, Alemanha).

#### **Extração de taninos**

As cascas secas de cada espécie foram reduzidas em moinho martelo para obtenção de um material homogêneo. Os taninos foram extraídos em triplicado em um banho-maria a 70 °C durante 3 horas. Foram utilizados 100 g de casca (base seca) e 1500 ml de água, relação 15:1 (volume: massa), com e sem a adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> em relação à massa seca da casca. As frações sólidas foram removidas por filtração utilizando uma peneira de 200 mesh e depois em um cadinho de vidro sinterizado com porosidade 1 em condições de vácuo.

#### **Determinação do rendimento do tanino condensado**

O rendimento de taninos condensados foi determinado pelo índice Stiasny. Primeiro uma extração de cada espécie foi concentrada a 70 °C até atingir o volume de aproximadamente 150 ml. Além da massa do extrato concentrado, o conteúdo de sólidos, em triplicata, foi determinado a 103 ± 2 °C durante 24 horas. O teor de sólidos (TS) foi calculado de acordo com a Equação 1. A percentagem do rendimento total de sólidos (RTS) foi determinada de acordo com a Equação 2.

(1)

$$TS = \left( \frac{\text{massa seca do extrato}}{\text{massa umida do extrato}} \right) * 100$$

(2)

$$RTS = \left( \frac{TS\% * \text{massa total do concentrado}}{100} \right) * 100$$

O índice de Stiasny foi determinado em triplicatas. Para isso, foram colocados em um balão volumétrico 20 g de extrato concentrado, 10 ml de água deionizada, 2 ml de HCl 10 mol L<sup>-1</sup> e 4 ml de formaldeído 37 % sucessivamente e colocados sob aquecimento em sistema de refluxo por 35 minutos a contagem dos minutos foi iniciada após a fervura. O precipitado foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 e seco em estufa de ar quente a 103 ± 3°C até massa constante. O índice de Stiasny foi calculado de acordo com a Equação 3. O rendimento gravimétrico de taninos condensados (RGTC) foi determinado pela Equação 4. O rendimento de componentes não tânicos (RCNT) foi obtido pela diferença entre RCNT e RGTC.

(3)

$$\text{Índice de Stiasny} = \left( \frac{\text{massa seca do precipitado}}{\text{massa seca de 20g do extrato}} \right) * 100$$

(4)

$$RGTC = \frac{IS\% * RCNT}{100}$$

### **Análise estatística**

A análise estatística foi conduzida num desenho completamente aleatório, utilizando *software Origin* (Pro), versão 2018 SR1, OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA. O teste Tukey foi aplicado para verificar as diferenças entre as condições de extração em ambas

as espécies (com e sem Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Foi adotado um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) para todas as análises estatísticas.

### **Compostos fenólicos do extrato de cascas de árvores**

Foram extraídas amostras de 0,5 g da casca (base seca) numa solução de etanol-água com proporção 1:1 (v/v) utilizando banho ultrassônico a 50 °C durante 1h. A solução foi filtrada através de cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 em condições de vácuo e o volume do filtrado foi preenchido até 50 ml com água desionizada. A partir deste extrato, foram determinados os conteúdos de fenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados. O resíduo sólido retido na filtração foi seco e o rendimento da extração foi calculado em relação à massa do material inicial. O teor total de fenóis foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão (Singleton *et al.* 1965). Os flavonoides totais foram quantificados por ensaio colorimétrico de cloreto de alumínio com padrão de catequina (Zhishen *et al.* 1999). O teor de taninos condensados foi determinado pelo método da vanilina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Abdalla *et al.* 2014) As leituras de absorvância foram realizadas utilizando um espectrofotômetro SP-22 Biospectro SP-22 e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente ácido gálico (fenóis totais) e equivalente catequina (flavonoides e taninos condensados) / g de extrato seco.

### **Caracterização dos compostos fenólicos dos extratos das cascas por HPLC**

Para determinar o perfil de compostos fenólicos presentes nas amostras foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Os padrões empregados para análise dos compostos fenólicos foram trigonelina, ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido siríngico, vanilina, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico, ácido m-cumárico, ácido o-cumárico, reveratrol, quercertina, ácido rosmarínico, ácido transcinâmico e rutina. Para as análises cromatográficas, amostras e solventes foram filtrados utilizando membranas de 0,45µm.

As amostras foram quantificadas pelo método de padronização externa, sendo as curvas analíticas construídas por diluições das soluções estoque, contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> de cada padrão solubilizado em metanol. As curvas analíticas foram obtidas por regressão linear, considerando o coeficiente de determinação R<sup>2</sup>=0,99.

As análises foram realizadas em cromatógrafo de alta eficiência Shimadzu®, equipado com quatro bombas de alta pressão LC-20AT, detector de arranjo de diodos SPD-M20A, degaseificador DGU-20A5, interface CBM-20A, forno CTO-20AC e injetor automático com autoamostrador modelo SIL-20A. As separações foram realizadas utilizando-se uma coluna Shimadzu® – Shim- pack GVP-ODS-C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) conectada a uma pré-coluna

Shimadzu® – Shim-pack GVP-ODS-C18 (4,6 x 10 mm, 5 µm). Os solventes de eluição utilizados foram: solução de ácido acético 2% em água ultrapura, obtida a partir de Milli-Q Integral Water Purification System na Fase A; metanol; água, ácido acético (70:20:2 % v/v) na Fase B. O comprimento de onda utilizado foi de 280 nm, fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna de 35 °C e volume de injeção de 20 µL. Para o cálculo da concentração dos compostos fenólicos empregou-se equações da reta específicas para cada padrão utilizado.

#### **Atividade antioxidante do extrato de casca**

Os extratos da análise de compostos fenólicos foram liofilizados e utilizados na determinação da atividade antioxidante pela estabilização do 2,2-difenil-1- radical livre de hidrato de picrilhidrazil (DPPH). A análise foi realizada conforme metodologia descrita por Teixeira (2012) com modificações, onde amostras de 0,0125 g (casca liofilizada e extratos de BHT) foram solubilizadas em 25 ml de CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, posteriormente diluídas nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500 µg mL<sup>-1</sup> em CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH e mantidos sob refrigeração durante a noite.

A solução etanólica de DPPH com concentração de 40 mg L<sup>-1</sup> foi preparada e mantida ao abrigo da luz. Aos tubos de ensaio foram adicionados 0,3 mL de amostras nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500 µg mL<sup>-1</sup>, seguido da adição de 2,7 mL da solução de DPPH. De uma só vez, preparou-se o controle negativo e branco. O controle negativo foi preparado pela adição de 0,3 mL de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e 2,7 mL de solução de DPPH, e o branco (para cada concentração), pela adição de 2,7 mL de etanol e 0,3 mL da solução das amostras. As soluções permaneceram no escuro por 60 minutos. Após isso, as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis (Shimadzu UV-1601 PC) a 515 nm. A comparação padrão utilizada na análise foi o antioxidante sintético hidroxitolueno butilado (BHT) e todas as análises foram realizadas em triplicata. A atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de inibição, calculada a partir dos valores de absorbância, de acordo com a equação 5 e foi calculado plotando os dados de inibição em relação a concentração da amostra. O valor de IC<sub>50</sub> expressa a concentração antioxidante necessária para reduzir a presença do radical livre DPPH em 50%.

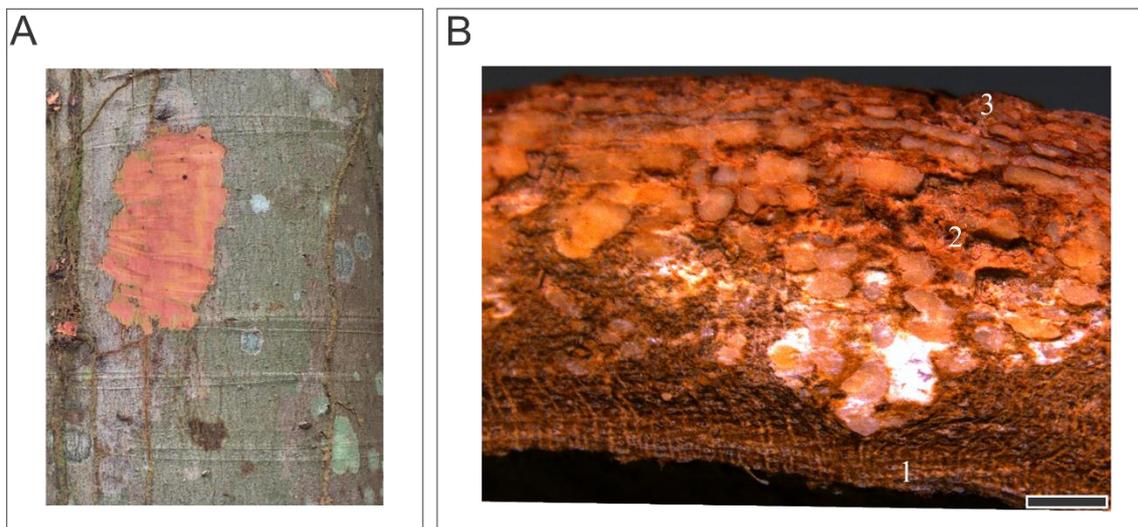
(5)

$$Inibição(\%) = \frac{A_{DPPH} - A_{Amostra}}{A_{DPPH}} \times 100$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

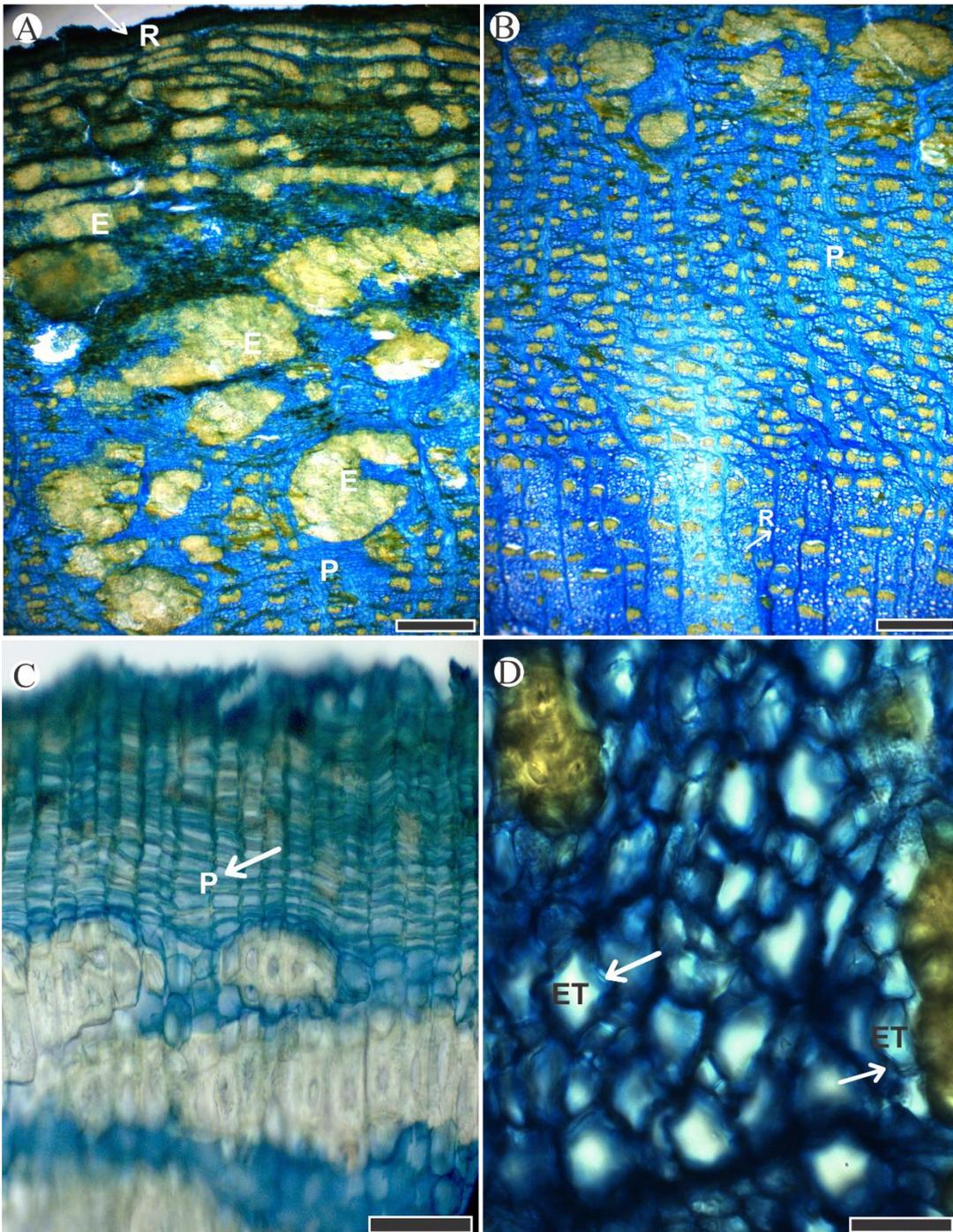
### Estrutura anatômica das cascas

A espessura média da casca de *S. var. amazonicum* é de 5,9 mm. Carvalho (2007) relata que a casca da espécie pode atingir até 15mm. A superfície do ritidoma é lisa sem escamação, cinza-amarelada com manchas brancas, e com lenticelas e marcas anulares proveniente da cicatriz das folhas, enquanto que o interior da casca é granulosa com a cor creme-rosada (Fig. 2, A). As cascas incluem o floema (condutor e não condutor) e o ritidoma (Fig. 2, B).



**Fig. 2.** (A) Aspectos macroscópicos da casca externa de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby.; B) Corte da casca *S. parahyba* var. *amazonicum* evidenciando floema condutor (1), floema não condutor (2) e ritidoma (3). Barra de escala = 100  $\mu$ m.

O ritidoma de *S. parahyba* var. *amazonicum* apresentou peridermes sequenciais lenticelas (Fig. 2A-C). A periderme de *S. parahyba* var. *amazonicum* possui células finas no felema e feloderme que desenvolveu esclereides, muitas vezes na forma de anel irregular.

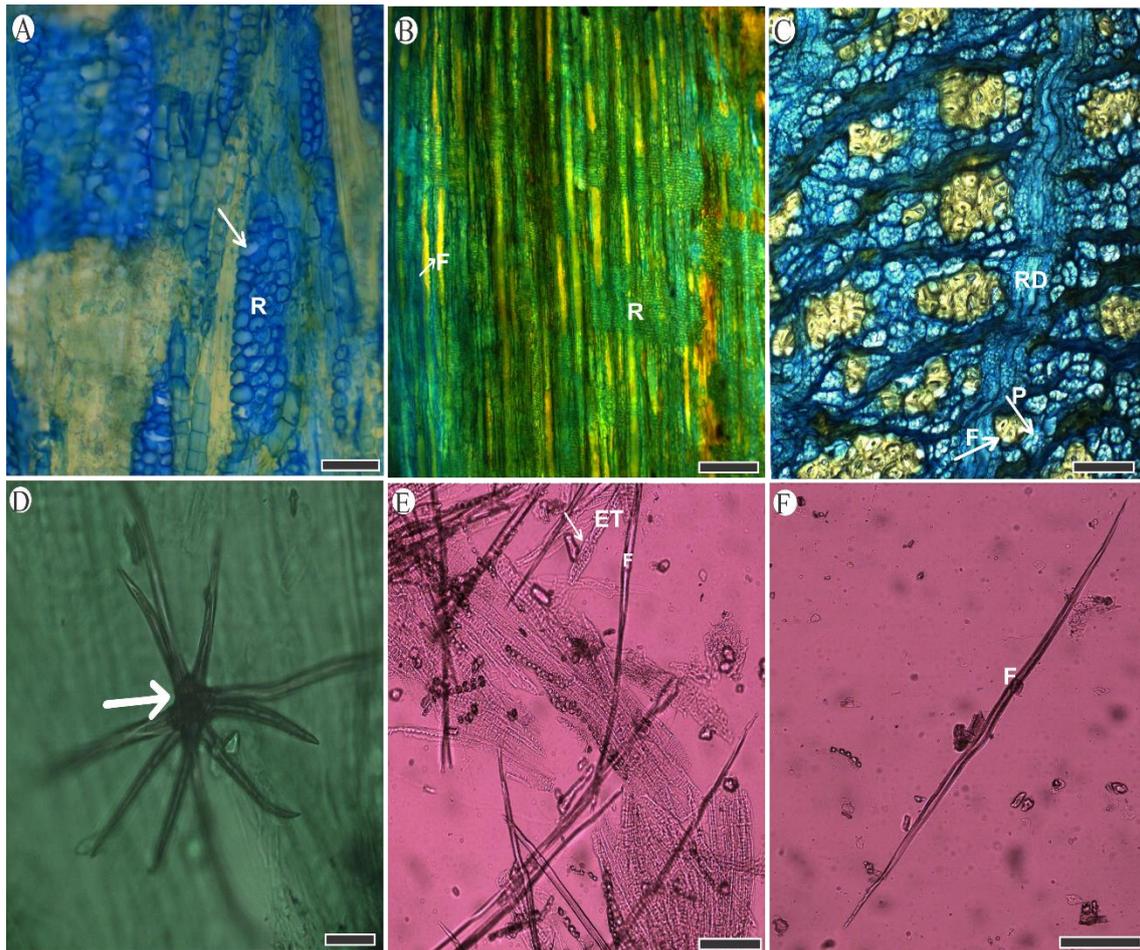


**Fig. 3.** Plano transversal de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (A) ritidoma (R), esclereide (E) e não é periderme. É o floema não condutor.; (B) periderme (P), raio (R);(C) Periderme sequencial (P); (D) elemento de tubo (ET) e células companheiras (seta). Barra de escala (A-C) = 100  $\mu$ m.

A transição do floema condutor para o não condutor ocorre de forma gradual (Fig. 3B). No floema não condutor próximo à periderme foi observado aglomerados de esclereides que formam faixas na disposição tangencial (Fig. 3A).

O floema condutor inclui elementos de tubo com pequenas células companheiras adjacentes, fibras e células de parênquima axial e radial (Fig. 3B). Os elementos de tubo têm placas inclinadas e escalariformes e os diâmetros tangenciais desses elementos são de 17-47  $\mu\text{m}$  e o comprimento de 338-774  $\mu\text{m}$ , em média (Fig. 4E).

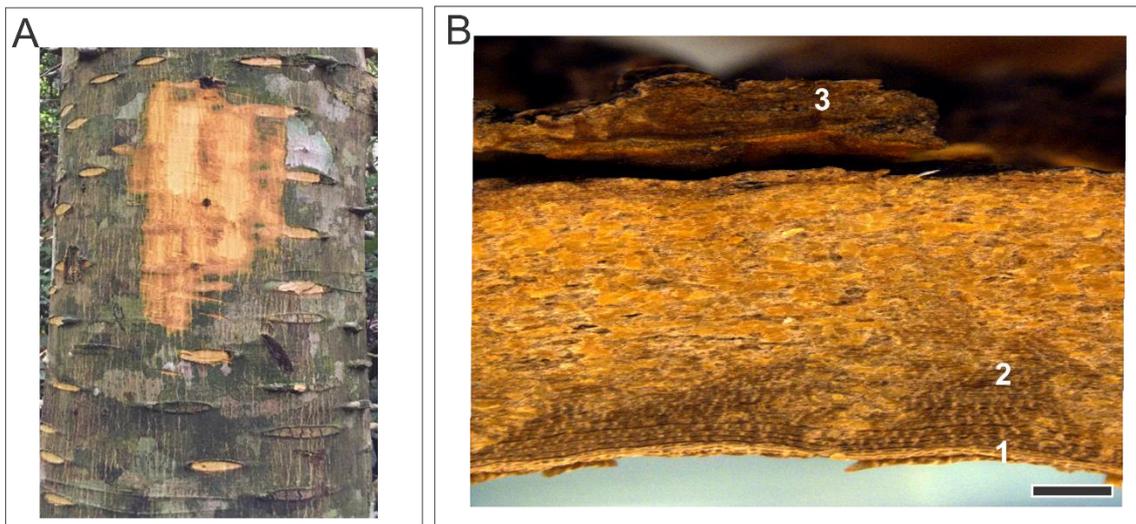
O parênquima axial é distribuído de forma agregado difusos e difusos (Fig. 3B e 4C). Os raios não são estratificados. O número de células dos raios varia entre 10-21 em altura e a largura contabiliza-se entre 3-8. Altura média dos raios foi de 179-444  $\mu\text{m}$  e a largura foi de 46-121  $\mu\text{m}$ , compostos por células procumbentes (Fig. 4A). No floema não condutor, os raios dilatam-se devido a divisão anticlinal e expansão celular (Fig. 4C). De acordo Angyalossy et al. (2016) a dilatação das células é a forma como a casca é capaz de acomodar o crescimento radial da árvore por divisão celular. Nas cascas de *Albizia niopoides* provenientes da Amazônia também foi observada raios dilatados (Carmo *et al.* 2016a). As fibras têm um comprimento médio de 913-1.779  $\mu\text{m}$  e uma espessura média de 19,8  $\mu\text{m}$ . No floema condutor, as fibras ocorrem em grupos pequenos isolados entre as células do parênquima (Fig. 4C). Foi observada a presença de astro esclereides (Fig. 4D). As esclereides possuem paredes lignificadas e atingem um diâmetro tangencial médio de 15-40  $\mu\text{m}$ . Em alguns casos esclereides que possuem paredes celulares espessas e fortemente lignificadas possuem como função suporte mecânico no vegetal (Vangeel *et al.* 2021). Cristais em séries foram observados aderidos nas células de parênquima axial.



**Fig. 4.** Floema de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (A) plano tangencial, raio (R) e Cristal (seta); (B) plano radial, raio (R) e fibras (F); (C) plano tangencial, raio dilatado (RD), parênquima axial (P) e fibras (F) (seta); (D) astroesclereide (seta); (E) Fibras (F) e elemento de tubo (ET) (seta) (F) fibra (F). Barra de escala =100  $\mu$ m.

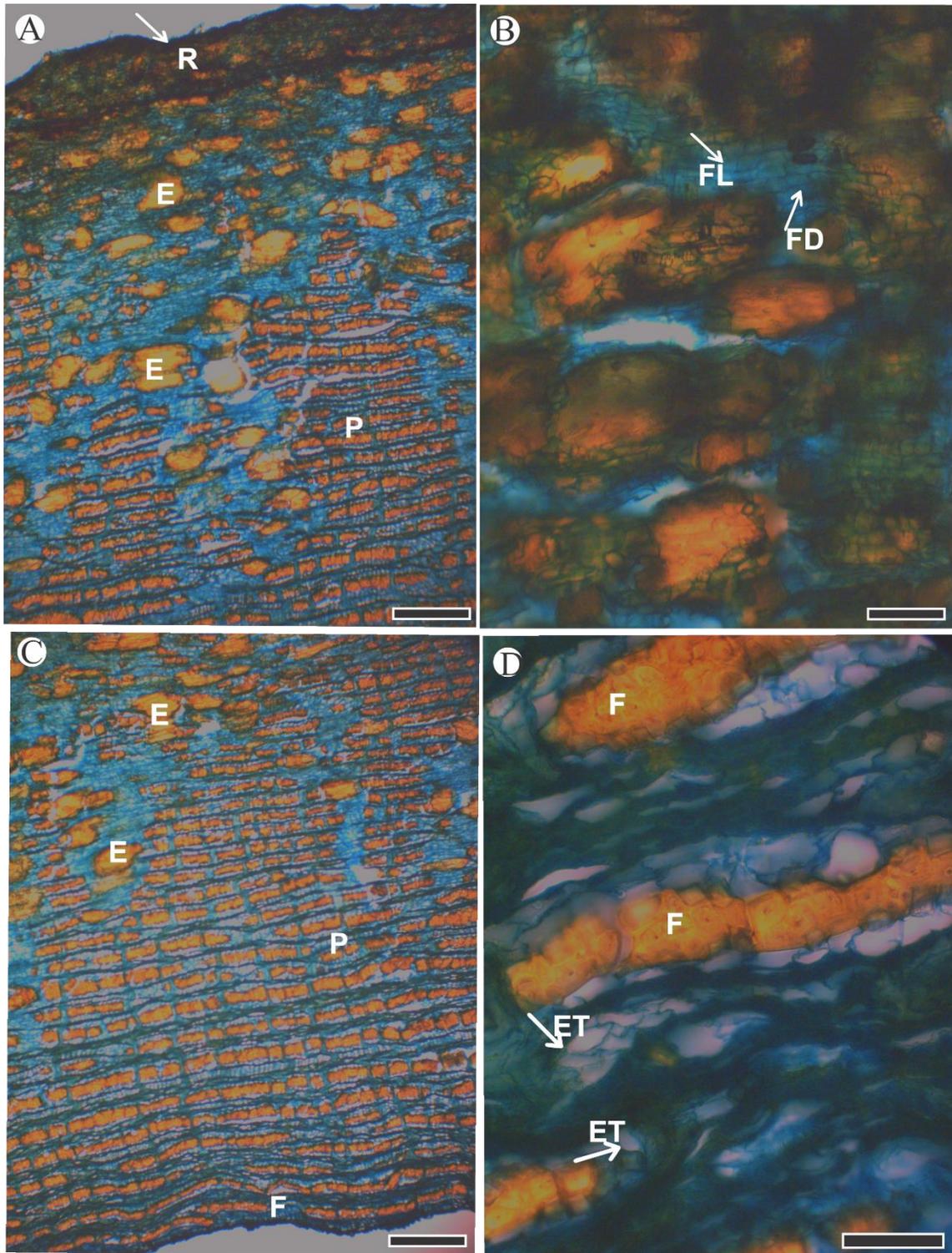
### Estrutura anatômica de *Zanthoxylum ekmanii*

A espessura média da casca de *Zanthoxylum ekmanii* é de 5,6 mm. A superfície do ritidoma é lisa intercalando com acúleos que são estruturas semelhantes a espinhos. Inclusive as espécies do gênero *Zanthoxylum* são bastante caracterizadas por possuírem acúleos no caule (PIRANI e Devecchi 2018). A coloração do caule é cinza escuro e marrom com manchas brancas e marcas anulares provenientes de cicatrizes dos acúleos, o interior da casca é laranja-amarelada (Fig.5, A). As cascas incluem o floema (condutor e não condutor) e o ritidoma.



**Fig. 5.** (A) Aspectos macroscópicos da casca externa de *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain; B) Corte da casca *Zanthoxylum ekmanii* evidenciando floema condutor (1), floema não condutor (2) e ritidoma (3). Barra de escala = 100  $\mu$ m.

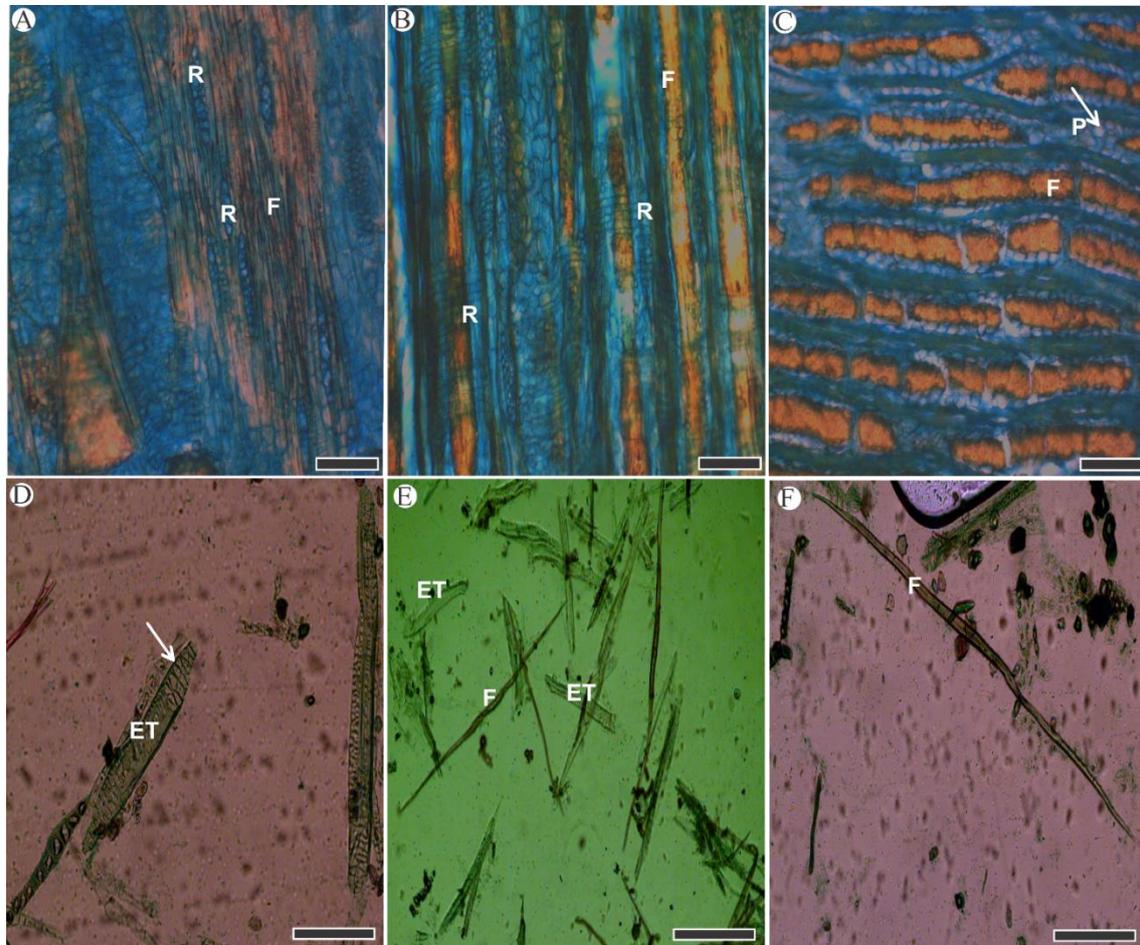
Na periderme, algumas das células do felema e feloderme são esclereificadas e na parte mais externa apresenta grupos de esclereides (Fig. 6A).



**Fig. 6.** Plano transversal *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain (A) ritidoma [R], esclereide (E), parênquima (P); pode tirar essa imagem; (B) esclereide (E), floema condutor (F); (C) elemento de tubo (ET), fibra (F). Barras de escala (A-D) = 100  $\mu$ m.

A transição do floema condutor para o não condutor ocorre de forma gradual (Fig. 6C). O floema condutor é estreito e inclui elementos de tubo com pequenas células companheiras adjacentes, fibras e células de parênquima axial e radial (Fig. 6C, D). Os elementos de tubo têm

placas inclinadas e escalariformes e os diâmetros tangencias do elemento do tubo são 9-31  $\mu\text{m}$  e o comprimento 199-463  $\mu\text{m}$ , em média (Fig. 7D). No floema não condutor as esclereides foram observadas em células solitárias e em grupos (Fig. 3A). Esclereides são registrados em outras espécies amazônicas como *Tachigali guianensis* e *Tachigali glauca* (MOTA *et al.* 2021).



**Fig. 7.** (A) plano tangencial; raio [R], fibra [F]; (B) plano radial; raio [R], fibra [F]; (C) plano transversal; Parênquima axial [P] e fibra [F]; (D) elemento de tubo com placa de perfuração (seta) [ET]; (E) Fibras [F] e Elemento de tubo [ET], (F) fibra [F]. Barras de escala (A-F) = 100  $\mu\text{m}$ .

O parênquima axial no floema condutor encontra-se em faixas estreitas (Fig. 6C, 7C). Os raios não são estratificados. O número de células dos raios varia entre 6-18 em altura e largura contabiliza-se entre 1-4. A altura média dos raios foi de 122-410  $\mu\text{m}$  e largura foi de 23-68  $\mu\text{m}$ , compostos por células procumbentes (Fig. 7A, B). As fibras têm um comprimento médio de 806-1.308  $\mu\text{m}$  e uma espessura média de 25,3  $\mu\text{m}$ . No floema condutor, as fibras ocorrem em grupos e formam faixas de arranjo tangencial (Fig. 6C). As esclereides possuem paredes lignificadas e atingem um diâmetro tangencial médio de 11-30  $\mu\text{m}$ .

### Composição química somativa da casca

A composição química somativa das cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* mostrou valores distintos (Tabela 1). O conteúdo de extrativos totalizou 8,26% e 15,67%, respetivamente, com 96,25% e 93,94% total removido em cada espécie correspondendo a compostos polares que são solúveis em etanol e água. *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* apresentaram 3,56% e 1,86% de suberina, 5,89% e 4,76% de cinzas e 22,01% e 24,38% de lignina total, respetivamente.

**Tabela 1.** Composição química somativa das cascas *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby e *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain

| Composição química                 | <i>S. parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> | <i>Z. ekmanii</i> |
|------------------------------------|---|-------------------|
| <b>Extrativos totais</b>           | 8,26                                      | 15,67             |
| Diclorometano                      | 0,31 ± 0,23                               | 0,95 ± 0,60       |
| Etanol                             | 2,11 ± 0,21                               | 5,56 ± 0,27       |
| Água                               | 5,84 ± 0,11                               | 9,16 ± 0,57       |
| <b>Suberina</b>                    | 3,56                                      | 1,86              |
| <b>Cinza</b>                       | 5,89 ± 0,01                               | 4,76 ± 0,03       |
| <b>Lignina total</b>               | 22,01                                     | 24,38             |
| Lignina Klason                     | 18,60                                     | 22,3              |
| Lignina solúvel                    | 3,41                                      | 2,08              |
| <b>Polissacarídeos<sup>a</sup></b> | 60,28                                     | 53,33             |

Os valores são mostrados como média da população ± desvio padrão da população.

<sup>a</sup>Determinado por diferença.

*Tectona grandis* apresentou 10,7% de extrativos totais (Baptista *et al.* 2013). *Quercus crassifolia* com 12,7% (Ruiz-Aquino *et al.* 2015). Sendo que as cascas geralmente são ricas em compostos polares, como encontrado nas cascas de *Albizia odoratissima*, com a quantificação de 13,5% em extrato etanólico e 10% em extração em água (Amrish e Tarasingh 2011).

O teor de cinza encontrado nas espécies de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii*, é considerado intermediário, já que cascas de madeiras com densidade menor tende a ter menor teor de cinzas quando comparadas às cascas de madeiras com alta densidade. (Harun e Labosky

1985; Bryers, 1996). Teores de cinza entre 1,3 e 5,4% foi quantificado em variadas espécies de Eucalipto (Lima *et al.* 2018).

Suberina é um químico característico das células de felema (cortiça), e como nas espécies avaliadas nesse estudo foram encontradas pequenas faixas de felema os teores de suberina foram baixos. Esses valores são baixos, já que se acredita que a variação química da parede celular em relação a quantidade de suberina é de 23,1% - 54,2%. (Pereira 2013; Oliveira *et al.* 2014; Costa *et al.* 2019).

Os valores de lignina nas espécies caracterizadas nesse estudo são considerados altos, pois segundo (Pereira 2013; Oliveira *et al.* 2014; Costa *et al.* 2019) a variação química da parede celular em relação a quantidade de lignina é de 17,1% - 36,4%. A espécie *Quercus mongólica* apresentou 24,9% de lignina, valor semelhante encontrado nas espécies *S. parahyba var. amazonicum* e *Z. ekmanii* (Kofujita *et al.* 1999).

A quantidade de polissacarídeos em *S. parahyba var. amazonicum* e *Z. ekmanii*, foi de 60,28 e 53,33, respectivamente. Em *Eucalyptus globulus* foi observado 61,14% de polissacarídeos (Neiva *et al.* 2018). Mota *et al.* (2017) observaram 40% de polissacarídeos em *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina*.

### Taninos condensados

Os valores médios das extrações de taninos na água, com e sem adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> das cascas de *S. parahyba var. amazonicum* e *Z. ekmanii*, são apresentados na Tabela 2. O rendimento de taninos condensados determinado do extrato de *S. parahyba var. amazonicum* foi de 0,67 % em água e 1,81 % com adição de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. As espécies mostraram os rendimentos médios de 0,80 % e 1,24 %, respectivamente, sendo rendimentos baixos para ambas as espécies.

**Tabela 2.** Valores médios do rendimento total de sólidos (RTS), índice Stiasny (IS), Rendimento de taninos condensados (RTC), rendimento de compostos não tânicos (RCNT) dos taninos extraídos em água com e sem a adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>.

| Espécie   | Tratamentos                               | RTS (%)      | IS (%)        | RTC (%)      | RCNT (%)     |
|---|---|--------------|---------------|--------------|--------------|
| <i>S. parahyba</i><br>var.<br><i>amazonicum</i> | Água                                      | 4,57 (3,9)b  | 14,75 (23,8)b | 0,67(20,0)b  | 3,90 (7,8)b  |
|   | Água e<br>Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> | 8,23 (2,2)a  | 22,01 (9,8)a  | 1,81(10,0)a  | 6,42 (3,4)a  |
| <i>Z. ekmanii</i>                               | Água                                      | 9,74 (5,3)B  | 8,24 (27,3)B  | 0,80 (27,7)B | 8,94 (6,2)B  |
|   | Água e<br>Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> | 13,58 (7,1)A | 9,18 (14,2)A  | 1,24 (11,5)A | 12,34 (8,1)A |

Os valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente com base no teste Tukey ao nível de 5% de significância. Os valores entre parênteses correspondem ao coeficiente de variação de 6 amostras.

Na tabela 2 é possível verificar que todos os valores de rendimento total de sólidos, rendimento de taninos condensados e rendimento de compostos não tânicos dos taninos extraídos em água com e sem a adição de 3% de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  diferiram estatisticamente. Paes et al. (2013) ao fazer extração de taninos em água com e sem a adição de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  casca de *Anadenanthera colubrina*, observou que todos esses parâmetros foram maiores na extração com água e  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , devido a capacidade do  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (sulfito de sódio) de extrair substâncias tânicas e não-tânicas.

A literatura demonstra o aumento do rendimento de taninos condensados quando é realizada a extração com solução de sulfito de sódio. Mori *et al.* (2003) utilizando uma solução de 3% de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , obtiveram um aumento de 34,9% de taninos condensados na casca de *Stryphnodendron adstringens*. Nesse trabalho a espécie de *S. parahyba* var. *amazonicum* aumentou 1,14% a quantidade de taninos condensados na extração com 3% de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  em relação a extração somente em água, já a espécie *Z. ekmanii* teve um aumento de 0,44%. Ambas as espécies apresentaram baixa quantidade de tanino condensado.

Trugilho *et al.* (1997) observaram na espécie *Platycyamus regnellii* um rendimento tânico de 1,35% com extração feita apenas em água. O índice Stiasny quantificado nas espécies *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii*, são valores baixos, principalmente se for considerado para fabricação de adesivo, que exige que esse índice seja entre 46% e 65% para produzir um adesivo de boa qualidade (Yazaki e Collins 1994; Ping *et al.* 2011).

### **Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca**

Os teores de polifenóis e a atividade antioxidante do extrato das cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* são apresentados na Tabela 3. O extrato da casca *Z. ekmanii* apresentou teor de fenólicos de 26,33 (mg GAE  $\text{g}^{-1}$  de extrato) valor superior ao da espécie *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* que foi de 14,54. A atividade antioxidante de estabilização do radical livre DPPH, usando os extratos das cascas foi expressa em termos da quantidade de extrato necessária para reduzir a concentração de 50% de DPPH (IC50). Os resultados mostraram que a inibição de 50% com os extratos das cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum* foi de 124,40  $\mu\text{g extracto mL}^{-1}$  e *Z. ekmanii* foi de 86,65  $\mu\text{g extracto mL}^{-1}$  em comparação com o antioxidante comercial BHT (5,69  $\mu\text{g extracto mL}^{-1}$ ) utilizado como padrão. Dessa maneira o antioxidante comercial obteve uma atividade superior.

**Tabela 3.** Teor do conteúdo fenólico total, flavonoides, taninos condensados e atividade antioxidante pelo radical DPPH, utilizando o extrato das cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii*.

| Analises  | <i>S. parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> | <i>Z. ekmanii</i> |
|---|---|-------------------|
| Teor fenólico total (mg GAE g <sup>-1</sup> de extrato) | 14,54                                     | 26,33             |
| Flavonoides (mg CE g <sup>-1</sup> de extrato)          | 2,43                                      | 2,00              |
| Taninos condensados (mg CE g <sup>-1</sup> de extrato)  | 1,13                                      | 0,62              |
| IC50 casca (µg extrato mL <sup>-1</sup> )               | 124,40                                    | 86,65             |
| IC50 BHT (µg extrato mL <sup>-1</sup> )                 | 5,69 µg extrato mL <sup>-1</sup>          |                   |

Os valores dos teores fenólicos de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* são baixos quando comparadas com outras espécies, como *C. langsdorffii* da Amazônia com 589,2 mg GAE/g de extrato (Carmo *et al.* 2016b) e *Quercus rotundifolia* com 219,5 mg GAE/g de extrato (Sousa *et al.* 2021).

Os teores de flavonoides foram de 2,43 e 2,00 mg CE g<sup>-1</sup> de extrato, respectivamente, sendo considerados valores baixos, quando comparadas com outras espécies, como *A. niopoides* da Amazônia com 59,08 mg CE/g de extrato (Carmo *et al.* 2016a), *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina* com 148,4 e 445,3, respectivamente (Mota *et al.* 2017), *Delonix elata* com 75 mg CE/g de extrato (Krishnappa *et al.* 2014), *Salix* sp. e *Robinia pseudoacacia* com 310 e 177, 3 CE/g de extrato, respectivamente (Vangeel *et al.* 2021).

Os teores de taninos das espécies *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii*, foram de 1,13 e 0,62 respectivamente, sendo valores baixos quando comparado com outros valores relatados em literatura, podendo ser que nas cascas dessas espécies tenham mais taninos hidrolisáveis do que condensados (König *et al.* 1994). *Q. faginea* apresentou 220,7 mg CE/g de extrato de taninos condensados (Ferreira *et al.* 2018). Outras espécies apresentaram teores de tanino condensado menor, entretanto superior as espécies *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii*, por exemplo, *Thujopsis dolabrata* com 11,2% CE/g de extrato (Janceva *et al.* 2011).

Os valores de IC50 das cascas *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* foram mais elevados em comparação com o antioxidante comercial BHT, indicando que seria necessária uma quantidade superior de extrato para inibir 50% do radical livre DPPH em solução. Entretanto nas concentrações de (500 µg mL<sup>-1</sup>), as amostras de *S. parahyba* var. *amazonicum* e

*Z. ekmanii* atingiram 93,2% e 92,0% de inibição do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato (DPPH), inibição superior ao alcançado pelo antioxidante sintético butil-hidroxitolueno (BHT) que foi utilizado como padrão.

Mota *et al.* (2021) observaram, em condições semelhantes, que a espécie amazônica *Astronium lecointei* na concentração 500 µg mL<sup>-1</sup> apresentou atividade antioxidante inibindo o do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil-hidrato (DPPH).

Os principais compostos fenólicos identificados por HPLC dos extratos das cascas é demonstrado na Tabela 4. Os principais compostos fenólicos encontrados na casca de *S. parahyba* var. *amazonicum* são: Trigonelina e ácido gálico. Já os compostos que foram identificados na casca de *Z. ekmanii* são: Ácido clorogênico, Ácido gálico, Catequina e Trigonelina.

**Tabela 4.** Compostos polifenóis de extratos das cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii* identificados por HPLC

|   |                                |
|---|--------------------------------|
| Polifenóis de <i>S. parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> | mg 100g <sup>-1</sup> de casca |
| Trigonelina   | 44,63                          |
| Ácido gálico  | 3,58                           |
| Polifenóis de <i>Zanthoxylum ekmanii</i>                | mg 100g <sup>-1</sup> de casca |
| Ácido clorogênico                                       | 981,90                         |
| Ácido gálico  | 3,25                           |
| Catequina   | 14,68                          |
| Trigonelina   | 84,24                          |

O composto fenólico trigonelina encontrado em ambas as espécies, possui resultados nutricionais positivos, pois possui efeito sobre o sistema nervoso central e na mobilidade do intestino (Clarke & Macrae, 1987). O ácido clorogênico encontrado nas cascas de *Z. ekmanii* pertence a uma grande família de ésteres de ácidos quínico com uma ou duas porções de ácidos cinâmicos, principalmente os ácidos caféico, ferúlico e cumárico (Holowinskia *et al.* 2022). Dentre estes ésteres, a classe predominante é de ácido caféico e o principal e mais difundido representante deste composto na natureza é o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA). Variadas pesquisas epidemiológicas sugerem que o consumo de alimentos, chás ou café e suplementos dietéticos contendo 5-CQA podem ajudar a prevenir variadas doenças crônicas, como diabetes, Parkinson, cirrose e carcinoma hepatocelular (Liao *et al.* 2021). Além do mais os fenólicos

encontrados nas cascas de ambas as espécies possuem como função proteger o vegetal de insetos, fungos e parasitas (Parker 1977).

#### **Análise dos elementos quantitativos das cascas**

A composição elementar dos elementos minerais das cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Z. ekmanii* (, estão dispostos na Tabela 4. Ferro (Fe) apresentou maior concentração em ambas as espécies, sendo de (125,4 µg/100g de casca) e (78,1 µg/100g de casca), respectivamente. O segundo elemento de maior concentração nas espécies foi o manganês (Mn) com (36,7 µg/100g de casca) e (46,8 µg/100g de casca) e o terceiro componente químico encontrado em maior quantidade foi o Cálcio (Ca) com valores de (24,7 mg/100g de casca) e (22,0 mg/100g de casca).

**Tabela 4.** Análise quantitativa elementar das cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii*

| <b>Elementos</b> | <b><i>S. parahyba</i> var. <i>amazonicum</i> (mg/100g de casca)</b> | <b><i>Z. ekmanii</i> (mg/100g de casca)</b> |
|------------------|---|---|
| N                | 7,9   | 13,0  |
| P                | 0,5   | 0,3   |
| K                | 5,3   | 5,7   |
| CA               | 24,7  | 22,0  |
| MG               | 0,6   | 0,9   |
| S                | 1,2   | 1,0   |
| <b>Elementos</b> | <b>(µg/100g de casca)</b>   | <b>(µg/100g de casca)</b>                   |
| Mn               | 36,7  | 46,8  |
| Zn               | 9,2   | 9,8   |
| B                | 9,6   | 15,9  |
| Cu               | 4,4   | 3,4   |
| Fe               | 125,4   | 78,1  |

Ghavide *et al.* (2021) estudando a casca de *Albizia julibrissin* observaram a presença de: ferro, cálcio, enxofre, magnésio e potássio. A quantidade?? de elementos mineiras nas cascas de árvores depende da idade dos vegetais, habitat e amostragem (Fengel e Wegener 1984).

## CONCLUSÃO

- I. As cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii* foram caracterizadas pela primeira vez quanto à estrutura anatômica e composição química.
- II. As cascas de ambas as espécies apresentaram ritidoma, floema condutor e não condutor, aglomerados de esclereides. Em *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* foi observado astroesclereides e raios dilatados.
- III. As características químicas marcantes das cascas de *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii* são o alto teor de extrativos totais, lignina e polissacarídeos, além de atividade antioxidantes e alto teor do elemento químico ferro (F).
- IV. As cascas de *S. parahyba* var. *amazonicum* e *Zanthoxylum ekmanii*, podem ser consideradas como matéria-prima para biorrefinarias e também deve ser valorizada pelo seu conteúdo químico de extrativos, polissacarídeos, lignina e atividade antioxidante.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPQ e o Grupo Arboris pelo fornecimento de material, equipamentos e apoio financeiro para o desenvolvimento do estudo.

## REFERÊNCIAS

- Abdalla, S., Pizzi, A., Ayed, N., Bouthoury, F.C., Charrier., e B. Bahabri, F. 2014. “MALDI-TOF analysis of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) bark tannin. Bioresources.” 9: 3396–3406.
- Amorozo, M.C.M. (1997). “Algumas notas adicionais sobre o emprego de plantas e outros produtos com fins terapêuticos pela população cabocla do Município de Barcarena, PA, Brasil”. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, 13(2), 191-213, 1997.
- Amrish, C., Tarasingh., R.R. (2011). “Pharmacognostic evaluation and phytochemical screening of *Albizia odoratissima* bark powder.” IJRAP 2(6):1798–1801
- Angyalossy, V., Pace, M. R., Evert, R. F., Marcati, C. R., Oskolski, A. A., Terrazas, T., Kotina, E., Lens, F., Mazzoni-Viveiros, S. C., Angeles, G., et al. (2016). “IAWA list of microscopic bark features.” *IAWA J.* 37(4), 517-615. DOI: 10.1163/22941932-20160151.
- Baptista, I., Miranda, I., Quilhó, T., Gominho, J., and Pereira H. (2013). “Characterisation and fractioning of *Tectona grandis* bark in view of its valorisation as a biorefinery raw-material,” *Ind. Crop. Prod.* 50, 166-175. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.07.004
- Barneby, R.C. (1996). “Neotropical Fabales at NY: Asides and Oversights”. *Brittonia* 48, 174-187. DOI:10.2307/2807811
- Bryers, R.W. (1996). “Fireside slagging, fouling, and high-temperature corrosion of heat-transfer surface due to impurities in steam-raising fuels”. *Prog Energy Combust Sci* 22:29–120.

Carmo, J. F., Miranda, I., Quilhó, T., Sousa, V. B., Carmo, F. H. D. J., Latorraca, J. V. F., e Pereira, H. (2016a). “Chemical and structural characterization of the bark of *Albizia niopoides* trees from the Amazon,” *Wood Sci. Technol.* (50) 677-692. DOI: 10.1007/s00226-016-0807-3

Carmo, JF, Miranda, I., Quilhó, T., Sousa, VB, Cardoso, S., Carvalho, AM, Carmo, FHDJ, Latorraca, JVF e Pereira, H. (2016b). “Casca de *Copaifera langsdorffii* como fonte de produtos químicos: caracterização estrutural e química”, *J. Wood Chem. Tecnol.* 36(5), 305-317. DOI: 10.1080/02773813.2016.1140208

Carvalho, P.E.R.2007. Paricá *Schizolobium amazonicum*. Circular Técnica Embrapa.

Coradin, V. T. R., e Muniz, G. I. B. (1993). “Normas e procedimentos em estudos de anatomia da madeira: I – Angiospermae, II – Gimnospermae”. 19.

Costa, R., Lourenço, A., Oliveira, V., e Pereira, H.2019. “Chemical characterization of cork, phloem and wood from different *Quercus suber* provenances and trees.” *Heliyon*, 5. Doi: 10.1016/j.heliyon. 2019.e02910

Facundo, V.A. Rezende, C.M., Pinto, A.C. e Selene, M.M. (2003). Essential oil of *Zanthoxylum ekmanii* (Urb.) Alain. Leaves. *Journal of Essential Oil Research*, (15), p.402-403. Doi:10.1080/10412905.2003.9698621

Facundo, V.A., Silveira, A.S.P., Braz Filho, R., Pinto, A.C. e Rezende, C. M. (2005). “Chemical constituents of *Zanthoxylum ekmanii* (URB.) Alain”. *Quim. Nova* 28(2) 224-225. DOI:10.1590/S0100-40422005000200010

Fengel, D., e Wegener., G. (1984). “Wood (Chemistry Ultrastructure, Reaction) (Berlin and New York: Walter de Gruyter)”.

Ferreira, J.P.A., Miranda, I., Sousa, V.B. e Pereira, H.2018.”Chemical composition of barks from *Quercus faginea* trees and characterization of their lipophilic and polar extracts”. *Plos One*. DOI.org/10.1371/journal.pone.0197135

Ghavidel, A., Bak,M., Hofmann, T., Hosseinpourpia, R., Vasilache, V. Sandu, I. 2021. “Comparison of chemical compositions in wood and bark of Persian silk tree *Albizia julibrissin* Durazz”. *Wood Material Science & Engineering*. DOI:org/10.1080/17480272.2021.1953141

Grosso, M. e Pirani, J.R. (2017). “A new species of *Zanthoxylum* (Rutaceae) with a key to the species from Northeastern Brazil”. *Phytotaxa* 314(2), 259–265. DOI:10.11646/phytotaxa.314.2.7

Harun, J., e Labosky, P. (1985). “Chemical constituents of five northeastern barks.” *Wood Fiber Sci* 17:274-280.

Holowinskia, P., Dawidowicza, A.L. Typeka., R. 2022. ”Chlorogenic acid-water complexes in chlorogenic acid containing food products. *Journal of Food Composition and Analysis*”. *Journal of Food Composition and Analysis* (109).

IAWA committee.2016. “list of microscopic bark features”. *IAWA Journal* 37 (4): 517– 615. DOI 10.1163/22941932-20160151

- J. Food Compos. Anal., 104 (2021), Article 104156, 10.1016/j.jfca.2021.104156
- Janceva, S., Dizhbite, T., Telisheva, G., Spulle, U., Klavinsh, L., e Dzenis, M. (2011) “Tannins of deciduous trees bark as a potential source for obtaining ecologically safe wood adhesives”. Technology. Resources,” Latvia, Rezekne 265–270.
- Jansone, Z., Muizniece, I., e Blumberga, D. (2017). “Analysis of wood bark use opportunities.” Energy Procedia, (128)268–274. DOI: 10.1016/j.egypro.2017.09.07
- Kofujita, H., Etyu, K., e Ota, M. (1999). “Caracterização dos principais componentes da casca de cinco espécies de árvores japonesas para utilização química”. Wood Sci Technol 33:223–228. DOI:10.1007/s002260050111
- König, M., Scholz., E, Hartmann., R, Lehmann., W., e Rimpler., H. (1994). “Ellagitannins and complex tannins from *Quercus petraea* bark”. J Nat Prod 57:1411–1415
- Krishnappa, P., Venkatarangaiah, K., Shivamogga, R.S.K., e Kashi, P.G. R.2014. “Antioxidant and prophylactic effects of *Delonix elata* L., stem bark extracts, and flavonoid isolated quercetin against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats.” BioMed Res. Int. (1)14. DOI:10.1155/2014/507851
- L, Liao., W. Zhang, B. Zhang, Y. Cai, L. Gao, C. Ogutu, J. Sun, B. Zheng, L. Wang, L. Li, Y. Han. Evaluation of chlorogenic acid accumulation in cultivated and wild apples
- Lewis, G.P. (2015). “*Schizolobium* in Lista de Espécies da Flora do Brasil”. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Available in <Lista do Brasil - *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* (Huber ex Ducke) Barneby (jbrj.gov.br). Accessed 10 de agosto de 2021.
- Lima, L., Miranda, I., Knapic, S., T, Quilhó., e H, Pereira. (2018). “Chemical and anatomical characterization, and antioxidant properties of barks from 11 *Eucalyptus* species.” EUR. J. Wood Wood Prod. 783-792. DOI: 10.1007 / s00107-017-1247-y
- MACRAE, R. Nitrogenous components. In: CLARKE, R.; MACRAE, R. Coffee: Chemistry. London: Applied Science, p. 115-152, 1985.
- Makino, R., Ohara, S., e Hashida., K. (2011). “Radical scavenging characteristics of condensed tannins from barks of various tree species compared with quebracho wood tannin.”Holzforschung 65(5):651–657
- Mascarenhas, A.R.P. Scooti, M.S., Melo, R.R., Corrêa, F.L.O., Souza, E.F., e Pimenta, A.S. (2021). Characterization of wood from *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* Huber × Ducke trees from a multi-stratified agroforestry system established in the Amazon rainforest. Agroforestry Systems (95) 475–486. DOI: /10.1007/s10457-020-00576-5.
- Matsumae, T., Horito, M., Kurushima, N., e Yazaki, Y. 2019. Development of barkbased adhesives for plywood: utilization of flavonoid compounds from bark and wood. II. J. Wood Sci. 65(9). <https://doi.org/10.1186/s10086-019-1780-x>.

- Melo, L.E.L., Silva, C.J., Protásio, T.P. Mota, G.S., Santos, I.S., Urbinati, C.V., Trugilho, P.F., e Mori, F.A. (2018). “Planting density effect on some properties of *Schizolobium parahyba* wood”. *Maderas. Ciencia y tecnologia*. 20(3), 381 – 394. DOI: 10.4067/S0718-221X2018005003901
- Mendes, M.M., Oliveira, C.F., Lopes, D.S.L. Vale, LHFV. Alcântara, T.M., Izidoro, L.F.M., Hamaguchi, A., Homsí-Brandeburgo, M.I. Soares, A.M. Rodrigues, V.M. (2008). “Anti-Snake Venom Properties of *Schizolobium parahyba* (Caesalpinoideae) Aqueous Leaves Extract. *Phytother.*” Res. 22,859–866.DOI:10.1002/ptr.2371
- Mori, F.A., Mori, C.L.S.O., Mendes, L.M., Silva, J.R.M., e Melo, V.M. 2003. Influence of sulfite and sodium hydroxide on the quantification in tannins of the bark of barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*). *Floresta e Ambiente*, 10(1) 86-92.
- Mota, G.S., Sartori, C.J. Miranda, I., Quilho, T. Mori, A. e Pereira, H. 2017. Bark anatomy, chemical composition and ethanol-water extract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. *PLoS UM* 12:1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189263>
- Mota, G.S., Araujo, E.S. Lorenço, M., Abreu, J.L.L. Mori, C.L.S.O. Ferreira, C.A. Silva, M.G. Mori, F.A. e Ferreira, C.G. 2021a. “Bark of *Astronium lecointei* Ducke trees from the Amazon: chemical and structural characterization.” *European Journal of Wood and Wood Products*. <https://doi.org/10.1007/s00107-021-01670-w>
- Mota, G.S, Sartori, C.J, Ribeiro, A et al (2021b) Bark characterization of *Tachigali guianensis* e *Tachigali glauca* from the Amazon under a valorization perspective. *BioResources* 16(2), 2953-2970 <https://doi.org/10.15376/biores.16.2.2953-2970>
- Neiva, D.M., Araujo, S, Gominho, J., Carneiro, A.C., e Pereira, H. 2018. Potential of *Eucalyptus globulus* industrial bark as a biorefinery feedstock: chemical and fuel characterization *Ind. Crops Prod.*, (123)262-270. DOI:10.1016/j.indcrop.2018.06.070
- Norizaty, I., Latif, N.H., Brosse, N., Gambier, F., Syamani, F.A., e Hussina, M. H. 2022. “Preparation and characterization of formaldehyde-free wood adhesive from mangrove bark tannin.” *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 114. DOI:10.1016/j.ijadhadh.2022.103094
- Oliveira, V., Rosa, M.E. e Pereira, H. 2014. “Variability of the compression properties of cork;” *Wood Sci. Technol.*, 48 (5) 937 – 948. DOI: 10.1007/s00226-014-0651-2
- Paes, J.B., Diniz, C.E.F., Lima, C.R., Bastos, P.M. (2013) Madeiros Neto, P.N. “Taninos condensados da casca de angico-vermelho (*Anadenanthera colubrina* var. cebil) extraídos com soluções de hidróxido e sulfito de sódio”. *Revista Caatinga*. 26(3).
- Parker, J. 1977. “Phenolics in black oak bark and leaves”. *J Chem Ecol* 3(5):489–496. <https://doi.org/10.1007/BF00989069>
- Paula, J. E. (1980). “Madeiras que produzem álcool, coque e carvão”. *CNP – Atualidades* (72) 31-45.
- Pereira, H. (2013). "Variability of the chemical composition of cork," *BioRes.* 8(2), 2246-2256.
- Pereira, H. 1988. “Chemical composition and variability of cork form *Quercus suber* L”. *Wood Sci. Technol.* 22: 211–218. DOI: 10.1007/BF00386015

- Ping, L., Brosse, N., Chrusciel, L., Navarrete, P., e Pizzi, A. (2011). “Extração de taninos condensados de bagaço de uva para uso como adesivos de madeira”, *Ind. Crop. Prod.* 33, 253-257. DOI: 10.1016/j.indcrop.2010.10.007
- Quilhó, T., Pereira, H., e Richter, H.G.2000. “Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*”. *IAWA J.* 21: 31–40.
- Rodríguez Rojas, M., e Sibille Martina, A. M. (1996) “Manual de identificación de especies forestales de la Subregión Andina”. Lima: INIA, 291.
- Roth, I. (1981). “Structural patterns of tropical barks,” in: *Encyclopedia of Plant Anatomy* Vol. IX, Part 3, Borntraeger, Berlin, Germany.
- Ruiz-Aquino, F., González-Peña, M. M., Valdez-Hernández, J. I., Revilla, U. S., and Romero-Manzanares, A. (2015). “Chemical characterization and fuel properties of wood and bark of two oaks from Oaxaca, Mexico,” *Ind. Crop. Prod.* 65, 90-95. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.11.024
- Saraiva Filho, D.E., Sousa, J.B., Santos, H. S., Fontenelle, R.O.S. 2020. Chemical compounds isolated from extracts and essential oils of the genus *Zanthoxylum* Linnaeus (Rutaceae) and its antimicrobial potential.” *Hoehnea*, 47. DOI:10.1590/2236-8906-88/2019.
- Sartori, C., Mota, G.S., Ferreira, J. Miranda, I., Mori, F.A., e Pereira, P. 2016. Chemical characterization of the bark of *Eucalyptus urophylla* hybrids in view of their valorization in biorefineries. *Holzforschung*, (70) 819–828.
- Sartori, C.J., Mota, G.S., Miranda, I., Mori, F.A., Pereira, H. 2018. Tannin extraction and characterization of polar extracts from the barks of two *Eucalyptus urophylla* hybrids. *BioResources*, (13) 4820–4821.
- Silva, M.G.S., Mori, F.A., Ferreira, G.C., Ribeiro, A.O., Carvalho, A.G. e Barbosa, A.C.M.C. (2016). “Anatomical and physical studies of *Schizolobium parahyba* var. *amazonicum* wood from native stands in eastern Amazonia”. *Scientia Forestalis*, 44(110)293-301. DOI: dx.doi.org/10.18671/scifor.v44n110.02
- Singleton, V.L., e Rossi Junior, J.A.1965. “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagentes”. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144–158.
- Sousa, V., Perreira, P.A. Miranda, I., Quilhó, T. Pereira, H.2021. “*Quercus rotundifolia* Bark as a Source of Polar Extracts: Structural and Chemical Characterization”. *Forest*, 12(9). 10.3390/f12091160
- Teixeira, M. L.2012. *Citrumelo Swingle: Caracterização Química, Atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas*. *Magistra*, 24: 194–203.
- Trugilho, P. F.; Caixeta, R. P.; Lima, J. T.; e Mendes, L.M. (1997). “Estimation of condensed tannins on some typical cerrado species”. *Cerne*, 3(1) p1-13.
- Vale, L.H., Mendes, M.M., Fernandes, R.S., Costa, T.R.Hage-Melim, L.I.S., Sousa, M.A. Hmaguichi, A., Homsí-brandeburgo., Franca, S.C. Silva, C.H.T.P. Pereira, P.S. Soares, A.M., e Rodrigues, V.M.(2011). Protective effect of *schizolobium parahyba* flavonoids against snake venoms and isolated toxins. *Medicinal Chemistry*, (11)2566-2577. DOI: 10.2174/156802611797633438

Vangeel, T., Neiva, D.M., Quilho, T., Costa, R.A., Sousa, V. Sels, B.F., e Pereira, H. 2021. Tree bark characterization envisioning an integrated use in a biorefinery. *Biomass Conversion and Biorefinery*. DOI.org/10.1007/s13399-021-01362-8

Yazaki, Y., Gu, R., Lin, Y., Chen, W. e Nguyen, NK (2009). Análises de taninos de acácia negra (*Acacia mearnsii*) — Relações entre o pó de couro, os métodos Stiasny e ultravioleta (UV). *Holzforschung* , 47(1), 57-61. DOI: 10.1515/hfsg.1993.47.1.57.

Zhishen J, Mengcheng, T., e Jinming, W. 1999. ” The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals”. *Food Chem.* 64: 555–559. Doi.10.1016/S0308-8146(98)00102-2

## **ARTIGO 2 – A casca de *protium tenuifolium* proveniente da Amazônia como fonte de extratos fenólicos com propriedades antioxidantes**

Elaborado conforme normas do periódico European Journal of Wood and Wood Products

(Versão preliminar)

### **Resumo**

Este trabalho avaliou os componentes anatômicos e químicos da casca de *Protium tenuifolium*, uma espécie arbórea da Amazônia brasileira, com o objetivo de fornecer informações que valorizem seu uso como fonte de polifenóis e antioxidantes naturais para variadas indústrias. Anatomia da casca foi analisada, bem como a composição da química somativa (extrativos, lignina, suberina, cinza e polissacarídeo), análise elementar quantitativa da casca e extração de taninos em dois tratamentos (apenas em água e água e Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Os extratos da casca foram quantificados quanto à composição fenólica e atividade antioxidante. Os resultados indicaram que a casca é formada por floema condutor, floema não condutor e ritidoma. A composição química média foi de 15,9% de extrativos, 35,3% de lignina total, 1,9% de suberina, 15,4 de cinzas e 31,5% de polissacarídeos. Nas extrações de taninos condensados a quantificação apenas com água foi de 5,1% e no tratamento com água e Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> o rendimento foi de 8,1%. O extrato em etanol-água apresentou alto teor de fenólicos (112,6 mg GAE g<sup>-1</sup> de extrato). O extrato da casca apresentou forte atividade antioxidante, chegando a 83,5% de inibição dos radicais livres DPPH, valor superior ao antioxidante comercial BHT, que inibiu 75,0% na mesma concentração. Esses resultados demonstram que a casa de *Protium tenuifolium* é um potencial fonte natural amazônica de compostos fenólicos e antioxidantes, podendo ser utilizada para fins medicinais, produção de variados produtos sustentáveis como cosméticos. A extração desses compostos representará uma importante valorização da casca desta espécie amazônica.

**Palavra-chave:** Produtos sustentáveis. Caracterização anatômica. Amazônia brasileira

### **Introdução**

Atualmente a utilização de cascas possui como finalidade produzir produtos de alto valor agregado, destacando a utilização de extratos da casca para biocompostos, principalmente para polifenóis, que possui amplo potencial para diferentes aplicações (Souza et al. 2021).

Os efeitos biológicos atribuídos aos polifenóis são, principalmente, a capacidade de neutralizar as espécies altamente reativas, como os radicais superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) e hidroxila (OH<sup>-</sup>) produzidos devido ao estresse oxidativo, além de ativar enzimas antioxidantes e melhorar o estresse oxidativo (Carocho et al. 2018). Os antioxidantes de origem vegetal mais comum são: taninos, flavonoides, derivados de ácido cinâmico, cumarinas e ácidos orgânicos (Farias et al. 2013).

O aumento da busca por antioxidantes de origem vegetal se intensificou nas últimas décadas, pois pesquisas mostraram que a ingestão de antioxidantes sintéticos a longo prazo provoca problemas de saúde como, gastrointestinal, alergia na pele e aumento do risco de câncer

(Engin et al. 2011; Lourenço et. 2019). Doses altas de antioxidantes sintéticos podem causar danos ao DNA (Kornienko et al. 2019). O antioxidante sintético BHT já foi considerado responsável por efeitos adversos no fígado e câncer em animais (Botterweck et al. 2000; Saad et al. 2007).

A intensificação da busca por compostos fenólicos se justifica também devido ao potencial de possuírem diversas aplicações comerciais tais como: corantes alimentícios, embalagens bioativas, produtos cosméticos, têxteis, borracha, plásticos, espumas, remédios (Farrag et al. 2018; Mendoza et al. 2018; Chen et al. 2020; Araujo et al. 2021) e tratamento de água (SÁnchez-martín et al. 2010; Bello et al. 2020). Embora existam diversas vantagens para utilização de cascas, o uso industrial ainda é limitado, principalmente devido o desconhecimento sobre as características específicas das espécies florestais (Jansone et al. 2017).

A maioria dos estudos sobre a composição da casca são com espécies de clima temperados (Souza et al. 2021b). No Brasil as principais pesquisas são com espécies dos biomas Cerrado e Caatinga, sendo limitada as informações de cascas do bioma Amazônia, embora seja de grande importância informações científicas para a valorização de espécies da região e futura produção de produtos sustentáveis com polifenóis de cascas amazônicas (Araujo et al. 2020).

A família Burseraceae compreende cerca de 700 espécies, e somente do gênero *Protium* Burm.f. existem 68 espécies que são encontradas no Brasil (Santana et al. 2020). Aproximadamente 40 espécies são endêmicas da região amazônica (Daly, 1992). A espécie *Protium tenuifolium* conhecida popularmente como Breu encontra-se distribuída por todo o Bioma Amazônia (Flora do Brasil, 2022).

As espécies do gênero *Protium* possui um grande potencial para produção de novos produtos, pois produzem as oleoresinas, conhecidas popularmente como breu. Elas são usadas na medicina tradicional pelas populações amazônicas como é o caso das comunidades quilombolas que vivem no entorno do rio Erepecuru em Oriximiná, Pará. As oleoresinas são usadas como anti-inflamatório, analgésico, expectorante, inseticida natural, bem como incenso e calafetar barcos. A indústria utiliza oleoresinas, principalmente, para a fixação de perfumes (Silva et al. 2017; Ferreira et al. 2020).

Santos et al. (2021) estudaram o óleo essencial da casca de *Protium tenuifolium* e obtiveram um rendimento de 0,05%. O GC/MS e os principais constituintes químicos do óleo foram o limoneno (56,17%),  $\alpha$ -phellandrene (16,22%) e  $p$ -cymene (10,52%).

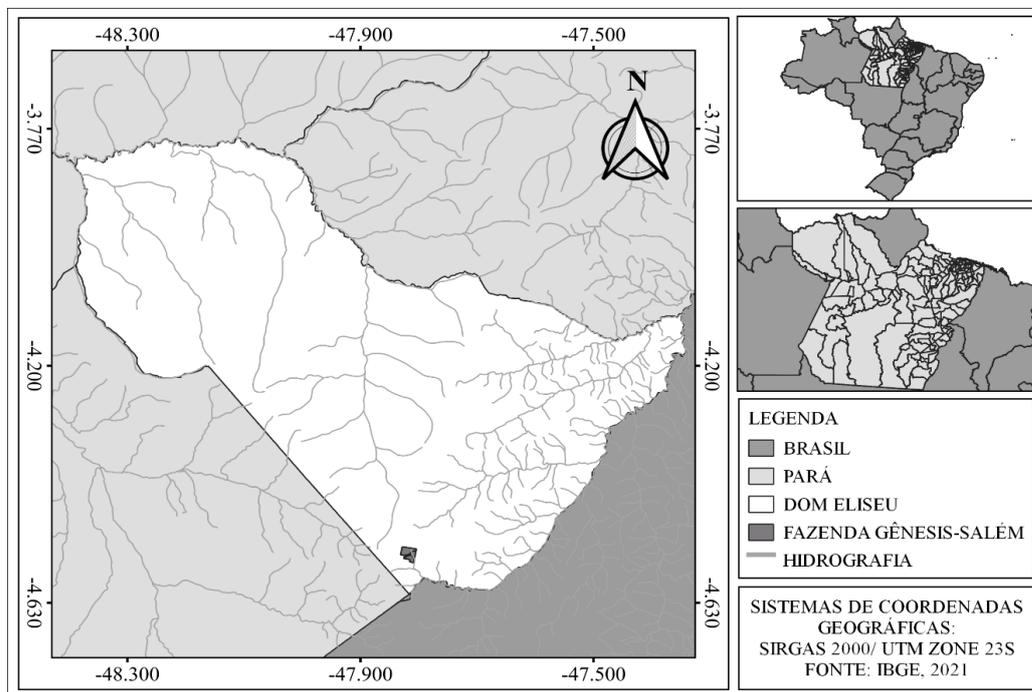
A casca de *Protium tenuifolium* é aqui estudada pela primeira vez com uma caracterização anatômica, química somativa, extração de taninos e propriedades antioxidantes

de extrativos polares, buscando assim o fornecimento de informações que poderão ser usadas para agregar valor e direcionar usos para casca desta espécie.

## Material e métodos

### Amostragem

Foram coletadas as cascas da espécie *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl, em floresta nativa em uma área de manejo sustentável na região amazônica, localizada no município de Dom Eliseu, no sudeste do Estado do Pará, Brasil (Fig. 1). No mês de abril de 2021. Foram retiradas cascas do tronco de oito indivíduos com um diâmetro médio a altura do peito (DAP) de 33,00 cm. Foi coletado material botânico de todos os indivíduos e realizado a identificação por comparação com a coleção do Herbário da Embrapa Amazônia Oriental (IAN), Belém (PA). Todo o material foi coletado com técnicas que visasse o menor impacto possível nos vegetais, inclusive após a remoção da casca foi aplicadas calda bordalesa (sulfato de cobre e cal virgem) para colaborar na regeneração das cascas desses indivíduos arbóreos.



**Fig. 1.** Localização da área de coleta.

### Análise macroscópicas

O estudo anatômico consistiu na análise da casca de cinco indivíduos de *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl. Para a análise macroscópica da casca, as amostras foram seccionadas e as superfícies da seção transversal foram polidas com uma sequência de lixas com granulometrias de 200, 300, 400, e as espessuras da periderme, ritidoma, floema secundário

total, condutor e não condutor foram estimados a partir de imagens obtidas através de um microscópio estereoscópico (Nikon SMZ745T, Minato-ku, Tóquio, Japão).

### **Anatomia microscópica**

As amostras foram impregnadas com polietilenoglicol 1500 e foram confeccionados cortes histológicos microscópicos das seções transversais, tangenciais e radiais (Quilhó et al. 1999, 2000; Mota et al. 2017). Um micrótomo de deslize foi utilizado para cortar seções de 14-20- $\mu\text{m}$  de espessura. Os cortes foram coradas com dupla coloração de crisoidina (1%)/azul de astra (1%). As lâminas permanentes foram montadas em resina sintética (entellan). Pequenos fragmentos da casca interna e externa foram retirados e macerados em solução de ácido acético glacial e peróxido de hidrogénio (1:1) a 60 °C durante 7 h (Franklin 1945, modificado por Kraus e Arduin 1997). O material macerado foi corado com azul de astra, e as lâminas semipermanentes, foram montadas em glicerina. Observações microscópicas e aquisição de dados foram feitas com um microscópio óptico Olympus BX41TF, acoplado a uma câmara digital Pixelink PL-A662, usando o software WinCELL Pro. As lâminas foram fotografadas utilizando um microscópio ligado a um sistema de captura de imagem (CX31, Olympus, Tóquio, Japão). A descrição seguiu a terminologia da Angyalossy et al (2016).

### **Composição química somativa da casca**

As cascas secas de oito indivíduos foram reduzidas em moinho martelo para obter um material homogêneo com granulometria de 60 mesh para as análises químicas. A análise química somativa incluiu determinações de extrativos solúveis em diclorometano, etanol, e água, lignina Klason e lignina solúvel em ácido e cinza. Os extrativos foram determinados de acordo com as normas TAPPI (TAPPI Standar T204 om-88 e T207 om-93). Sucessivas extrações de Soxhlet foram feitas com diclorometano, etanol e água, durante 6 h, 16 h, e 16 h, respectivamente. Os extrativos solubilizados por cada solvente foram determinados gravimetricamente. A lignina Klason foi determinada segundo a Norma TAPPI T 222 om-88, lignina solúvel foi determinado usando a Norma TAPPI UM 250, e cinza usando a Norma TAPPI T 211 om-93. Polissacáridos foram determinados pela diferença. O conteúdo de suberina foi determinado no material sem extrações utilizando metóxido de sódio em metanol para despolimerização (Pereira 1988). As análises foram realizadas em triplicata.

### **Análise dos elementos quantitativos das cascas**

A composição elementar (macro e micronutrientes) das cascas de oito árvores foram quantificadas por espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP-OES, Spectro Instrumentos Analíticos, Alemanha). Seguindo um procedimento descrito por Araujo et al (2020).

### Extração de taninos

As cascas secas de oito indivíduos foram reduzidas em moinho de martelo para obtenção de um material homogêneo. Os taninos foram extraídos em triplicado em um banho-maria a 70 °C durante 3 horas. Foram utilizados 100 g de casca (base seca) e 1500 ml de água, relação 15:1 (volume: massa), com e sem a adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> em relação à massa seca da casca. As frações sólidas foram removidas por filtração utilizando uma peneira de 200 mesh e depois em um cadinho de vidro sinterizado com porosidade 1 em condições de vácuo.

### Determinação do rendimento do tanino condensado

O rendimento de taninos condensados foi determinado pelo índice Stiasny. Primeiro uma extração foi concentrada a 70 °C até atingir o volume de aproximadamente 150 ml. Além da massa do extrato concentrado, o conteúdo de sólidos, em triplicata, foi determinado a 103 ± 2 °C durante 24 horas. O teor de sólidos (TS) foi calculado de acordo com a Equação 1. A percentagem do rendimento total de sólidos (RTS) foi determinada de acordo com a Equação 2.

(1)

$$TS = \left( \frac{\text{massa seca do extrato}}{\text{massa umida do extrato}} \right) * 100$$

(2)

$$RTS = \left( \frac{TS\% * \text{massa total do concentrado}}{100} \right) * 100$$

O índice de Stiasny foi determinado em triplicatas. Para isso, foram colocados em um balão volumétrico 20 g de extrato concentrado, 10 ml de água deionizada, 2 ml de HCl 10 mol L<sup>-1</sup> e 4 ml de formaldeído 37 % sucessivamente e colocados sob aquecimento em sistema de refluxo por 35 minutos. A contagem dos minutos foi iniciada após a fervura. O precipitado foi filtrado em cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 e seco em estufa de ar quente a 103 ± 3°C até massa constante. O índice de Stiasny foi calculado de acordo com a Equação 3. O rendimento gravimétrico de taninos condensados (RGTC) foi determinado pela Equação 4. O rendimento de componentes não tânicos (RCNT) foi obtido pela diferença entre RCNT e RGTC.

(3)

$$\text{Índice de Stiasny} = \left( \frac{\text{massa seca do precipitado}}{\text{massa seca de 20g do extrato}} \right) * 100$$

(4)

$$RGTC = \frac{IS\% * RCNT}{100}$$

### **Compostos fenólicos do extrato de cascas de árvores**

Foram extraídas amostras de 0,5 g da casca (base seca) numa solução de etanol-água com proporção 1:1 (v/v) utilizando banho ultrassônico a 50 °C durante 1h. A solução foi filtrada através de cadinho de vidro sinterizado com porosidade 2 em condições de vácuo e o volume do filtrado foi preenchido até 50 ml com água desionizada. A partir deste extrato, foram determinados os conteúdos de fenóis totais, flavonoides totais e taninos condensados. O resíduo sólido retido na filtração foi seco e o rendimento da extração foi calculado em relação à massa do material inicial. O teor total de fenóis foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão (Singleton *et al.* 1965). Os flavonoides totais foram quantificados por ensaio colorimétrico de cloreto de alumínio com padrão de catequina (Zhishen *et al.* 1999). O teor de taninos condensados foi determinado pelo método da vanilina H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Abdalla *et al.* 2014). As leituras de absorbância foram realizadas utilizando um espectrofotômetro SP-22 Biospectro SP-22 e os resultados foram expressos em miligramas de equivalente ácido gálico (fenóis totais) e equivalente catequina (flavonoides e taninos condensados) / g de extrato seco.

Para determinar o perfil e quantificação de compostos fenólicos presentes nas amostras foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Os padrões empregados para análise dos compostos fenólicos foram trigonelina, ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido caféico, ácido siríngico, vanilina, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico, ácido m-cumárico, ácido o-cumárico, reveratrol, quercetina, ácido rosmarínico, ácido transcinâmico e rutina. Para as análises cromatográficas, amostras e solventes foram filtrados utilizando membranas de 0,45µm.

As amostras foram quantificadas pelo método de padronização externa, sendo as curvas analíticas construídas por diluições das soluções estoque, contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> de cada padrão solubilizado em metanol. As curvas analíticas foram obtidas por regressão linear, considerando o coeficiente de determinação R<sup>2</sup>=0,99.

As análises foram realizadas em cromatógrafo de alta eficiência Shimadzu®, equipado com quatro bombas de alta pressão LC-20AT, detector de arranjo de diodos SPD-M20A, degaseificador DGU-20A5, interface CBM-20A, forno CTO-20AC e injetor automático com autoamostrador modelo SIL-20A. As separações foram realizadas utilizando-se uma coluna Shimadzu® – Shim-pack GVP-ODS-C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) conectada a uma pré-coluna Shimadzu® – Shim-pack GVP-ODS-C18 (4,6 x 10 mm, 5 µm). Os solventes de eluição

utilizados foram: solução de ácido acético 2% em água ultrapura, obtida a partir de Milli-Q Integral Water Purification System na Fase A; metanol; água, ácido acético (70:20:2 % v/v) na Fase B. O comprimento de onda utilizado foi de 280 nm, fluxo de 1,0 mL min<sup>-1</sup>, temperatura da coluna de 35 °C e volume de injeção de 20 µL. Para o cálculo da concentração dos compostos fenólicos empregou-se equações da reta específicas para cada padrão utilizado.

#### **Atividade antioxidante do extrato de casca**

A análise foi realizada de acordo com o método descrito por Teixeira (2012), com modificações apresentadas em Araujo et al. (2020). Os extratos da análise de compostos fenólicos foram liofilizados e utilizados na determinação da atividade antioxidante pela estabilização do 2,2-difenil-1- radical livre de hidrato de picrilhidrazil (DPPH). Amostras de 0,0125 g (casca liofilizada e extratos de BHT) foram solubilizadas em 25 ml de CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, posteriormente diluídas nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500 µg mL<sup>-1</sup> em CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH e mantidos sob refrigeração durante a noite.

A solução etanólica de DPPH com concentração de 40 mg L<sup>-1</sup> foi preparada e mantida ao abrigo da luz. Aos tubos de ensaio foram adicionados 0,3 mL de amostras nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200, 250 e 500 µg mL<sup>-1</sup>, seguido da adição de 2,7 mL da solução de DPPH. De uma só vez, preparou-se o controle negativo e branco. O controle negativo foi preparado pela adição de 0,3 mL de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e 2,7 mL de solução de DPPH, e o branco (para cada concentração), pela adição de 2,7 mL de etanol e 0,3 mL da solução das amostras. As soluções permaneceram no escuro por 60 minutos. Após isso, as leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro UV/Vis (Shimadzu UV-1601 PC) a 515 nm. A comparação padrão utilizada na análise foi o antioxidante sintético hidroxitolueno butilado (BHT) e todas as análises foram realizadas em triplicata. A atividade antioxidante foi expressa em porcentagem de inibição, calculada a partir dos valores de absorvância, de acordo com a equação 5 e foi calculado plotando os dados de inibição em relação a concentração da amostra. O valor de IC<sub>50</sub> expressa a concentração antioxidante necessária para reduzir a presença do radical livre DPPH em 50%.

(5)

$$Inibição(\%) = \frac{A_{DPPH} - A_{Amostra}}{A_{DPPH}} \times 100$$

#### **Análise estatísticas**

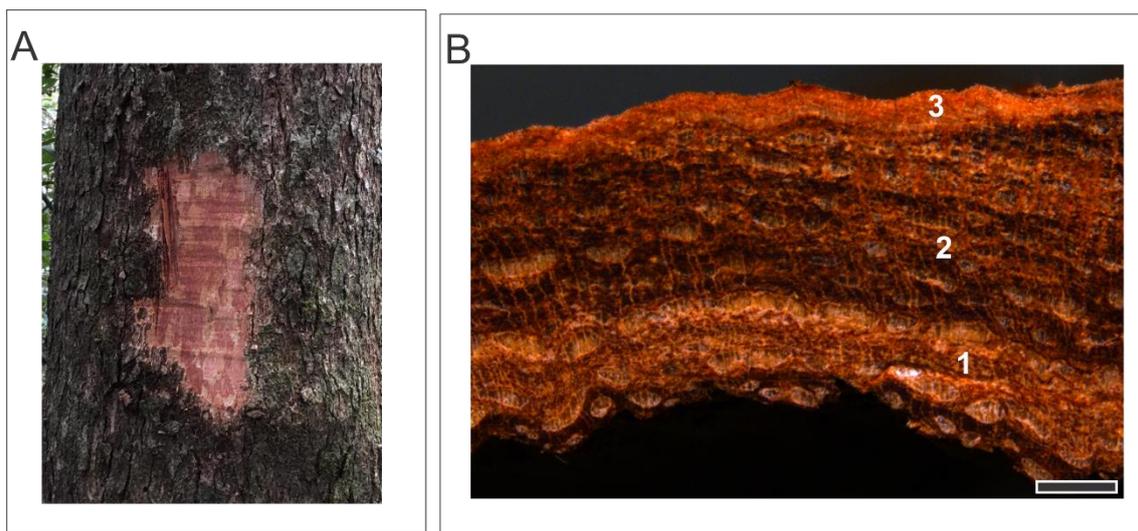
A análise estatística foi conduzida num desenho completamente aleatório, utilizando *software Origin (Pro)*, versão 2018 SR1, OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA. O teste Tukey foi aplicado para verificar as diferenças entre as condições de extração em ambas

as espécies (com e sem Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>). Foi adotado um nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ) para todas as análises estatísticas.

## Resultados e discussão

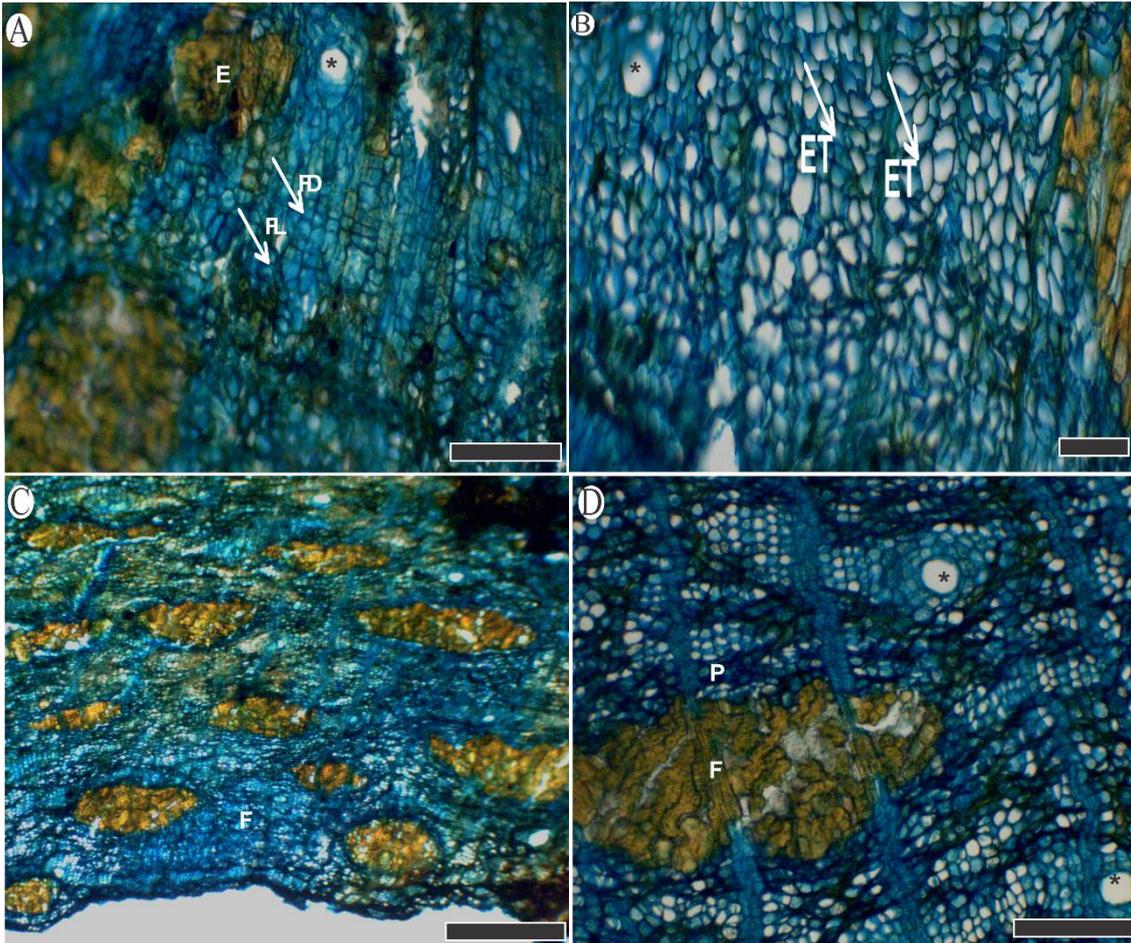
### Estrutura anatômica da casca

A espessura média da casca de *Protium tenuifolium* é de 7,4 mm. A superfície é escamosa e possui uma coloração preta, o seu interior é vermelho carmim (Fig. 2A). A casca inclui o floema (condutor e não condutor) e o ritidoma (Fig. 2B).



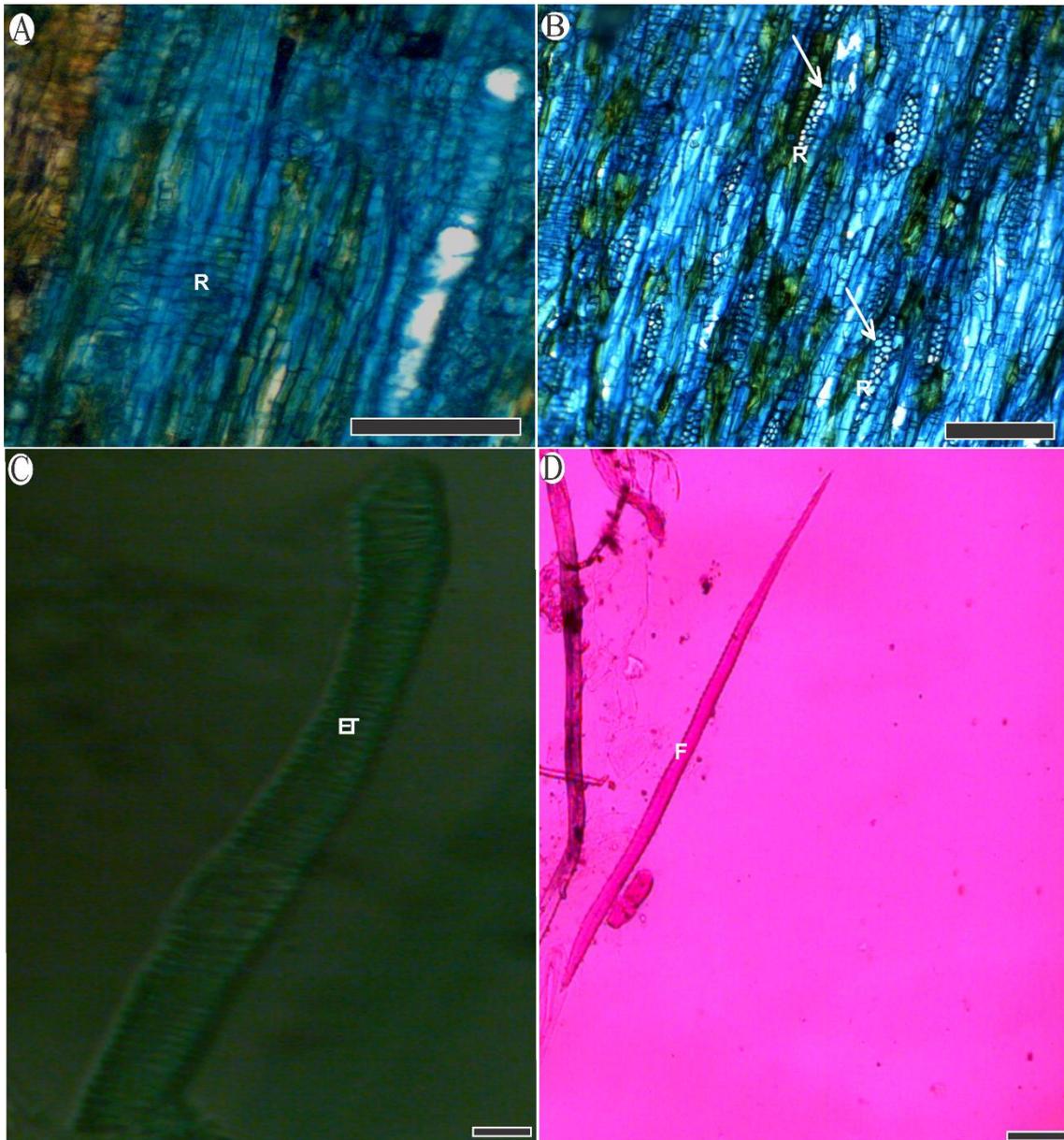
**Fig.2** A Aspectos macroscópicos da casca externa de *Protium tenuifolium* (Engl.) Eng. B Seção transversal da casca de *P. tenuifolium* evidenciando floema condutor (1), floema não condutor (2) e ritidoma (3). Barra de escala = 100  $\mu$ m.

A periderme é desenvolvida em camadas sequenciais contínuas com algumas das células do felema e feloderme esclereificadas (Fig. 3a). A transição do floema condutor para o não condutor ocorre de forma gradual (Fig.3c). O floema condutor é largo e inclui elementos de tubo solitários e em pequenos grupos com pequenas células companheiras, adjacentes à fibras e células de parênquima axial e radial (Fig.3b, d). Os elementos de tubo têm placas inclinadas e escalariformes e os diâmetros tangenciais do elemento do tubo são 6-19  $\mu$ m e o comprimento 185-626  $\mu$ m, em média (Fig 4.c). Os elementos de tubo são acompanhados por uma célula companheira e estão dispostos em filas radiais no floema condutor (3.b.d).



**Fig. 3.** **A** Plano transversal de *Protium tenuifolium*, esclereide (E), são células de parênquima axial; **B** elemento de tubo (ET), célula secretora (\*); **C** floema (F); **D** fibra (F), parênquima (P), elemento de tubo (ET), célula secretora (\*). Barra de escala = 100  $\mu$ m

O número de células dos raios varia entre 9-27 em altura e a largura contabiliza-se entre 2-6, altura média dos raios foi de 95-315  $\mu$ m e largura 11-71  $\mu$ m compostos por células procumbentes (Fig 4.a).



**Fig. 4.** **A** Plano radial de *Protium tenuifolium*, raio (R); **B** Plano tangencial, raio (R), Cristais (setas); **C** elemento de tubo (ET); **D** fibra (F). Barras de escala (A-D) = 100  $\mu\text{m}$ .

As fibras tem um comprimento médio de 593-1.049  $\mu\text{m}$  e uma espessura média de 8,8  $\mu\text{m}$ . No floema condutor, as fibras ocorrem em grupos pequenos isolados entre as células do parênquima (Fig. 3d). As esclereides possuem paredes lignificadas e atingem um diâmetro tangencial médio de 11-30  $\mu\text{m}$  (Fig. 3a). No floema é presente uma grande quantidade de células secretoras (Fig. 3a,b e d). De acordo Metcalfe e Chalk (1950) a presença de canais secretores de resina aromática associada ao floema é uma característica constitutiva de muitas espécies de Burseraceae. Na espécie *Protium heptaphyllum* é possível observar células secretoras no floema assim como em *P. tenuifolium* (Palermo et al. 2018).

### Composição química somativa da casca

A tabela 1 resume a composição química somativa da casca de *P. tenuifolium*. O conteúdo do total de extrativos foi de 15,9%, dos quais cerca de 94,3% correspondem a extrativos polares.

**Tabela 1** Composição da química somativa (% do total de massa seca) da casca de *Protium tenuifolium*

| Componentes químicos | % Desvio padrão |
|----------------------|-----------------|
| <i>Extrativos</i>    |                 |
| Diclorometano        | 0,9(0,3)        |
| Etanol               | 8,4(0,1)        |
| Água                 | 6,6(0,3)        |
| Total                | 15,9            |
| <i>Lignina</i>       |                 |
| Lignina Klason       | 32,9(0,3)       |
| Lignina solúvel      | 2,4(0,1)        |
| Total                | 35,3            |
| Suberina             | 1,9(1,1)        |
| Cinzas               | 15,4(0,10)      |
| Polissacarídeos      | 31,5            |

Os valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão.

Esse valor de extrativos totais é semelhante à casca de clones de *Eucalyptus urophylla* (14,3% a 17,6%) (Sartori et al. 2016) e *Tachigali glauca* (15,3%) (Mota et al. 2021b), maior que à casca de *A. lecointei* proveniente da Amazônia (12,9%) (Mota et al. 2021a) e menor que *Tachigali guianensis* (18,0%) (Mota et al. 2021b).

A casca de *Protium tenuifolium* é bastante lignificada (35,3%). Esse valor à casca de outras espécies amazônicas como: *Copaifera langsdorffii* com 36,6% (Carmo et al. 2016a) e *Albizia niopoides* com 37,1% (Carmo et al. 2016b). Algumas espécies brasileiras apresentaram valores inferiores como *Myrcia eximia* com 21,1% (Araujo et al. 2020) e *Myracrodruon urundeuva* com 25,74% (Sousa et al. 2020). O alto teor de lignina está de acordo com a grande proporção de esclereides altamente lignificados (Fig. 3a). Esse alto teor de lignina pode ser utilizado na indústria para produção de biocombustíveis (Moniz et al. 2015).

Os polissacarídeos representaram 31,5% da casca. Este valor é inferior aos reportados de 39,67% para a espécie *Betula celtibérica* (Sillero et al. 2019) e 41,13% para *Quercus faginea*

(Ferreira et al. 2018). O valor é superior a 25,9% constatado na espécie amazônica *Goupia glabra* (Carmo et al. 2016c).

O teor de suberina foi baixo (1,9%). As células do felema são células mortas, caracterizadas por uma parede celular contendo suberina que é depositada internamente na parede celular primária (Leite e Pereira 2017). Quando a proporção de felema é pequena, o conteúdo de suberina é baixo. Em *T. grandis* foi observado 1,9% de suberina, valor semelhante ao encontrado em *P. tenuifolium* (Baptista et al. 2013).

O teor de cinza foi de 15,4, o que é um valor alto quando comparado a casca de outras espécies como *Eucalyptus globulus* (3,5%) (Gominho et al. 2021), *A. peregrina* (8,2%) e *A. colubrina* (7,7%) (Mota et al. 2017). Em *Tectona grandis* foi observado um valor de 18,5% , superior ao encontrado em *P. tenuifolium* (Baptista et al. 2013).

### **Análise dos elementos quantitativos da casca**

A composição elementar dos componentes minerais da casca de *Protium tenuifolium* é apresentado na Tabela 2. O Ferro tem a concentração mais elevada (74,5%), seguido de cálcio (64,2%), nitrogênio (17,1%), manganês (13,2%) e potássio (11,9%).

**Tabela 2** Componentes minerais elementares da casca de *Protium tenuifolium*

| Minerais | mg/100g de casca | % da casca |
|----------|------------------|------------|
| N        | 6,9              | 17,1       |
| P        | 0,2              | 0,5        |
| K        | 4,8              | 11,9       |
| Ca       | 26,3             | 64,2       |
| Mg       | 0,9              | 2,2        |
| S        | 1,4              | 3,5        |
| Minerais | µg/100g de casca | % da casca |
| Mn       | 24,4             | 13,2       |
| Zn       | 5,9              | 3,2        |
| B        | 9,9              | 5,4        |
| Cu       | 6,8              | 3,7        |
| Fe       | 137,3            | 74,5       |

A quantidade elevada de cálcio, possivelmente, resultou nos frequentes cristais de oxalato de cálcio que são observados nas células de parênquima (Fig. 4b), tal fato também é

observado em outras espécies amazônicas como *Astronium lecointei* (Mota et al.2021a) e *Goupia glabra* (Carmo et al. 2016c). A grande quantidade de Fe, Ca, N, Mn e K, indica que *P. tenuifolium* pode ser utilizada como substrato vegetal.

### Taninos condensados da casca

Os valores médios de extração de tanino em água e solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> da casca de *Protium tenuifolium* são apresentados na Tabela 3. A adição de sulfito de sódio representou um aumento no rendimento de sólidos totais de 3,8% e um aumento de 3,0% nos taninos condensados.

**Tabela 3** Valores médios do rendimento total de sólidos (RTS), índice Stiasny (IS), Rendimento de taninos condensados (RTC), rendimento de compostos não tânicos (RCNT) dos taninos extraídos em água com e sem a adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>.

| Espécie              | Tratamentos                            | RTS (%)     | IS (%)       | RTC (%)     | RCNT (%)    |
|----------------------|--|-------------|--------------|-------------|-------------|
| <i>P.tenuifolium</i> | Água                                   | 7,8 (0,1)B  | 64,8 (2,1)B  | 5,1 (27,7)B | 2,74 (0,1)B |
|                      | Água e Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> | 11,6 (1,3)A | 71,2 (22,2)B | 8,1 (11,5)A | 4,26 (2,7)A |

Os valores seguidos pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente com base no teste Tukey ao nível de 5% de significância. Os valores entre parênteses correspondem ao desvio padrão de 6 amostras.

Os valores de rendimento de total de sólidos, taninos condensados e compostos não tânicos extraídos em água com e sem adição de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> diferiram estatisticamente de acordo com a tabela 3, essa diferença estatística se deve ao fato do Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (sulfito de sódio) ter provido o aumento do rendimento total de sólidos, taninos condensados e compostos não tânicos na extração realizada com água e 3% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. O aumento desses rendimentos também foram constatados na espécie Amazônia *Myrcia eximia* com a extração em água e 3% Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (Araujo et al. 2021).

Diversas pesquisas informam o aumento dos rendimentos em taninos condensados quando extraídos em solução de sulfito de sódio. Hoong et al. (2009) utilizando Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> na extração de taninos de *Acacia mangium* obtiveram um rendimento entre 15% e 25%, em *P.tenuifolium* a extração com solução de 3% de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> demonstrou um rendimento de 8,1% (Tabela 3). Lins et al. (2019) ao quantificar taninos da espécie *Erythrina velutina* que foram extraídos apenas em água, observaram um rendimento de 4,02%, valor próximo ao observado em *P.tenuifolium*.

O índice de Stiasny é um dos métodos mais utilizados para quantificação de taninos. A metodologia em questão baseia em uma reação química que ocorre a precipitação dos taninos classificados como flavanol através da condensação com formaldeído em ácido. Esses produtos

apresentam alto peso molecular e são de difícil dissolução, de forma que quanto mais elevado for o índice de Stiasny, menor será a quantidade de outras substâncias (Guangcheng et al.1991; Pizzi e Mital 1994). Em *P.tenuifolium* os índices de Stiasny quantificados nas extrações foram de 64, 8 e 71,2%, respectivamente, sendo considerados índices elevados. Esse índice pode ajudar a determinar se os extratos podem utilizados como adesivos (Chupin et al. 2013). De acordo Yazaki e Collins (1994) é preciso para um adesivo de alta qualidade um índice de Stiasny de pelo o menos 65%.

O teor de sólidos totais se equivale da totalidade de extrativos em forma de pó presente nas amostras analisadas (Medeiros et al. 2019). Em *P.tenuifolium* os teores de sólidos quantificados foram de 7,8 e 11,6%. Sousa et al. (2019) observaram 9,8 % de sólidos em *M. caealpinifolia*.

### Conteúdo fenólico de extratos de casca

A composição fenólica dos extratos da casca é dada na tabela 3, sendo que os fenólicos totais correspondem a 111,6 GAE g<sup>-1</sup> de extrato, flavonoides mg de catequina g<sup>-1</sup> de extrato e taninos condensados a 501,3 CE g<sup>-1</sup> de extratos.

**Tabela 3** Rendimento fenóis totais, taninos condensados e flavonoides da casca de *Protium tenuifolium*

|  |       |
|--|-------|
| Teor fenólico total (mg GAE g <sup>-1</sup> de extrato)          | 112,6 |
| Flavonoides (mg de catequina g <sup>-1</sup> de extrato)         | 5,3   |
| Taninos condensados (mg de catequina g <sup>-1</sup> de extrato) | 14, 0 |

O teor fenólico foi de 112,6 mg GAE g<sup>-1</sup> sendo um valor menor do que de outros estudos como 165,90 mg GAE g<sup>-1</sup> de extrato de *Myracrodruon urundeuva* (Sousa et al. 2020), 583,0 e 682,0 mg GAE g<sup>-1</sup> de extrato das espécies *Anadenanthera peregrina* e *Anadenanthera colubrina* (Mota et al. 2017). O valor de flavonoides foi de apenas 5,3 mg de catequina g<sup>-1</sup> de extrato, sendo considerado baixo quando comparado com extrato de casca de outras espécies como: 91,36 mg de catequina g<sup>-1</sup> de extrato de *Myracrodruon urundeuva* (Sousa et al. 2020) e 300, 8 mg de catequina g<sup>-1</sup> de extrato de *Myrcia eximia* (Araujo et al. 2020).

Os valores de taninos em extratos da casca de *P. tenuifolium* são menores do que encontrado em outras espécies amazônicas como: 877 mg CE g<sup>-1</sup> de extrato em *Myrcia eximia* (Araujo et al. 2020), 59, 1 mg CE g<sup>-1</sup> de extrato em *Albizia niopoides* (Carmo et al. 2016b). Em *Astronium lecointei* proveniente da Amazônia o valor foi de 7,3 mg CE g<sup>-1</sup> de extrato, sendo inferior ao encontrado em *P. tenuifolium* (Mota et al. 2021a).

A composição fenólica do extrato quantificada por HPLC é mostrada na Tabela 4. Dos sete compostos presentes a trigonelina foi a mais abundante (295.60 mg 100g<sup>-1</sup> de casca), seguido por catequina (259.60 mg 100g<sup>-1</sup> de casca) e ácido gálico (173.25 mg 100g<sup>-1</sup> de casca).

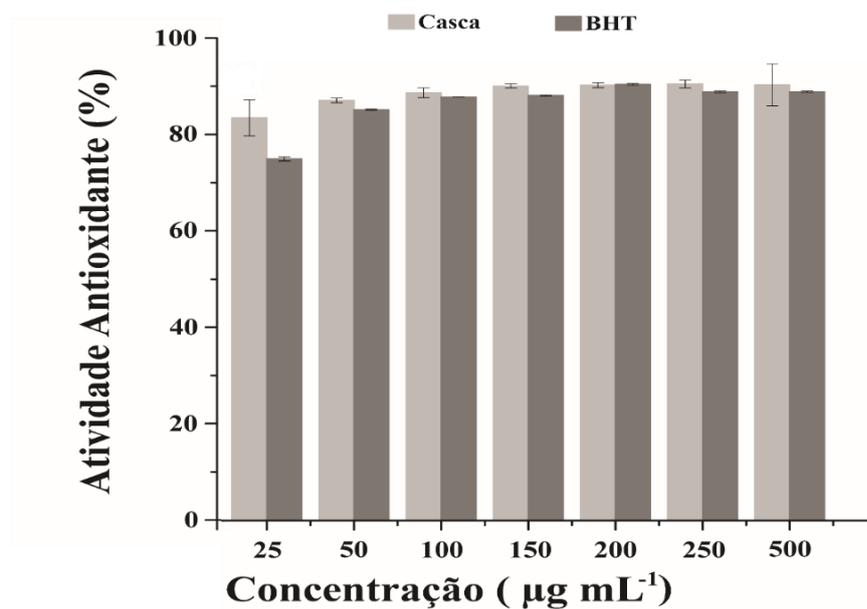
**Tabela 4** Compostos fenólicos dos extratos de casca de *P. tenuifolium* identificado por HPLC

| Polifenóis       | mg 100g <sup>-1</sup> de casca |
|------------------|--------------------------------|
| Trigonelina      | 295.60                         |
| Ácido gálico     | 173.25                         |
| Catequina        | 259.28                         |
| Vanilina         | 16.41                          |
| Ácido p-cumárico | 9.35                           |
| Ácido ferrúlico  | 6.76                           |

O composto catequina é um composto encontrado em plantas e devido às suas estruturas químicas são excelentes antioxidantes (Silva et al. 2019). Catequina também foi encontrado nas cascas da espécie brasileira *Stryphnodendron rotundifolium* (Sousa et al.2021). Trigonelina possui a capacidade de reduzir glicose (Mathur e Kamal 2012). O Composto fenólico ácido gálico encontrado nas cascas de *P. tenuifolium* apresenta atividade antioxidantes superior a outros diversos polifenóis (Badhani et al. 2015). Nas cascas da espécie amazônica *Myrcia eximia* também foi encontrado o composto fenólico ácido gálico.

#### **Atividade antioxidante de extrato da casca**

O extrato da casca de *Protium tenuifolium* em quase todas as concentrações analisadas apresentou maior atividade antioxidante do que o hidroxitolueno butilado (BHT), que foi utilizado como padrão, exceto na concentração 200 µg mL<sup>-1</sup>, que o BHT inibiu 0,1% a mais que o extrato da casca. Na concentração de 25 µg mL<sup>-1</sup>, o extrato da casca atingiu 83,5% de inibição contra o radical hidrato de 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), enquanto o BHT inibiu apenas 75,0% (Fig. 5).



**Fig. 5** Capacidade de estabilização do radical livre DPPH com extrato da casca de *Protium tenuifolium* e hidroxitolueno butilado - BHT, utilizado como controle. Cada valor é expresso como média.

Apesar em quase todas as concentrações o extrato da casca de *Protium tenuifolium* apresenta atividade antioxidante superior ao BHT. Os valores IC<sub>50</sub> (11,00 µg extrato mL<sup>-1</sup>) de *P. tenuifolium* quando comparado com BHT (IC<sub>50</sub> = 5,69 µg extrato mL<sup>-1</sup>), como o valor de extrato, foi superior ao de BHT. Esse fato é um indicativo que era necessário uma quantidade maior de extrato da casca para inibir 50% dos radicais livres DPPH em solução. Ressaltando que nas concentrações maiores o extrato da casca foi capaz de inibir mais de 90% do radical livre DPPH, como nas concentrações 200 e 500 µg mL<sup>-1</sup> com inibição de 90,2 e 90,0% e detrimento que o BHT inibiu 88,9 e 88,9 %.

Ramos da espécie de *Protium spruceanum*, demonstraram atividade antioxidante (Amparo et al.2021). As folhas de *Protium heptaphyllum* também possuem atividade antioxidante (Patias et al. 2021). O óleo essencial de *Protium heptaphyllum* numa concentração de 1,0 mg/ml alcançou 83,2% de inibição do radical livre DPPH, sendo indicado para utilização em medicamentos tradicionais (Bandeira et al. 2005).

### Conclusão

A composição química e anatômica da casca de *Protium tenuifolium* foram descritas pela primeira vez. Esta espécie possui ritidoma, floema, floema não condutor, cristais e células secretoras.

A química mais marcante é o teor elevado de extrativos polares ricos em compostos fenólicos e o elevado teor de lignina que pode ser usado para produtos que se beneficie com

altas quantidades de lignina. A espécie também apresentou boa atividade antioxidante. Assim, a espécie possui potencial para ser utilizado para fins medicinais e para compor produtos cosméticos. Dessa maneira será feita a valorização da casca dessa espécie amazônica

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao CNPQ e o Grupo Arboris pelo fornecimento de material, equipamentos e apoio financeiro para o desenvolvimento do estudo.

### **Referências**

Abdalla S, Pizzi A, Ayed N et al (2014) MALDI-TOF analysis of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) bark tannin. *Bioresources*. 9: 3396–3406.

Amparo TR, Djeujo FM, Silva DS et al (2021) New Potential Use of *Protium spruceanum* in Hyperglycemia:  $\alpha$ -Glucosidase Inhibition and Protection against Oxidative Stress. *J. Braz. Chem. Soc.* 32 (10). <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210090>

Araújo ES, Lorenço MS, Zidanes UL et al (2021) Quantification of the bark *Myrcia eximia* DC tannins from the Amazon rainforest and its application in the formulation of natural adhesives for wood. *Journal of Cleaner Production*, 280. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124324>

Araujo ES, Mota GS, Lorenço et al (2020) Characterisation and valorisation of the bark of *Myrcia eximia* DC. trees from the Amazon rainforest as a source of phenolic compounds. *Holzforschung*. <https://doi.org/10.1515/hf-2019-0294>

Araujo FF, Farias DP, Neri-Numa IA et al (2021) Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential. *Food Chemistry* 338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127535>.

Badhani B, Sharma N, Kakka R (2015) Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *RSC Advances* (5). <https://doi.org/10.1039/c5ra01911g>

Bandeira PN, Fonseca AM, Costa SM et al (2005) Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil of Resin of *Protium heptaphyllum*. *Natural Product Communications*. 1 (2) 2006

Baptista I, Miranda I, Quilhó, T et al (2013) Characterisation and fractioning of *Tectona grandis* bark in view of its valorisation as a biorefinery raw-material. *Ind. Crop. Prod.* 50, 166-175. DOI: 10.1016/j.indcrop.2013.07.004

Bello A, Virtanen V, Salminen JP, Leiviska T (2020) Aminomethylation of spruce tannins and their application as coagulants for water clarification. *Sep Purif Technol* 242:116765. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116765>

Botterweck A, Verhagen H, Goldbohm R, et al (2000) Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food Chem. Toxicol.* 38:599–605. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00042-9](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00042-9).

Carmo JF, Miranda I, Quilhó T et al (2016b) Chemical and structural characterization of the bark of *Albizia niopoides* trees from the Amazon. *Wood Science and Technology* (50) 677–692. <https://doi.org/10.1007/s00226-016-0807-3>

Carmo JF, Miranda I, Quilhó T et al (2016c) Caracterização da casca da madeira nobre brasileira *Goupia glabra* em termos de sua valorização. *BioRes.* 11(2), 4794-4807. <https://doi.org/10.15376/biores.11.2.4794-4807>

Carmo JF, Miranda I, Quilhó T, Sousa VB et al (2016a) *Copaifera langsdorffii* Bark as a Source of Chemicals: Structural and Chemical Characterization. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1532-2319. <https://doi.org/10.1080/02773813.2016.1140208>

Carocho M, Morales P; Ferreira ICFR (2018) Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in food Science e Technology* 71:107-120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.008>

Chen X, Li J, Xi X et al (2020) Condensed tannin-glucose-based NIPU bio-foams of improved fire.

Chupin L, Motillon C, Bouhtoury F et al (2013) Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC. *Ind. Crops and Prod.* (49) 897-903. <https://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.06.045>

Daly DC (1989) Studies in Neotropical Burseraceae II. Generic limits in Neotropical Proteieae and Canarieae. *Brittonia* 41,17-27. ISSN: 0007-196X

Deguchi y, Ito (2020) Caffeic acid and rosmarinic acid contents in genus *Perilla*. *Journal of Natural Medicines* (74) 834–839. <https://doi.org/10.1007/s11418-020-01418-5>

Engin AB, Bukan N, Kurukahvecioglu O et al (2011) Effect of butylated hydroxytoluene (E321) pretreatment versus l-arginine on liver injury after sub-lethal dose of endotoxin administration. *Environ Toxicol Pharmacol* 32:457–464. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.08.014>.

Farias KS, Santos TSN, Paiva MRAB et al (2013) Antioxidant properties of species from the Brazilian cerrado by different assays. *Rev bras plantas med* 15:4. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000400008>

Ferreira JPA, Miranda I, Sousa VB, Pereira H et al (2018) Chemical composition of barks from *Quercus faginea* trees and characterization of their lipophilic and polar extracts. PLoS One 13:1–18. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.1371/journal.pone.0197135>

Ferreira RGS, Guilhon-Simplici F, Yamaguchi KKL et al (2020) The selective obtaining of amyrins from Amazonian *Protium* oleoresins. Rev Colomb Cienc Quím Farm, 49:482-497.

Flora do Brasil (2022) *Protium tenuifolium*. Available at <http://servicos.jbrj.gov.br>. Accessed March 21, 2022.

Franklin GL (1945) Reparation of thin sections of synthetic resins and wood-resins composites, and a new macerating method for wood. Nature 155:51

Gominho J, Costa R, Lourenço A et al (2020) Eucalyptus globulus Stumps Bark: Chemical and Anatomical Characterization Under a Valorisation Perspective. Waste and Biomass Valorization 12: 1253–1265. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01098-y>

Guangcheng Z, Yunlu L, Yazaki, Y et (1991) Extractive yields, Stiasny values and polyflavonoid contents in barks form six acacia species in Australia. Australian Forestry, 55(2) 154-156. <https://dx.doi.org/10.1080/00049158.1991.10674572>

HIJMANS, J.R., Cameron, S.E. Parra, J.L., Jones, P.G. Jarvis, A. (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. International journal of climatology. (25), 1965–1978.

Hoong YB, Paridaha, MT, Luqman CA et al (2009) Fortification of sulfited tannin from the bark of *Acacia mangium* with phenoleformaldehyde for use as plywood adhesive. Ind. Crop. Prod. (30). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.07.012>.

IAWA committee (2016) List of microscopic bark features. IAWA Journal 37 (4): 517– 615. <https://doi.org/10.1163/22941932-20160151>

Jansone Z, Muizniece I, Blumberga D (2017) Analysis of wood bark use opportunities. Energy Proc 128:268–274. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.09.070>.

Kornienko JS, Smirnova IS, Pugovkina NA, et al (2019) High doses of synthetic antioxidants induce premature senescence in cultivated mesenchymal stem cells. Sci Rep 9:1296. <https://doi:10.1038/s41598-018-37972-y>.

Kraus JE, Arduin M (1997) Basic manual of methods in plant morphology. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropedica.

Leite C, Pereira H (2017) Cork-containing barks—a review. Front Mater 3:1–19. <https://doi-org.ez26.periodicos.capes.gov.br/10.3389/fmats.2016.00063>

Lins TRS, Braz RL, Silva TC et al (2019) Tannin Content of the Bark and Branch of Caatinga Species. *Journal of Experimental Agriculture International* 31(1) 1-8 2019. <https://dx.doi.org/10.9734/jeai/2019/v31i130061>

Lourenço SC, Moldão-Martins M, Alves V (2019) Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. *Molecules* 22:4132. <https://doi.org/10.3390/molecules24224132>

Mathur M, Kamal R (2012) Studies on trigonelline from *Moringa oleifera* and its in vitro regulation by feeding precursor in cell cultures. *Rev. bras. farmacogn.* 22 (5). <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000041>

Medeiros JX, Calegari L, SILVA GH et al (2018) Measurement of tannic substances in forest species. *Floresta e Ambiente* 25(3)1-8. <http://dx.doi.org/10.1590/2179-8087.058916>

Mendonza F, Pina N, Brasília M (2018) Extending the stability of red and blue colors of malvidin-3-glucoside-lipophilic derivatives in the presence of SDS micelles. *Dyes and Pigments*, 151:321-326. <https://doi:10.1016/J.DYEPIG.2018.01.007>

Metcalf CR, Chalk L (1950) *Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economy uses*. Clarendon press, Oxford

Moniz P, Lino J, Duarte LC et al (2015) Fractionation of hemicelluloses and lignin from rice straw by combining autohydrolysis and optimised mild organosolv delignification.

Mota GS, Araujo ES, Lorenço M et (2021a) Bark of *Astronium lecointei* Ducke trees from the Amazon: chemical and structural characterization. *European Journal of Wood and Wood Products*. <https://doi.org/10.1007/s00107-021-01670-w>

Mota GS, Araujo ES, Lorenço M et al (2021) Bark of *Astronium lecointei* Ducke trees from the Amazon: chemical and structural characterization. *European Journal of Wood and Wood Products*. <https://doi.org/10.1007/s00107-021-01670-w>

Mota GS, Sartori CJ, Miranda I et al (2017) Bark anatomy, chemical composition and ethanol–waterextract composition of *Anadenanthera peregrina* and *Anadenanthera colubrina*. *PLoS ONE* 12:1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189263>

Mota GS, Sartori CJ, Ribeiro A et al (2021b) Bark characterization of *Tachigali guianensis* e *Tachigali glauca* from the Amazon under a valorization perspective. *BioResources* 16(2), 2953-2970 <https://doi.org/10.15376/biores.16.2.2953-2970>

of *Myrcia eximia* DC. trees from the Amazon rainforest as a source of phenolic compounds. *Holzforschung*. <https://doi.org/10.1515/hf-2019-0294>.

- Palermo FH, Rodrigues MIA, Nicolau J, et al (2018) Resin secretory canals in *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand. (Burseraceae): a tridimensional branched and anastomosed system. *Protoplasma* (255)899–910.
- Patias NS, Sinhorin VDG, Moura FR et al (2021) Identification of Flavonoids by LC-MS/MS in Leaves Extract From *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March and Antioxidant Activity in Mice. *The Natural Products Journal* (11)715-727. <https://doi.org/10.2174/2210315510999200817165311>
- Pereira H (1988) Chemical composition and variability of cork form *Quercus suber* L”. *Wood Sci. Technol.* 22: 211–218. <https://doi.org/10.1007/BF00386015>
- Polym Degrad Stab* 175:109121. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109121>
- Quilho T, Pereira H, Richter HG (1999) Variability of bark structure in plantation-grown *Eucalyptus globulus*. *IAWA J* 20:171–180. <https://doi.org/10.1163/22941932-90000677>
- Quilho T, Pereira H, Richter HG (2000) Within-tree variation in phloem cell dimensions and proportions in *Eucalyptus globulus*. *IAWA J* 21:31–40. <https://doi.org/10.1163/22941932-90000234>
- Saad B, Sing YY, Nawi MA, et al (2007) Determination of synthetic phenolic antioxidants in food items using reversed-phase HPLC. *Food Chem* 105:389–394. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.12.025>
- Sanchez-Martin J, Beltran-Heredia J, Solera-Hernandez C (2010) Surface water and wastewater treatment using a new tannin-based coagulant. *Pilot Plant Trials J Environ Manag* 91:2051–2058. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.05.013>.
- Santana RC, Rosa AS, Mateus MHS et al (2020) In vitro leishmanicidal activity of monoterpenes present in two species of *Protium* (Burseraceae) on *Leishmania amazonensis*. *Journal of Ethnopharmacology* 259. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112981>.
- Santos HC, Silva SJ, Nascimento CC (2021) Chemical investigation, antifungal activity and anatomical aspects of *Protium puncticulatum* J.F Macbr. and *Protium tenuifolium* (Engl.) Engl. *International Journal for Innovation Education and Research* 9.
- Sartori CJ, Mota GS, Ferreira J et al (2016) Chemical characterization of the bark of *Eucalyptus urophylla* hybrids in view of their valorization in biorefineries. *Holzforschung* 70:819–828. <https://doi.org/10.1515/hf-2015-0258>
- Sillero L, Prado R, Andrés MA, Labidi J et al (2019) Characterisation of bark of six species from mixed Atlantic forest. *Ind Crop Prod* 137:276–284. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.033>

Silva ER, Oliveira DR, Fernandes PD et al (2017) Ethnopharmacological Evaluation of Breu Essential Oils from Protium Species Administered by Inhalation. Hindawi. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/2924171>.

Silva BCE, Arruda LCP, Vieira JIT et (2019) (+)-Catechin and (-)-epigallocatechin gallate: are these promising antioxidant therapies for frozen goat semen?. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 71 (02). <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10539>

Singleton, VL, Rossi Junior JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagentes. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144–158.

Sousa TB, Mota GS, Araujo et al (2020) Chemical and structural characterization of Myracrodruon urundeuva barks aiming at their potential use and elaboration of a sustainable management plan. Biomass Conversion and Biorefinery (12) 1583–1593. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01093-2>

Souza DG, Campos DBP, Ucella Filho JGM et al (2019) Quantificação de taninos presentes na casca da Mimosa caelapiniifolia Benth. e sua utilização no tratamento de efluentes. Pesquisas Agrárias e Ambientais 7(6)789-793. <http://dx.doi.org/10.31413/nativa.v7i6.8631>

Souza TB, Mota GS, ARAUJO ES et al (2021) The bark of *Stryphnodendron rotundifolium* as a source of phenolic extracts with antioxidant properties. Wood Science and Technology 55:1057–1074. <https://doi.org/10.1007/s00226-021-01293-7>

Teixeira ML (2012) *Citrumelo Swingle*: Caracterização Química, Atividade antioxidante e antifúngica dos óleos essenciais das cascas frescas e secas. Magistra. 24: 194–203.

Trockenbrodt M (1995) Die Wurzelrinde von *Betula pendula* Roth — Anatomie, Entwicklung, Identifizierung A casca da raiz de bétula (*Betula pendula* Roth) – anatomia, desenvolvimento, identificação. Flora 190: 315-321. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30671-0](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30671-0)

Yousof F, Ide W, Montero B et al (2018) Starch films loaded with donut-shaped starch-quercetin microparticles: Characterization and release kinetics. International Journal of Biological Macromolecules 118:2201-2207. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2018.07.087>.

Zhishen J, Mengcheng, T, Jinming, W (1999) The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food Chem. 64: 555–559. Doi.10.1016/S0308-8146(98)00102-2