



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

NILCIVANE SANTOS E SILVA

**BUSCA DE FRAÇÃO RICA EM CORANTE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANTIBACTERIANA E ANTIOXIDANTE DE *RENEALMIA* sp.**

MANAUS

2025

NILCIVANE SANTOS E SILVA

**BUSCA DE FRAÇÃO RICA EM CORANTE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANTIBACTERIANA E ANTIOXIDANTE DE *RENEALMIA* sp.**

Dissertação apresentada à UFAM
como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do título
de mestre em Biotecnologia do
Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia da Universidade
Federal do Amazonas.

ORIENTADORA: DRA. CECILIA VERONICA NUNEZ

MANAUS

2025

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586b Silva, Nilcivane Santos e
 Busca de fração rica em corante e avaliação das atividades
 antibacteriana e antioxidante de *Renealmia* sp. / Nilcivane Santos e
 Silva. - 2025.
 95 f. : il., p&b. ; 31 cm.

 Orientador(a): Cecilia Veronica Nunez.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas,
 Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Manaus, 2025.

 1. Corantes naturais. 2. Antimicrobiano. 3. Antioxidantes. 4.
 Antocianinas. 5. Carotenoides. I. Nunez, Cecilia Veronica. II.
 Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação
 em Biotecnologia. III. Título

NILCIVANE SANTOS E SILVA

**BUSCA DE FRAÇÃO RICA EM CORANTE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES
ANTIBACTERIANA E ANTIOXIDANTE DE *RENEALMIA* sp.**

Dissertação apresentada à UFAM como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Biotecnologia do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas.

Aprovada em vinte e um de março de dois mil e vinte e cinco.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Cecilia Veronica Nunez, Presidente
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Prof^a Dr^a. Patrícia Melchionna Albuquerque, Membro
Universidade do Estado do Amazonas

Dr^a. Nádia Cristina Falcão Bucker, Membro
Coordenadora de P&D da empresa DNS Elementos Ativos

Aos meus amados Pais,

"À Elson Hélio Silva e Jaziva Silva (*in memoriam*), pelos ensinamentos e por todo o amor que, em vida, me deram. Vivem dentro do meu coração e contribuíram para que eu me tornasse a pessoa que sou hoje."

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado força para enfrentar os desafios diários, por ter me ajudado a superar todas as dificuldades e por não ter permitido que eu desistisse do meu objetivo.

À minha família, principalmente à minha filha Jéssica, que é o meu oxigênio diário. Apesar de ser criança, sempre fortaleceu o meu emocional e compreendeu que eu precisava renunciar a alguns momentos de atenção para conquistar o meu objetivo. Te amo, filha.

Às minhas queridas irmãs, Jane, Ray, Nilciane e Andreia, que sempre me apoiaram com orações, boas vibrações, palavras de motivação e também pelos momentos de descontração. Aos meus irmãos Olcione, Nildeson e Hélio, pela torcida e pelas energias positivas.

Ao meu marido, Edson, pelo carinho, amor, boas vibrações e por todo o suporte na educação da nossa filha durante a minha ausência.

À minha querida orientadora, Dra. Cecília Veronica Nunez, pelos ensinamentos e por ter aceitado o desafio de orientar um projeto de pesquisa em andamento. Serei sempre grata por tudo o que fizeste por mim.

À minha querida amiga Ester, que sempre foi parceira em todos os momentos, apoiando-me, solícita e disposta a ajudar. Esteve comigo na primeira coleta do material vegetal e, quando eu pensava em desistir, fortalecia-me com palavras de incentivo.

Ao professor Dr. Kinupp, que me recebeu de forma acolhedora em sua propriedade, o Sítio PANC — local da coleta do material vegetal —, e que também contribuiu com orientações sobre a espécie. Sua colaboração foi essencial para o desenvolvimento do projeto.

À minha amiga Suiane, que tive a sorte de conhecer no mestrado. Uma amizade que quero levar para a vida inteira. Fomos muito guerreiras! Suas palavras me ajudaram na caminhada. Não é fácil ser mãe e cursar mestrado ao mesmo tempo. Nós vencemos, minha amiga!

Ao meu cunhado Nelson, que se disponibilizou a me ajudar na realização da primeira coleta do material vegetal.

Ao Vanderlei, pelo suporte na realização do fracionamento do extrato no cromatógrafo Isolera, no Laboratório Núcleo Central Analítica – CBA.

Ao Laboratório de Bioinsumos – CBA, que realizou os ensaios microbiológicos dos extratos vegetais: Dra. Ingrid Reis, Ivanete, Rosa e Isaque.

Aos meus amigos do Laboratório Núcleo Central Analítica – CBA, pelo incentivo e apoio na realização dos ensaios cromatográficos: Celma, Erick e Vanderlei.

À Olinda Canhoto, pelo suporte na correção da escrita para a submissão do projeto de mestrado.

Ao Gabriel, que considero um amigo e um ser humano incrível — meu coorientador, psicólogo e terapeuta — sempre com palavras de incentivo que acalmavam o meu coração nos momentos de desespero.

Ao Weison, que realizou com maestria o ensaio de UV/Vis nos extratos selecionados.

A todos os meus colegas que conheci no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia – LABB/INPA, em especial Izabel, Fábio, Luana e Luciano.

Ao Centro de Bionegócios da Amazônia (CBA) e à Fundação Universitas de Estudos Amazônicos (FUEA), por permitirem que o projeto fosse desenvolvido no Laboratório Núcleo Central Analítica.

Aos técnicos da Central Analítica do INPA, pela aquisição dos espectros de RMN.

Ao CNPq, à CAPES e à FAPEAM, pelo apoio financeiro para a realização deste projeto.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho e para a minha formação.

RESUMO

No Brasil, a demanda por alimentos naturais vem crescendo e com isso a busca por corantes naturais oriundos de vegetais. Entre os principais corantes vegetais estão: antocianinas, carotenoides, betalaínas, clorofilas, entre outros. Essas substâncias têm chamado a atenção, não apenas devido às suas propriedades como corantes, mas aos seus potenciais efeitos e benefícios à saúde. Por outro lado, o uso de corantes sintéticos em alimentos pode comprometer a saúde, como em crianças que podem desenvolver diversos tipos de alergias ou ficar vulneráveis a outras doenças. Como alternativa, algumas plantas podem ser utilizadas para a extração de substâncias para aplicação como corantes naturais, como os frutos de *Renealmia* sp. que produzem pigmentos na cor roxa característica de antocianinas (flavonoides), assim com a casca e a polpa que também apresentam cor amarela indicando a presença de carotenoides. Diante da problemática apresentada e a necessidade de novos corantes, este projeto teve como objetivo extrair os frutos de *Renealmia* sp. visando obter uma fração enriquecida com corante natural. Para ampliar as potencialidades de uso, os extratos obtidos foram avaliados quanto à atividade antioxidante (DPPH e Fe^{3+} /fenantrolina) e antibacteriana (frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Burkholderia cepacia* ATCC 17759, *Serratia marcescens* ATCC 14756 e *Mycobacterium smegmatis*). Os extratos foram fracionados por meio de técnicas cromatográficas como cromatografia *flash* para o fracionamento do extrato etanólico das cascas dos frutos. Os extratos: hidroetanólico das polpas com sementes, metanólico das cascas dos frutos, e hidroetanólico das folhas secas da *Renealmia* sp. foram analisados por técnicas espectroscópicas como UV-Vis e RMN de ^1H (300 MHz para núcleos de ^1H) para caracterização química. O resultado do fracionamento por cromatografia *Flash* do extrato etanólico das cascas dos frutos, resultou em frações que apresentaram indícios de substâncias com atividade antioxidantes. O extrato hidroetanólico das cascas dos frutos apresentou atividade moderada frente ao ensaio de Fe^{3+} /fenantrolina. No ensaio antimicrobiano, o extrato hidroetanólico das polpas com sementes apresentou atividade frente a *Staphylococcus aureus* e o extrato hidroetanólico das folhas secas também foi ativo frente a *Enterococcus faecalis* e *Mycobacterium smegmatis*. Os resultados obtidos indicam que o extrato metanólico das cascas dos frutos de *Renealmia* sp. é promissor para a extração de corantes, as suas frações apresentaram cores roxas e alaranjadas. Também apresentaram atividades antioxidantes e antibacterianas. As análises em CCDC dos extratos metanólicos e hidroetanólico apresentaram indícios de conter substâncias que possuem cromóforos. As análises de RMN de ^1H indicam que o extrato metanólico das cascas dos frutos, hidroetanólico das polpas com sementes e hidroetanólico das folhas da *Renealmia* sp. possuem sinais de açúcares e de metoxilas, com sinais entre 3 e 4,5 ppm, mas destacando que os extratos hidroetanólico das folhas e metanólico das cascas dos frutos tem indicativo de metilas e o extrato hidroetanólico das polpas com sementes apresenta sinais de possível flavonoide, com sinais entre 6,6 e 7,4 ppm. Estes resultados estimulam a continuação do trabalho a fim de isolar as substâncias presentes e que possam ser corantes com atividade antibacteriana ou antioxidante.

Palavras-chave: Corantes naturais. Antimicrobiano. Antioxidantes. Antocianinas. Carotenoides.

ABSTRACT

In Brazil, the demand for natural foods is growing, and with it, the search for natural dyes derived from plants. Among the main plant-based dyes are anthocyanins, carotenoids, betalains, chlorophylls, and others. These substances attract attention not only because of their properties as dyes but also because of their potential health effects and benefits. On the other hand, the use of synthetic dyes in food can compromise health, as children may develop various types of allergies or become vulnerable to other diseases. As an alternative, some plants can be used to extract substances for application as natural dyes, such as the fruits of *Renealmia* sp., which produce purple pigments characteristic of anthocyanins (flavonoids), as well as the peel and pulp, which also have a yellow color with a low presence of carotenoids. Given this problem and the need for new dyes, this project aimed to extract a fraction enriched with natural dye from the fruits of *Renealmia* sp.. To expand the potential uses, the obtained extracts were evaluated for antioxidant activity (DPPH and Fe^{3+} /phenanthroline) and antibacterial activity (against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Burkholderia cepacia* ATCC 17759, *Serratia marcescens* ATCC 14756, and *Mycobacterium smegmatis*). The extracts were fractionated using chromatographic techniques such as flash chromatography for the fractionation of the ethanolic extract of the fruit peels. The extracts were: hydroethanolic extract of the pulp with seeds, methanolic extract of the fruit peels, and hydroethanolic extract of the dried leaves of *Renealmia* sp. The samples were analyzed using spectroscopic techniques such as UV-Vis and ^1H NMR (300 MHz for ^1H nuclei) for chemical characterization. The result of the Flash chromatography fractionation of the ethanolic extract of the fruit peels showed fractions affected by substances with antioxidant activity. The hydroethanolic extract of the fruit peels showed moderate activity against the Fe^{3+} /phenanthroline assay. In the antimicrobial assay, the hydroethanolic extract of the pulp with seeds showed activity against *Staphylococcus aureus*, and the hydroethanolic extract of the dried leaves was also active against *Enterococcus faecalis* and *Mycobacterium smegmatis*. The results obtained indicate that the methanolic extract of *Renealmia* sp. fruit peels shows promise for the removal of dyes, as its fractions contain purple and orange colors. It also exhibits antioxidant and antibacterial activities. The TLC analyses of the methanolic and hydroethanolic extracts were subjected to accusations of containing substances with chromophores. ^1H NMR analyses indicate that the methanolic extract of the fruit peels, the hydroethanolic extract of the pulp with seeds, and the hydroethanolic extract of the leaves of *Renealmia* sp. show signals of sugars and methoxyls, with signals between 3 and 4.5 ppm. However, the hydroethanolic extracts of the leaves and the methanolic extract of the fruit peels show indications of methyl groups, and the hydroethanolic extract of the pulp shows signals of possible flavonoids, with signals between 6.6 and 7.4 ppm. These results encourage further work to isolate the substances present, which may be dyes with antibacterial or antioxidant activity.

Keywords: Natural dyes. Antimicrobial. Antioxidants. Anthocyanins. Carotenoids.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AChE	Enzima acetilcolinesterase
PANC	Planta Alimentícia Não-Convencional
INPA	Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia
LABB	Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia Amazonas (INPA)
CBA	Centro de Bionegócio da Amazônia
LNCA	Laboratório Núcleo Central Analítica e Cromatografia (CBA)
CCDC	Cromatografia em Camada Delgada Comparativa
SFE	Extração com fluido supercrítico
DPPH	1,1–difetil–2–picril-hidrazila
HPTLC	Cromatografia em camada delgada de alta performance
MPLC	Cromatografia Líquida de Média Pressão (<i>Flash</i>)
LM	Laboratório de Microbiologia (CBA)
mL	Mililitro
mg	Miligrama
Kg	Kilograma
µg	Micrograma
µL	Microlitro
R _f	Fator de retenção
NP	Difenilboriloxietilamina
PEG	Polietilenoglicol
A:A:A:A	Acetato de etila, ácido acético, ácido fórmico e água
BAW	n-Butanol, ácido acético e água
CV	Volume do cartucho
UV-Vis	Ultravioleta visível
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
D ₂ O	Água deuterada
¹ H	Hidrogênio
ppm	Parte por milhão

MeOH	Metanol
Hex	Hexano
AcOEt	Acetato de etila
CAN	Acetonitrila
ATCC	American Type Culture Collection

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	XV
LISTA DE TABELAS	XVII
1 INTRODUÇÃO	18
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Família Zingiberaceae	20
2.2 Gênero <i>Renealmia</i>	20
2.3 Usos Etnobotânicos	22
2.4 Caracterização química e potencial farmacológico	23
2.5 Corantes naturais extraído de vegetais endêmicos da Amazônia	28
2.5.1 Betalaínas	31
2.5.2 Flavonoides	32
2.5.3 Antocianinas (azul e vermelho)	33
2.5.4 Carotenoides	34
2.6 Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANC).....	37
3 OBJETIVOS	39
3.1 Objetivo Geral	39
3.2 Objetivos Específicos	39
4 MATERIAL E MÉTODO	40
4.1 Descrição de equipamento e materiais	40
As etapas do presente estudo estão representadas no fluxograma.....	41
4.2 Coleta do material vegetal.....	42
4.2.1 Triagem, higienização do material coletado e preparação da exsicata	42
4.3 Preparo dos extratos da <i>Renealmia</i> sp	45
4.3.1 Extração 1 por maceração.	45
4.3.2 Extração 2 por método de maceração	47
4.4 Análise de antioxidantes dos extratos obtidos.....	48
4.5 Fracionamento por cromatografia líquida de média pressão (MPLC-FLASH)....	50
4.6 Ensaios antimicrobiano (Método: Difusão em disco).....	53
4.7 Análise espectroscopia UV-Vis dos extratos e frações.	54
4.8 Extrato da polpa com as sementes por técnica de maceração.	55

4.9 Análise por Ressonância Magnética Nuclear ^1H (RMN).....	55
4.9.1 Perfil cromatográfico dos extratos submetidos a análises por RMN.	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 Cálculo do rendimento dos extratos de <i>Renealmia</i> sp.	57
5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos por difusão em disco.	60
5.3 Perfil cromatográfico CCDC preliminar dos extratos brutos	62
5.4 Resultado do fracionamento do extrato EtOH 100 %	64
5.5 Ensaio de atividade antioxidante nos extratos de <i>Renealmia</i> sp.....	65
5.6 Análise por espectrofotômetro UV-Vis leitura de (λ : 200 a 800 nm).....	67
5.7 Resultado do RMN ^1H dos três extratos brutos de <i>Renealmia</i> sp.	72
5.7.1 Perfil cromatográfico dos extratos submetidos análises de RMN ^1H	73
5.7.2 Avaliação da atividade microbiana dos extratos por difusão em disco.....	74
6 CONCLUSÕES	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Corantes e partes de plantas amazônicas utilizadas no estudo.	30
Figura 2. Estrutura das betalaínas.....	31
Figura 3. Estrutura das betalaínas.....	33
Figura 4. Estrutura do β -caroteno.....	35
Figura 5. Parâmetros para obtenção dos extratos orgânicos de <i>Renealmia</i> sp.	41
Figura 6. Frutos da <i>Renealmia</i> sp.	42
Figura 7. Sítio PANC.	42
Figura 8. <i>Renealmia</i> sp.....	42
Figura 9. Material vegetal da primeira coleta.....	43
Figura 10. Assepsia do material vegetal folhas	43
Figura 11. Pedúnculo com os frutos maduros e verdes.	44
Figura 12. Casca do fruto separado da polpa com as sementes.....	44
Figura 13. Secagem do material vegetal.	44
Figura 14. Procedimento das etapas para confecção da exsicata.	44
Figura 15. Fluxograma do preparo dos extratos da primeira coleta	46
Figura 16. Obtenção dos extratos dos frutos e folhas de <i>Renealmia</i> sp.	46
Figura 17. Procedimentos de extração com dois solventes.	47
Figura 18. Fluxograma para obtenção dos extratos segunda coleta.	48
Figura 19. Reação antioxidante com o radical de DPPH.....	49
Figura 20. Representação do complexo de Ferro ³⁺ e fenantrolina.	50
Figura 21. Extratos para a realização do ensaio de antioxidantes no LABB.	50
Figura 22. Parâmetros para fracionamento do extrato etanólico.	52
Figura 23. Sequência de procedimento para concentração das frações.	52
Figura 24. Método de antibiose por difusão em ágar.	54
Figura 25. Extratos da polpa com as sementes da <i>Renealmia</i> sp.....	55
Figura 26. Placa dos extratos (A) hidroetanólico e (B) hidroetanólico	60
Figura 27. Perfil cromatográfico CCDC dos extratos.....	62
Figura 28. Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC)	63
Figura 29. Parâmetros para o fracionamento por cromatografia	65
Figura 30. Curva de calibração com ácido ascórbico com DPPH.	66
Figura 31. Curva de calibração com ácido ascórbico com Fe ³⁺	67
Figura 32. Espectros dos extratos (tabela 1 e 2).....	69

Figura 33. Perfil CCDC dos extratos brutos	74
Figura 34. Placa de teste de antibiose dos extratos	75
Figura 35. Espectros de RMN de ^1H	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Extratos obtidos da primeira coleta de <i>Renealmia</i> sp.	57
Tabela 2. Extratos obtidos da segunda coleta de <i>Renealmia</i> sp.	59
Tabela 3. Halos de inibição (cm) para as amostras testadas da primeira coleta	61
Tabela 4. Análise da atividade antioxidante dos extratos brutos.	66
Tabela 5. Escala para interpretação dos resultados da atividade antioxidante	66
Tabela 6. Halos de inibição (cm) para as amostras testadas da segunda coleta	75

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, muito se discute sobre o consumo de corantes, especialmente os sintéticos, devido ao seu potencial carcinogênico e à capacidade de causar diversas reações alérgicas, especialmente em crianças. Outra preocupação associada ao uso desses compostos é a poluição ambiental, uma vez que se tratam de substâncias de difícil degradação. Nesse contexto, observa-se uma crescente demanda pela substituição dos corantes sintéticos por alternativas obtidas de fontes naturais, impulsionada principalmente pela conscientização dos consumidores de que os corantes naturais são mais saudáveis e seguros (Rodriguez-Amaya, 2016).

A busca por alimentos de qualidade e com coloração natural tem aumentado significativamente. Nesse cenário, os corantes naturais extraídos de vegetais despontam como uma alternativa promissora, destacando-se compostos como antocianinas, carotenoides, betalaínas e clorofilas entre outros. Essas moléculas têm despertado grande interesse nos últimos anos não apenas por suas propriedades corantes, mas também em virtude de seus potenciais efeitos benéficos à saúde. Obtidas a partir de fontes naturais, apresentam atividade biológica relevante, o que pode viabilizar a produção de insumos com maior valor agregado (Rodriguez-Amaya, 2016; Melo et al., 2021; Kinupp, 2014).

Diante da ampla diversidade de espécies vegetais nativas e endêmicas da região Amazônica, destacam-se aquelas das quais podem ser extraídos corantes, como o urucum (*Bixa orellana* L.), a cúrcuma (*Curcuma longa* L.), o dendê (*Elaeis guineensis*), o açaí (*Euterpe oleracea* L.), o cará-roxo (*Dioscorea alata*) e o jenipapo (*Genipa americana*) (Amâncio et al, 2021). Essas matérias-primas vegetais apresentam-se como alternativas promissoras para a obtenção de novas fontes de corantes naturais.

Outras plantas nativas da floresta Amazônica também apresentam potencial para a produção de corantes naturais, como é o caso da espécie *Renealmia* sp. Segundo Kinupp (2014), classificada como uma PANC (Planta Alimentícia não Convencional).

Renealmia sp. foi selecionada para o presente estudo por produzir frutos de coloração roxa, semelhante à do açaí, o que indica a possível presença de moléculas fenólicas capazes de atuar como fontes de corantes naturais. Além disso, este estudo ajudará a ampliar o conhecimento sobre a espécie *Renealmia* sp., que é nativa da região Amazônica.

Diante disso, o trabalho proposto tem como objetivo obter extratos de *Renealmia* sp. e realizar o fracionamento cromatográfico, visando à obtenção de uma fração enriquecida com corantes naturais, com potencial aplicação biotecnológica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Família Zingiberaceae

Zingiberaceae é a maior família da ordem Zingiberales com 53 gêneros e mais de 1.200 espécies, sendo uma das principais famílias de plantas tropicais. A primeira classificação botânica foi proposta em 1889 e, desde então, passou por diversas revisões. Atualmente, existem quatro tribos reconhecidas (Globbeae, Hedychieae, Alpinieae e Zingibereae) com base em características morfológicas, como o mesmo número de núcleos placentários no ovário, desenvolvimento de estaminódios, mudanças nas anteras férteis e a orientação de rizoma (Gómez-Betancur et al, 2014; Gómez; Benjumea, 2014).

A família Zingiberaceae está distribuída na região Neotropical, com ocorrência do gênero *Renealmia*. Quatro outros gêneros (*Afromomum*, *Aulotandra*, *Siphonochilus* e *Renealmia*) foram identificados na África e o restante dos gêneros estão distribuídos no Leste Asiático e nas ilhas do Pacífico (Kress; Prince; Williams, 2002).

2.2 Gênero *Renealmia*

O gênero *Renealmia* L.f. compreende 93 espécies nativas, distribuídas desde o México até as regiões tropicais da América e da África (POWO, 2025).

As espécies de *Renealmia* como: *R. alpinia*, *R. asplundii*, *R. cernua*, *R. exaltata*, *R.cf. floribunda*, *R. guianensis*, *R. krukovii*, *R. occidentalis*, *R. petasites*, *R. pyramidale*, *R. thyrsoides*, *R. reticulata* Gagnep* *R. urbaniana* Loes, *R. aromática* (Aubl.) Griseb, *R. breviscapa* Poepp. & Endl são comuns em florestas tropicais que apresentam alta umidade como por exemplo, nos países como Brasil, Colômbia, México entre outros Negrelle (2015).

As espécies de *Renealmia* são plantas terrestres (1-3 m de altura, podendo chegar a 6 m), herbáceas com rizomas espesso e de textura quase lenhosa, com raízes carnosas muito finas. A grande maioria das espécies de *Renealmia* encontra-se em regiões de floresta tropical úmida desde o nível do mar até cerca de 2.500 metros e ocupam áreas abertas ou margem de rios (Maas, 1977).

No Brasil, há registro de 20 espécies de *Renealmia* nativas (6 endêmicas) abrangendo os biomas Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Essas espécies são encontradas em diferentes tipos de vegetação brasileira: Campinarana, Campo de Várzea, Campo Rupestre, Floresta Ciliar ou Galeria, Floresta de Terra Firme, Floresta de Várzea, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila e Palmeiral (André, 2023). No Quadro 1, estão descritas as espécies e suas áreas de ocorrência confirmadas na distribuição geográfica.

Quadro 1. Espécies de *Renealmia* L.f nativas do Brasil.

Espécies	Domínio Fitogeográfico	Distribuição geográfica
<i>R. acreana</i> Maas	Amazônia	Norte (Pará, Amazonas, Acre)
<i>R. alpinia</i> (Rottb.) Maas	Amazônia e Mata Atlântica	Norte (Roraima, Pará, Amazonas, Rondônia), Nordeste (Ceará, Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal), Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo)
<i>R. angustifolia</i> K. Schum.*	Mata Atlântica	Sudeste (Espírito Santo)
<i>R. aromatica</i> (Aubl.) Griseb.	Amazônia	Norte (Roraima), Centro-Oeste (Mato Grosso)
<i>R. brasiliensis</i> K. Schum.*	Mata Atlântica	Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo)
<i>R. breviscapa</i> Poepp. & Endl.	Amazônia	Norte (Pará, Amazonas, Acre, Rondônia), Centro-Oeste (Mato Grosso)
<i>R. cernua</i> (Sw. Ex Roem. & Schult.) JF Macbr.	Amazônia	Norte (Amazonas, Acre, Rondônia)
<i>R. chrysotricha</i> Petersen*	Mata Atlântica	Sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro)
<i>R. dermatopetala</i> K. Schum.	Cerrado	Centro-Oeste (Mato Grosso, Goiás)
<i>R. floribunda</i> K. Schum.	Amazônia	Norte (Roraima, Pará, Amazonas, Acre, Rondônia)
<i>R. guianensis</i> Maas	Amazônia	Norte (Amapá, Pará, Amazonas), Nordeste (Pernambuco, Bahia)
<i>R. krukovi</i> Maas	Amazônia	Norte (Amazonas, Acre)
<i>R. matogrossensis</i> Maas*	Amazônia	Norte (Pará), Centro Oeste (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul)
<i>R. microcalyx</i> Maas & H.Maas	Amazônia	Norte (Amazonas)
<i>R. monosperma</i> Miq.	Amazônia	Norte (Roraima, Pará, Amazonas, Acre)
<i>R. nicolaoides</i> Loes.	Amazônia	Norte (Acre)
<i>R. petasites</i> Gagnep*	Mata Atlântica	Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro), Sul (Paraná, Santa Catarina)

<i>R. pycnostachys</i> K. Schum*	Mata Atlântica	Sudeste (Minas Gerais)
<i>R. reticulata</i> Gagnep*	Mata Atlântica	Sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro)
<i>R. thyrsoidea</i> (Ruiz & Pav.)	Amazônia	Norte (Amazonas, Acre)
<i>R. urbaniana</i> Loes	Amazônia	Norte (Amazonas, Acre)

Legenda: *= espécie endêmica do Brasil. Tabela organizada a partir de Maas & Maas 2013.

2.3 Usos Etnobotânicos

Renealmia sp. é um gênero de Zingiberaceae com inúmeros usos, entre eles: ornamental, medicinal e alimentício. O que demonstra o potencial desse gênero, como fonte de recursos para a agroeconomia (Guarnieri et al, 2023).

Negrelle (2015) realizou uma revisão bibliográfica acerca dos aspectos etnobotânicos, agronômicos e farmacológicos do gênero *Renealmia*, demonstrando o potencial para obtenção de substâncias bioativas, com aplicabilidade na bioindústria. Nesse estudo de revisão, verificou-se o uso popular de 18 espécies do gênero, principalmente como plantas ornamentais, alimentícias e medicinais. A maioria dos usos estão associadas às espécies *R. alpinia*, *R. exaltata* e *R. guianensis*, cujas indicações de uso abrangem todas as partes do organismo vegetal, ou seja, incluindo toda planta.

Os frutos frescos de *R. petasites* e *R. alpinia* são considerados comestíveis, e as sementes de *R. exaltata* e *R. petasites* são utilizadas como condimento e corante alimentício. O óleo obtido das sementes de *R. alpinia* é utilizado na culinária (Negrelle, 2015; Macía, 2003).

No Peru, as folhas verdes de algumas espécies de *Renealmia* são usadas na culinária, por exemplo, para envolver o peixe ao cozinhar em um prato típico chamado “patarashca”. Além disso, as folhas secas e moídas servem como condimentos (Negrelle, 2015).

No Brasil, a espécie nativa *R. petasites* é cultivada na região Sul do país e conhecida popularmente como “pacová” ou “pacová-de-macaco”. Esta espécie é tradicionalmente utilizada popularmente para diversos fins medicinais (Santos et al, 2021). Porém, poucos estudos relacionam os benefícios à saúde com a composição das partes da fruta.

Atualmente, registra-se para *Renealmia* sp., o emprego das folhas frescas como envoltório de “tamales” (prato usado na culinária do Peru) e empanadas, lhes conferindo um sabor peculiar e picante (Macía, 2003). As folhas aromáticas de *R. battenbergiana*, são utilizadas como condimento na preparação de vários pratos como sopas e molhos, enriquecendo o seu sabor. Também são utilizados industrialmente para aromatizar óleos vegetais (Ofosu; Oppong; Oduro, 2012).

Pela abordagem de Negrelle (2015) várias espécies de *Renealmia* são comercializadas como plantas ornamentais, sendo *R. cernua*, *R. exaltata*, *R. jamaicensis*, *R. mexicana* e *R. occidentalis*, reconhecidas comercialmente tanto como flores de corte, plantas envasadas, rizomas e as sementes.

Renealmia alpinia (Rottb.) é utilizada tradicionalmente pelos indígenas das tribos de Embera-Katíos de Antioquia e Chocó na Colômbia, para tratar os efeitos de picadas de cobra (Lopera et al, 2023).

2.4 Caracterização química e potencial farmacológico

Algumas espécies de *Renealmia* apresentam diversos compostos químicos já descritos na literatura. Alguns desses compostos apresentam propriedades anticancerígenas e antiofídica. Outras plantas do mesmo gênero, apresentam efeito fitoterápico confirmado como, analgésico, antiácido, antibruxismo, antinauseante, antifúngico, calmante, cicatrizante, desinfetante de feridas, inseticida e laxante (Negrelle, 2015). A espécie *R. alpinia* é a mais conhecida na literatura por ter suas moléculas químicas bem estudadas e publicadas (Quadro 2).

Santos et al (2021) realizou a caracterização química das frações lipídicas e terpênicas das sementes da oleaginosa de *R. petasites*. Foram testados três métodos de extração para comparar a seletividade, e o melhor resultado apresentado, foi a extração com fluido supercrítico (SFE) com CO₂ que extraiu ácidos graxos insaturados, sesqui- e diterpenos (Santos et al, 2021).

Os frutos da *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas apresentam a polpa do fruto de cor amarelo intenso dos arilos que estão associados a um alto teor de carotenoides). Atualmente, o consumo e uso de *R. alpinia*, é limitado, sendo

desperdiçado ou utilizado apenas como alimento para o gado. No entanto, a polpa com as sementes e as cascas têm potencial para serem usados na alimentação, como ingrediente alimentar (Vega-Arroy et al, 2017; Jimenez-Gonzalez et al, 2022).

Os principais metabólitos identificados em *Renealmia alpinia* são flavonoides, que apresentam várias atividades biológicas e farmacológicas. Vários estudos demonstraram atividades citotóxicas, antifúngicas, antibacterianas, antimaláricos, anti-helmínticas, anti-hepatotóxicas, antioxidantes, anti-ulcerativas, anti-inflamatórias, hipotermia, hipolipemiantes, hipotensoras, antitumorais, espasmolíticas e antinociceptivas (Gomez-Betancur et al, 2014).

Uma pesquisa breve sobre os pigmentos do pericarpo de *R. alpinia* demonstrou uma alta concentração de antocianinas presentes e aplicabilidade em vários usos alimentares como corante natural (Jimenez-Gonzalez et al, 2022). No entanto, há falta de informações sobre o uso dos pigmentos ricos em carotenoides da polpa, que também poderiam ser usados na indústria alimentícia para melhoramento da aparência, aumentando a aceitação dos produtos pelo consumidor (Al-Shabib et al, 2017).

Quadro 2. Usos etnobotânicos e composição química de espécies de Renealmias.

Item	Espécie	Nome comum	País	Uso tradicional	Parte usada	Componentes químicos identificados	Referência
1	<i>R. alpinia</i>	Matandrea	Colômbia	Xarope ou suco do rizoma; anti-hemorrágico; Usos ornamentais, alimentícios e medicinais	Toda a planta	β -pineno, inteiro seco monoterpene óleo resina 38,0%; Labda-8(17)- <i>trans</i> -12-dien-15-16-dial-11-15-hemiacetal, 11-hidroxitriterpen Labda-8-(17)- <i>trans</i> -12-dien-15-oico,16-oxo 25-caroteno, β :carotenóides óleo resina, Labda-8-(17)- <i>trans</i> -12-dien-15-16. Manool: diterpen β : c, nerolidol: sesquiterpeno óleo resina, Labda-8(17)- <i>trans</i> -12-dien-15-16-diterpeno óleo resina, Limoneno	Zhou BN et al.,1997; Arango, 2005; Lognay, 1991
2	<i>R. chrysotricha</i>		Brasil		Folhas secas	Aromadendrene: sesquiterpene calamenene, cis: sesquiterpeno. Ledol: sesquiterpeno	Kaplan et al, 2000
3	<i>R. cincinnata</i>		Camarões		Nozes	Eudesma-1-4-7-triol sesquiterpeno, germacra- <i>trans</i> -1(10)- <i>trans</i> -5-dien-4- β -ol: sesquiterpeno, germacra- <i>trans</i> -5-10(14)-dien-1- β -4- β -diol: sesquiterpeno, Oplodiol: sesquiterpeno, Oplopanona: sesquiterpeno, Reneilmol sesquiterpeno	Tchuendem MHK et al, 1999
4	<i>R. exaltata</i>	Massa, mardigrass, misquipanga	Trindade	Cura digestiva, estômago	Folhas secas, semente e rizoma	Caempferol, flavonol. Pacovatinina diterpeno: flavonol quercetina, Renealtin A e B: bencenoide	Williams CA; Harborne JB, 1977; Sekiguchi M et al, 2002

5	<i>R. floribunda</i>		Brasil Suriname	Usado para banhos vaginais	Óleo essencial da folha	Etil monoterpenos burboneno, β : sesquiterpeno, carveol, <i>trans</i> : carnova monoterpeno: monoterpeno, 1,8-cineol, mirtenal, Perilla: aldeído, linalool, Cimenol, limoneno, pineno, α y β , tuyona α .	Luz Al., 1984
6	<i>R. guianensis</i>		França Guiana		Rizoma seco	Labda-8(17)-12-dien-15-16: diterpeno	Ramiandrasoa F. et al, 1986
7	<i>R. nicolaioides</i>		Peru		Raiz seca	Chalcona, 2'-hidroxi-4'-6'- dimetoxi: flavonoides, Furan- 2-carboxílico, 5-estirilo Nicolaioidesin: benzenoide nicolaioidesina: benzenoide nicolaioides: benzenoide, Panduratina: flavonoide, Tsugafolin, flavanona, Pinostrobin: flavanona	Gu JQ et al, 2002
8	<i>R. thyrsoides</i>		Índia Equador	Usado como antídoto em infusão oral para tratar picadas de cobra (<i>Bothrops atrox</i>)	Folhas secas	Informação não encontrada.	Selvanayahgam ZE et al, 1994; Davis EW; Yost JA, 1983
9	<i>R. aromatica</i>	Chucho	Honduras	Usado para limpar a pele e inflamação	Folhas secas	Informação não encontrada.	Lentz DL et al.,1998
10	<i>R. nicolaioides</i>				Raiz	Flavonoides isolado	
11	<i>R. thyrsoides</i>				Isolado de extrato etanólico do rizoma	Flavonoides e diarilheptanoides.	
12	<i>Renealmia</i> sp.		Brasil		Rizoma	Compostos fenólicos	

			Amazônica				
13	<i>R. monosperma</i>			Tratamento anti-flatulência			Defilipps et al, 2004
14	<i>R. petasites</i>	Pacová	Planta nativa do Brasil		Semente	Terpeno 2-careno	Santos et al, 2021

Fonte: Gómez, Benjumea, 2014; Negrelle, 2015; Santos et al, 2021.

2.5 Corantes naturais extraído de espécies vegetais

Os corantes são moléculas orgânicas que possuem a capacidade de absorver comprimentos de onda da faixa visível do espectro eletromagnético. A cor observada depende exatamente da região desse espectro que é absorvida. Eles podem ser classificados como naturais ou sintéticos. Os corantes naturais são obtidos de fontes vegetais, animais, minerais ou de microrganismos. Já os corantes sintéticos, também chamados de corantes artificiais, são produzidos em laboratório por meio de reações químicas (Vanuchi; Braibante, 2018).

A fascinação do Homem pelas cores produzidas pela natureza e o uso de materiais e colorantes no seu cotidiano acompanha a humanidade desde o seu início. As pinturas rupestres, por exemplo, demonstram como os habitantes da Era Paleolítica já possuíam conhecimento na aplicação de materiais extraídos da natureza para conferir cor (Vanuchi; Braibante, 2018).

As primeiras civilizações como China, Índia e Egito já utilizavam corantes obtidos de fontes naturais para fins estéticos, colorir alimentos e tecidos (Anugraha; Thomas, 2021). Os corantes naturais eram extraídos de diferentes partes de plantas e árvores, como folhas, flores, raízes, frutos, troncos, cascas, madeiras ou sementes. Diversos métodos eram utilizados nas extrações tais como maceração, destilação, fermentação, decantação, precipitação, filtração dentre outros (do Carmo Serrano; Lopes; Seruya, 2008).

Ao longo do tempo, a busca por corantes naturais foi intensificada, pois o uso de corantes naturais no tingimento de tecidos exercia um grande fascínio sobre os homens, devido ao *status* que o tecido tingido trazia aos que usavam vestimentas tingidas. Tecidos tingidos pela cor vermelha, por exemplo, eram preferidos pela aristocracia pois estavam associados à dignidade e nobreza (Vanuchi; Braibante, 2018). Os corantes naturais índigo, púrpura e alizarina tiveram um impacto profundo na sociedade, na economia e na ciência, dominando o mercado de corantes naturais por séculos até o advento dos corantes sintéticos no século XIX (de Souza; da Cunha; de Souza, 2015).

Com a descoberta do Novo Mundo, a Europa descobriu novas fontes de corantes naturais. No final do século XVII, o pau-brasil (*Paubrasilia echinata*) uma espécie

madeira de cerne avermelhado, endêmica do Brasil, começou a ser explorada como matéria-prima corante em tinturaria. A extração da tintura vermelha e seu uso no tingimento já era conhecida pelos indígenas. O pau-brasil foi considerado por muitos anos o produto local mais precioso para os portugueses, que o comercializavam na Europa para tingir tecidos para a aristocracia (Do Carmo Serrano; Lopes; Seruya, 2008).

A utilização de corantes naturais pelos povos indígenas brasileiros é relatada no estudo de Vanuchi e Braibante (2018). O estudo destaca o uso de diferentes tipos de pigmentos naturais por diversas comunidades indígenas. Na produção de cerâmicas, por exemplo, são empregados pigmentos de origem mineral, como argilas, barros e pedras. Para a pintura corporal, prefere-se o uso de corantes de origem vegetal, como urucum (*Bixa orellana*) e jenipapo (*Genipa americana* L.). Já no tingimento de tecidos, é comum a utilização de açafrão (*Curcuma longa* L.), cascas de mogno (*Swietenia macrophylla*), pau-brasil (*Paubrasilia echinata*), pau-santo (*Kielmeyera coriácea*), entre outros.

A partir do século XIX, a utilização de corantes sintéticos foi mais difundida. Houve uma maior preferência pela sua utilização pelas indústrias, pois apresentavam maior pigmentação e maior estabilidade, sendo sua produção mais fácil e barata, podendo ser produzida em grande escala (Osmanova et al, 2010).

Os corantes naturais são reconhecidos por suas propriedades bioativas, já que esses compostos desempenham diversos papéis benéficos à saúde, como atividade antioxidante, efeitos anti-inflamatórios e atuação na prevenção de doenças cardiovasculares. Entre os corantes naturais que contêm compostos bioativos, destacam-se o β -caroteno, que apresenta atividade pró-vitamina A; as antocianinas, conhecidas por seu potente efeito antioxidante e por propriedades anticancerígenas; além das betalaínas e do carmim de cochonilha, ambos associados à regulação dos níveis de lipídios (Santos; da Silva; Neta, 2022).

Os corantes naturais curcumina, antocianinas, cochonilha carmim, urucum, betalaínas e carotenoides, são os mais utilizados na indústria alimentícia e podem ser agrupados de acordo com seus grupos funcionais, sendo estes os pigmentos naturais mais comuns encontrados em fontes alimentares, especialmente frutas e vegetais, incluem carotenoides, clorofilas, betalaínas e antocianinas (Kumar, 2016; Moritz, 2005; Sigurdson et al, 2017).

Diversos estudos comprovam que o consumo regular desses antioxidantes reduz o risco de desenvolver câncer (Gonçalves; Estevinho; Rocha, 2016). Na atualidade, em decorrência do aumento de doenças por uso de alimento industrializados os carotenoides, podem ser uma alternativa para substituir corantes sintéticos como tartrazina (FD&C Yellow No.5, T102) usado como corante amarelo em bebidas como iogurte, salgadinhos, mostarda, sorvete ou produtos farmacêuticos (Jimenez-Gonzalez et al, 2022).

O surgimento de problemas de saúde como hiperatividade, transtorno de déficit de atenção, hipersensibilidade, asma e o uso a longo prazo de corantes sintéticos, pode estar relacionado com o desenvolvimento de tumores (Al Shabib et al, 2017). Além de tudo, o uso de suplementos e pigmentos naturais a base de carotenoides na dieta aumentaram, devido a suas propriedades bioativas e potencial antioxidante (Rodríguez-Amaya, 2016).

Além disso, estudos buscam expandir as opções de aplicação de corantes naturais em novas tecnologias. Amâncio et al (2021) estudou corantes naturais extraídos de espécies vegetais amazônicas como potenciais sensibilizadores em células solares sensibilizadas por corantes. As plantas selecionadas foram açaí (*Euterpe oleracea*), cajú (*Arrabidaea chica*), urucum (*Bixa orellana*), jenipapo (*Genipa americana*) e vassourinha (*Myrcia sylvatica*) e os corantes foram coletados de frutos, folhas, sementes, polpa e sementes e do caule, respectivamente (Figura 1). Os resultados deste estudo demonstraram o potencial inovador dos corantes vegetais amazônicos como alternativa para atender à demanda por fontes de energia renováveis, especificamente para células solares de baixo custo.

Figura 1. Corantes e partes de plantas amazônicas utilizadas no estudo. **A)** *Myrcia sylvatica*, **B)** *Bixa orellana*, **C)** *Euterpe oleracea*, **D)** *Genipa*, **E)** *Arrabidaea chica*. **Fonte:** Amâncio et al, 2021.

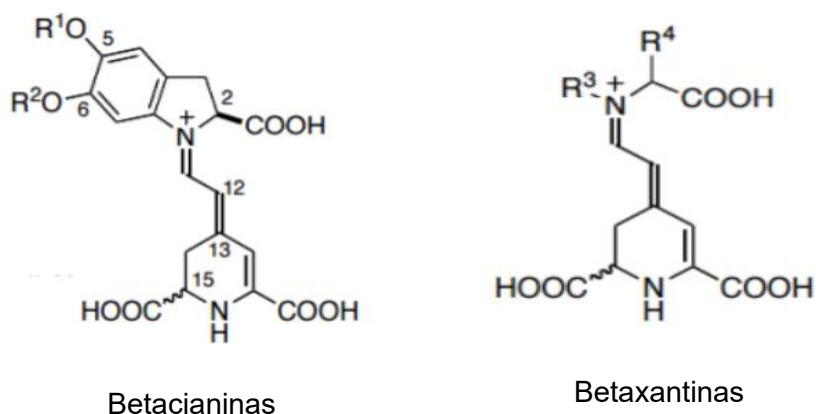


2.5.1 Betalaínas

As betalaínas apresentam grande potencial antioxidante, que se destacam na área de pesquisa nos últimos anos, apresentando grandes contribuições para a compreensão das perdas por meio dos processos oxidativos nas plantas. Apesar de apresentar baixa estabilidade térmica (Kluge et al, 2016) as betalaínas possuem capacidade antioxidante 1,5 a 2,0 vezes maior que as antocianinas, quando comprovadas em pH 3,0 a 7,0, uma vez que as betalaínas mantêm a estabilidade e a capacidade nesta faixa antioxidante de pH (Borkowski et al, 2005).

As betalaínas são divididas em dois grupos, o primeiro é representado pelas betacianinas, pigmentos de coloração vermelho-purpúreo, este grupo possui absorvância máxima na faixa de 534 a 555 nm. O segundo grupo é representado pelas betaxantinas, pigmentos de coloração amarela, considerados de menos comuns e de absorvância máxima na faixa de 480 nm (Coultate et al, 2004).

Figura 2. Estrutura das betalaínas. Fonte: Gonçalves et al, 2015.



Na beterraba, as betacianinas compreendem cerca de 90% das betalaínas. A betanina, betalaína do grupo das betacianinas, é o principal corante presente na beterraba (*Beta vulgaris*), este constitui de 75% a 95% dos pigmentos totais. Este composto possui como característica mudança de cor com a variação de pH, sendo bastante estável a pH entre 4 e 5 e apresentando estabilidade razoável a pH no intervalo de 3 a 7. A betanina é instável a presença de luz e ar, podendo ser destruída se sujeita a altas temperaturas (Coultate et al, 2004; Bobbio et al, 1995).

Citado como, o pigmento da betanina pode ser influenciado com mudanças de pH. Este pigmento apresenta um máximo de absorvência a 537 nm, dentro do intervalo de pH entre 3,5 e 7. Quando o pH é reduzido abaixo de 3, a intensidade do pico de absorvência diminui, surgindo também uma leve inflexão na região entre 570 e 650 nm. Nesta situação a solução do pigmento assume coloração vermelho-azulada. Em pH acima de 9, a absorvência máxima é obtida em 544 nm, e o pigmento assume coloração azul (Bobbio et al, 1995).

2.5.2 Flavonoides

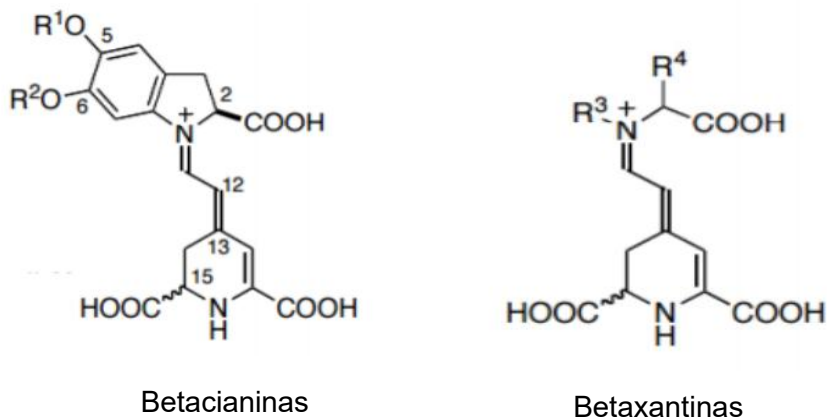
Os flavonoides são metabolitos comuns na natureza, atuando na atração de polinizadores e como co-pigmentos das antocianidinas. Apresentam importante potencial terapêutico e diferentes atividades biológicas, destacando-se atividade antimicrobiana anti-inflamatória, antifúngica, antiviral, antibiótico, antitumoral, antibacteriano, antiparasitária, atividade imunomoduladora, anti-inflamatória e antioxidante (intimamente ligada a estrutura dos flavonoides e ao número de substituintes hidroxilas (substâncias fenólicas) (Bruneton, 1995; Moraes, 2022). Quimicamente são substâncias derivadas da via do ácido chiquímico-acetato, caracterizadas por apresentarem dois núcleos fenólicos ligados por uma cadeia de três carbonos (Harborne, 1984).

É possível concluir que os flavonoides são substâncias polifenólicas, e quanto maior o número de hidroxilas, mais eficiente será a sua atividade antioxidante, o que lhes confere significativa importância farmacológica (Flambó, 2013). Além disso, sua atividade antioxidante é combinada com a sua capacidade de modular funções de enzimas celulares essenciais do organismo, trabalhando como potentes inibidores de diversas enzimas, como as xantinas oxidases (XO), ciclo-oxigenases (COX), lipoxigenases (LOX), entre outras (Panche, et al, 2016).

A atividade antioxidante dos flavonoides tem sido objeto de estudo nas últimas décadas pois representa uma grande aposta para o futuro desenvolvimento de fármacos e outras formas de tratamento para diversas doenças, como doenças cardiovasculares, doenças genéticas, como câncer, e doenças degenerativas, como o Alzheimer e a doença de Parkinson (Huber; Rodriguez-Amaya, 2009; Shohaib et al, 2011). Os flavonoides (Figura 3) são metabólitos secundários derivados de uma vasta diversidade

de plantas, e seus derivados representam mais de um terço do total de novas moléculas aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration) (Cataneo, 2020).

Figura 3. Estrutura das betalainas. Fonte: Gonçalves et al, 2015.



Os flavonoides são encontrados, principalmente, na forma glicosídica, ou seja, com moléculas de açúcar ligadas à sua estrutura, que é constituída por um núcleo fundamental composto de quinze átomos de carbono (C15), arranjados em dois anéis fenólicos A e B, e um anel C, derivados de diferentes vias biossintéticas (Huber; Rodriguez-Amaya, 2009).

São conhecidos, atualmente, mais de 8.000 diferentes tipos de flavonoides, sendo as suas principais classes os flavonóis, isoflavonas, flavonas, flavanonas, flavanas, antocianinas e proantocianidinas (ou taninos condensados), e podem ser encontrados em vegetais folhas, frutas, sementes, flores, chás, vinho, própolis e mel (Oliveira et al, 2006).

2.5.3 Antocianinas (azul e vermelho)

As antocianinas são encontradas depositadas dentro do vacúolo das células em vários tecidos diferentes, como folhas, pétalas, frutos, bulbos, rizomas ou caules (Gould et al, 2008; Stintzing; Carle, 2004). No entanto, ao observar a sua presença dentro de um determinado tecido, o acúmulo de antocianinas pode variar. Por exemplo, enquanto algumas folhas são todas vermelhas (totalmente coloridas por antocianinas) outras

demonstram essa cor em trechos restritos, como a distribuição das margens de um determinado órgão.

De maneira semelhante, em algumas plantas as folhas apresentam coloração vermelha apenas durante o crescimento, em situações de estresse ou quando estão envelhecendo, enquanto em outras, a coloração vermelha é mantida ao longo de toda a vida da planta. Essas variações, no tempo, no tecido, na localização e na flexibilidade da cor, tornam difícil estabelecer uma explicação única para a presença de antocianinas nos tecidos (Gould et al, 2008).

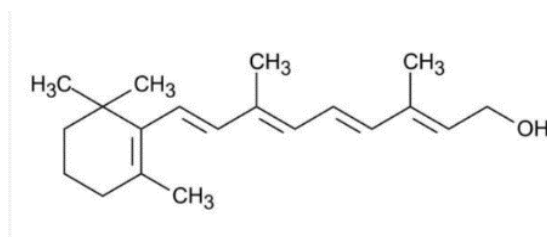
2.5.4 Carotenoides

Os carotenoides são um grande grupo de pigmentos presentes na natureza, com mais de 600 estruturas definidas, identificados em organismos fotossintetizantes e não fotossintetizantes como: plantas superiores, algas, fungos, bactérias e em alguns animais. São responsáveis pelas cores do amarelo ao vermelho de frutas, vegetais, fungos e flores, utilizadas comercialmente como corantes alimentares e em suplementos nutricionais, com um mercado global estimado em US\$ 935 milhões (Uenojo et al, 2007).

As maiores fontes de carotenoides estão nas frutas e verduras, que apresentam uma vasta quantidade de cores, e isso é uma característica que influencia a aceitabilidade, e nutricionalmente, alguns são precursores da vitamina A. Em termos de saúde humana, estão entre os fitoquímicos bioativos associados a redução do risco de doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata, além de consolidar o sistema imunológico (Nörnberg et al, 2022).

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis responsáveis pela coloração de plantas, algas e outros organismos. A função dos carotenoides, são substâncias antioxidantes, que minimizam os efeitos dos radicais livres no organismo, e alguns tipos, como β -caroteno, também são fontes precursoras de vitamina A. (Uenojo et al, 2007). Os principais carotenoides presentes nos alimentos: β -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, licopeno, luteína e zeaxantina (Rodriguez-Amaya, 2016).

Figura 4. Estrutura do β -caroteno. Fonte: Autores, (2023)



Esses corantes naturais são extraídos de partes de plantas, onde as etapas para obtenção incluem a coleta do material vegetal, secagem e moagem. A extração depende das suas características químicas, o que vai definir o tipo de solvente extrator (polar, apolar ou água). Outras formas de extração também podem ser: extração por Soxhlet, sonificação e aquecimento sob refluxo (Gunasekaran; Poorniammal, 2008; Aberoumand, 2011; Yusuf et al, 2017). A etapa de extração é de extrema importância, pois sua eficiência pode interferir nas propriedades qualitativas e quantitativas e na pureza dos corantes.

Os corantes naturais, como carotenoides, flavonoides e betalaínas podem ser extraídos de plantas, insetos, fungos e bactérias. Embora, os corantes naturais possam ser mais seguros do que os corantes sintéticos, eles podem ser instáveis quimicamente sofrendo influência da luz, temperatura e pH. Contudo, suas vantagens biotecnológicas justificam trabalhos visando sua obtenção.

2.6 Corantes artificiais: panorama, aplicações industriais e impactos na saúde humana

A coloração é uma característica que é chamativa para produtos como em alimentos, medicamentos, indústria têxtil e diversos segmentos da indústria (Prado; Godoy, 2003). As substâncias com essas capacidades podem ser pigmentos e corantes. Os pigmentos não são solúveis no meio que são aplicados, ao contrário dos corantes que são totalmente solubilizáveis. Para a área de alimentos podem influenciar o consumo e em medicamentos podem torná-los mais atraentes para crianças (Yusuf et al, 2017; Constant; Stringheta; Sandi, 2002; Wibowo et al, 2015).

Os corantes artificiais constituem um grupo de aditivos sintéticos amplamente empregados em alimentos, medicamentos, cosméticos e produtos de higiene, com o propósito principal de intensificar, padronizar ou restaurar cores perdidas durante o processamento (Downham; Collins, 2000). A aceitação desses compostos pela indústria está fortemente relacionada ao seu baixo custo, alta estabilidade frente a variações de pH, temperatura e luz, além da capacidade de produzir tonalidades vibrantes e consistentes (Sigurjónsdóttir; Sigfússon; Ólafsdóttir, 2021).

Apenas doze corantes sintéticos são certificados pela *Food and Drug Administration* (FDA), já entre os naturais, são liberados para sua utilização em alimento, trinta e seis corantes. As restrições por derivados de petróleo tendem a reduzir ainda mais essa lista, sendo necessário a pesquisa por novas alternativas de corantes para uso em alimentos (FDA, 2021; Moritz, 2005). No entanto, nos últimos anos, os efeitos maléficos, principalmente seu potencial mutagênico tornaram-se evidentes para os seres humanos. Além disso, são de difícil degradação causando diversos impactos ambientais no ambiente aquático (Yusuf et al, 2017).

Do ponto de vista regulatório, o uso dos corantes artificiais é rigidamente controlado por órgãos sanitários, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no Brasil e a Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos. A ANVISA, por meio da RDC nº 778/2023, define limites máximos de utilização e especificações de pureza, com base em avaliações toxicológicas e na determinação da Ingestão Diária Aceitável (IDA) (BRASIL, 2021). Esses limites são estabelecidos considerando evidências científicas sobre toxicidade aguda, crônica, carcinogenicidade, mutagenicidade e efeitos reprodutivos.

Quadro 3 – Corantes permitidos pela ANVISA

Nome	Código	Cor	IDA (mg/kg de peso corpóreo)
Amaranto	E123	Magenta	0,50
Amarelo Crepúsculo	E110	Laranja	2,50
Azorrubina	E122	Vermelho	4,00
Azul Brilhante	E133	Azul-turquesa	10,00
Azul Patente V	E131	Azul	15,00
Eritrosina	E127	Pink	0,10
Azul Indigo na Ponceau	E132	Azul-royal	5,00
Verde Rápido	E124	Cereja	4,00
	E143	Verde-mar	10,00

Vermelho 40	E129	Vermelho-alaranjado	7,00
Tartrazina	E102	Amarelo-limão	7,50

Fonte: Adaptado de Martins (2015).

A tartrazina, conhecida como Amarelo 5, é um dos corantes mais empregados devido à sua solubilidade e estabilidade. Presente em refrigerantes, gelatinas, produtos de panificação e condimentos, é frequentemente estudada pela literatura médica por seu potencial alergênico (Mowad et al, 2016).

Estudiosos ensinam que existe uma inerente ligação entre as cores e os aspectos da nossa vida, que são capazes de influenciar as nossas decisões do dia a dia, inclusive, quando se trata de alimentos. Vários fatores são afetados pela cor, como a aparência, características sensoriais, segurança e aceitabilidade dos alimentos, por isso é tão importante, do ponto de vista de vista tecnológico, a aplicação dos corantes artificiais aos alimentos e produtos alimentícios (Braun; Rodrigues, 2021).

A alimentação é direcionada e baseada, principalmente, em consumo de produtos industrializados, devido à praticidade e facilidade de aquisição, manipulação e preparo. Por isso, observou-se ponderar quais são os benefícios e malefícios à saúde do ser humano causados pelos corantes artificiais, que estão presentes em grande parte dos alimentos, quando empregados no processamento e um produto (Guimarães et al, 2023).

Ao final, mostrou-se necessária a fiscalização rigorosa, constante e eficiente por parte dos órgãos competentes, para que se garanta que os alimentos industrializados estejam dentro das normas pertinentes e não prejudiquem a saúde do consumidor (Guimarães et al, 2023).

2.7 Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANC)

A nomenclatura oficial das PANCs, foi oficialmente criada por Kinupp (2007), que se refere a todas as plantas que possuem uma ou mais partes comestíveis, sendo elas espontâneas ou cultivadas, nativas ou exóticas que não estão inseridas em nosso cardápio do cotidiano (Kinupp; Barros, 2007).

No Brasil existem pelo menos 3 mil espécies conhecidas de PANCs, estudos indicam que cerca de 10% da flora sejam de plantas alimentícias (Kelen et al, 2015).

As PANCs ainda não fazem parte da cadeia produtiva e da alimentação habitual da população no geral. Isso deve-se pela falta de conhecimento, devido à escassez de informações acerca de seu valor nutricional, formas de cultivo, manejo, consumo e pesquisas. No entanto, existe um grande potencial econômico e nutritivo das espécies Amazônicas, podendo valorizar a agricultura familiar, respeitando os conceitos agroecológicos e de sustentabilidade (Paschoal; Gouveia; Souza, 2016).

As PANCs são frequentemente confundidas com ervas daninhas, por isso, não despertam interesse na população que desconhece os benefícios dos compostos bioativos, como na espécie *Renealmia* sp. Segundo Kinupp (2014) esse vegetal está inserido entre as plantas PANCs.

Diante das possibilidades expostas com o consumo desse vegetal, surge a oportunidade de comercialização desses corantes naturais, despertando interesse da cadeia produtiva para cultivo do vegetal e contribuindo com o aumento de renda da agricultura familiar. Considerando o potencial biotecnológico de espécies PANCs como *Renealmia* sp., torna-se necessário aprofundar o conhecimento sobre espécies nativas e endêmicas da região Amazônica, como alternativas para extração de corantes naturais bem como o desenvolvimento de novos bioprodutos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar e analisar metodologias de extração dos extratos de *Renealmia* sp. visando obter uma fração rica com corante natural.

3.2 Objetivos Específicos

1. Comparar a composição química de diferentes extratos das folhas e partes dos frutos de *Renealmia* sp., buscando substâncias com cor;
2. Avaliar as atividades antimicrobianas e antioxidantes dos extratos obtidos;
3. Analisar e caracterizar os extratos obtidos por técnicas cromatográficas e espectroscópicas visando a obtenção de corantes naturais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

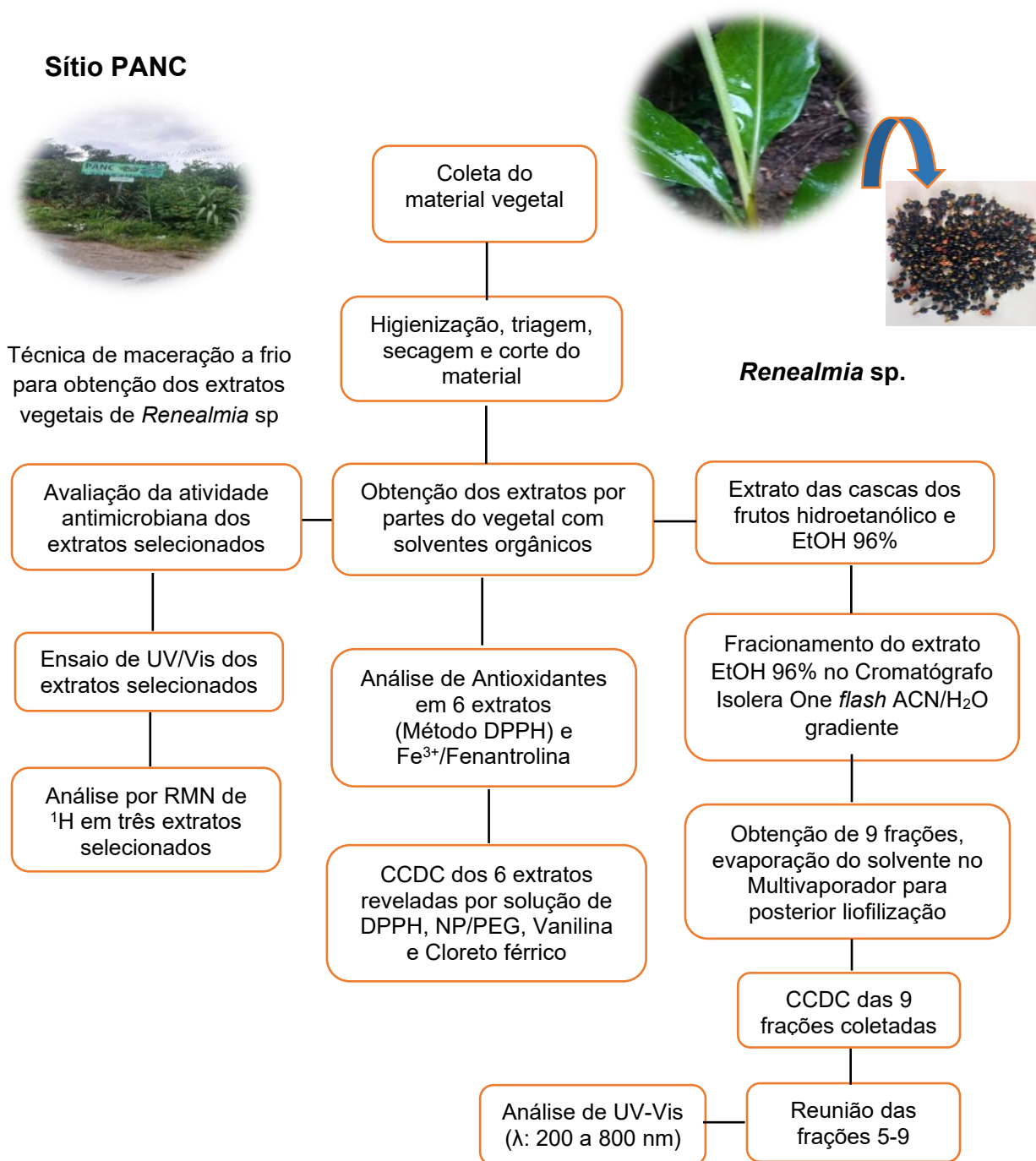
4.1 Descrição de equipamento e materiais

- **Espectrofotômetro:** Femto, modelo Cirrus 80ST.
- **Espectrofotômetro para leitura de placas de 96 poços:** Thermo Scientific, Multiskan GO.
- **Liofilizador:** Thermo, modelo Modulyod Freeze Dryer acoplado a bomba de vácuo Thermo, modelo VLP200.
- **Cromatógrafo Líquido de Média Pressão (MPLC-FLASH):** Biotage, modelo Isolera One 2.0.2.
- **Rotavapor:** Buchi, modelo R-215, acoplado a banho, modelo Heating Bath B-491, bomba de vácuo modelo V-700 e Thar Refrigerador e Aquecedor 10 L, modelo 06679-6.
- **Multivapor:** Buchi, modelo P-12 acoplado a bomba de vácuo modelo V-700 e Thar Refrigerador e Aquecedor 10 L, modelo 06679-6.
- **Sistema de Vídeo Documentação por Aquisição Digital:** Camag, modelo Reprostar 3.
- **Automatic TLC:** Camag, modelo Sampler 4.
- **Balança analítica:** Mettler Toledo, modelo AB304-S/FACT.
- **Soprador Serigráfico:** Steinell, modelo, HL 500.
- **UltraSonic Clean:** Unique, modelo UltraCleaner 1600A com Aquecimento
- **Solventes:** Álcool etílico p.a., álcool metílico p.a, acetonitrila p.a., hexano p.a., Diclorometano p.a., acetato de etila p.a., ácido acético p.a., ácido fórmico p.a., álcool butílico normal p.a., e tolueno p.a.
- **Cromatoplasmas de sílica gel RP-18W/UV₂₅₄:** MERCK. Com indicador de fluorescência 254 nm, espessura de 0,15 mm em folha de alumínio.
- **Cromatoplasmas de sílica gel 60 F₂₅₄:** Com indicador de fluorescência 254 nm, espessura de 0,20 mm em folha de alumínio.
- **TLC Plate KP-SIL PK 50:** Biotage, com proteção de vidro.
- **Biotage Sfar Cartucho de C₁₈ D – Duo 100 Å 30µm, 12 g e volume do cartucho 17 mL, pressão 17bar.**

- **RMN** Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN): Fabricante Bruker BioSpin AG, Modelo Fourier 300 UltraShield, com frequência de 300 MHz (¹H) e 75 MHz (¹³C). Sonda EASYPROBE DUL 300MHz S1 5mm Z-GRADIENT.

As etapas do presente estudo estão representadas no fluxograma de procedimentos a seguir:

Figura 5. Parâmetros para obtenção dos extratos orgânicos de *Renealmia* sp.



4.2 Coleta do material vegetal

Os materiais vegetais de *Renealmia* sp. (folhas, ramos, rizoma e frutos) foram coletados de indivíduos localizados no Ramal do Brasileirinho, Km 06, na cidade de Manaus, Sítio PANC (Planta Alimentícia não-Convencional), de propriedade do Dr. Valdely F. Kinupp (3°01'20.4"S 59°52'40.6"W) que autorizou a entrada e auxiliou na coleta e identificação botânica. Foram realizadas duas coletas: a primeira no dia 23 de maio de 2023, e a segunda no dia 05 de outubro de 2023, coletando outro indivíduo fértil para confecção da exsicata e para realizar nova extração. A exsicata do material foi cadastrada no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, com o registro de número INPA 297993, primeira coleta do próprio autor, Santos e Silva, N. O presente trabalho foi registrado no Sistema de Gestão do Patrimônio Genético – MMA sob o número ABD4F18.

Figura 6. Frutos da *Renealmia* sp.



Figura 7. Sítio PANC.



Figura 8. *Renealmia* sp.



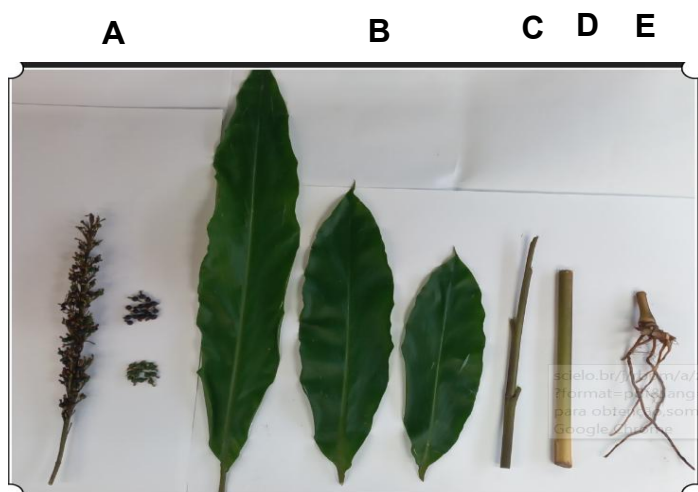
Fonte: Autor, (2023)

4.2.1 Triagem, higienização do material coletado e preparação da exsicata

O material vegetal (pedúnculo, folhas, pseudocaule, rizoma, raiz e frutos) foi lavado. Foram necessários dois recipientes de plásticos para o procedimento, porque, no pedúnculo com os frutos, apresentava formigas e barro dificultando o processo de

asepsia. Em cada recipiente foi adicionado um volume de água corrente com detergente neutro, um volume necessário para imersão do material vegetal por completo. Por um período de 2 horas o material permanece na solução, após esse período o material vegetal foi lavado com sucessivas repetições com água corrente até que o sabão fosse retirado completamente. Na Figura 10, pode-se observar cada parte do vegetal, antes do procedimento de higienização.

Figura 9. Material vegetal da primeira coleta pseudocaule com os frutos, folhas, parte área, rizoma e raiz da *Renealmia* sp.



Legenda:

- A** = Pedúnculo com pedicelo com os frutos;
- B** = Folhas variadas;
- C** = Parte área;
- D** = Pseudocaule;
- E** = Rizoma com a raiz.

Fonte: Autor, (2023)

Figura 10. Assepsia do material vegetal folhas (A), pedúnculo com os frutos (B), rizoma, pseudocaule (C) da *Renealmia* sp.



Fonte: Autor, (2023).

Figura 11. Pedúnculo com os frutos maduros e verdes. Fonte: Autor, (2023).



Figura 12. Casca do fruto separado da polpa com as sementes. Fonte: Autor, (2023).



O vegetal foi armazenado separadamente, sobre papel (Papel-borrão) marca MACHEREY-NAGEL (MN) 218 B 570 x 460 mm para evaporação da água, para posterior procedimento de extração.

Figura 13. Secagem do material vegetal. Fonte: Autor, (2023).



Figura 14. Procedimento das etapas para confecção da exsicata. Fonte: Autor, (2023).



4.3 Preparo dos extratos da *Renealmia* sp

4.3.1 Extração 1 por maceração para obtenção de extratos etanólico e hidroetanólico.

Os frutos maduros da primeira coleta, foram retirados do pedúnculo em seguida foram separadas as cascas da polpa com sementes. Para extração foi utilizado 8,0087 g do material das cascas e da polpa com as sementes, 51,0105 g. Para comparação, foi utilizado a extração por maceração a frio (estática). Utilizando uma extração com EtOH:H₂O 1:1 v/v para obtenção dos extratos hidroetanólico e outra extração com EtOH 100% para obtenção dos extratos etanólicos. O tempo de duração para extração foi de 24 h, ocorreram três repetições com o mesmo volume da mistura de solventes. Os extratos foram filtrados em papel de filtro, Figura 16 (c) e (e) filtrado com algodão, na sequência armazenados em fracos de vidros esterilizados e envolvidos com papel alumínio, para proteger do contato com a luz. O solvente dos extratos etanolicos foram evaporados em capela de exaustão, enquanto os extratos hidroetanolicos foram congelados e posteriormente liofilizados.

Figura 15. Fluxograma do preparo dos extratos da primeira coleta

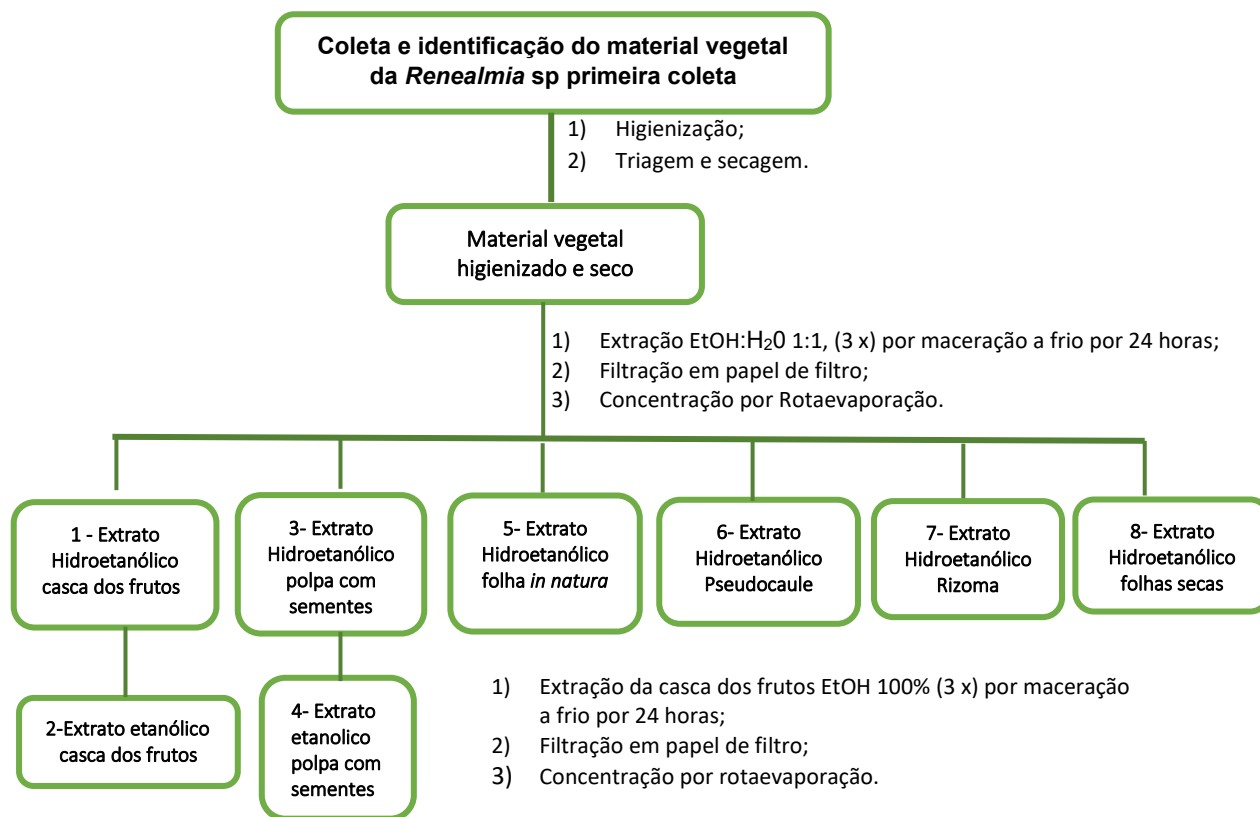
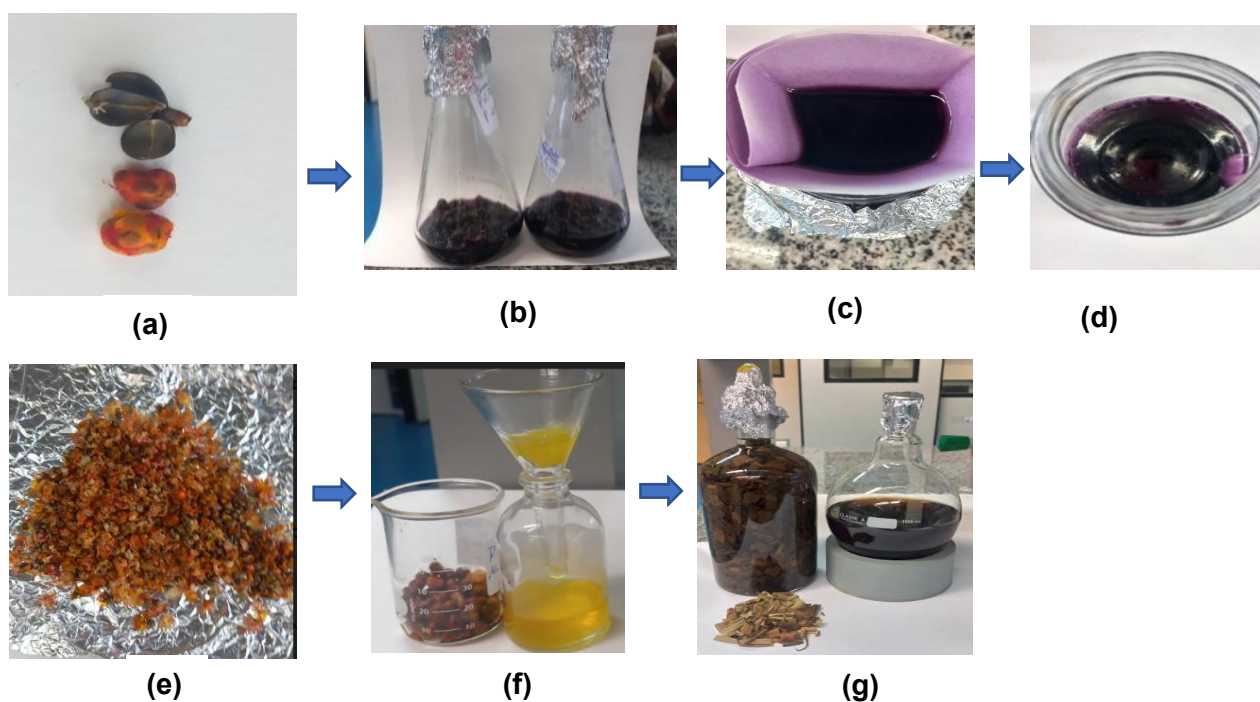


Figura 16. Obtenção dos extratos dos frutos e folhas de *Renealmia* sp. (a) frutos in natura, (b) extração do corante, (c) corante (d) extrato seco, (e) polpa com as sementes, (f) extrato da polpa com as sementes e (g) extrato das folhas secas.

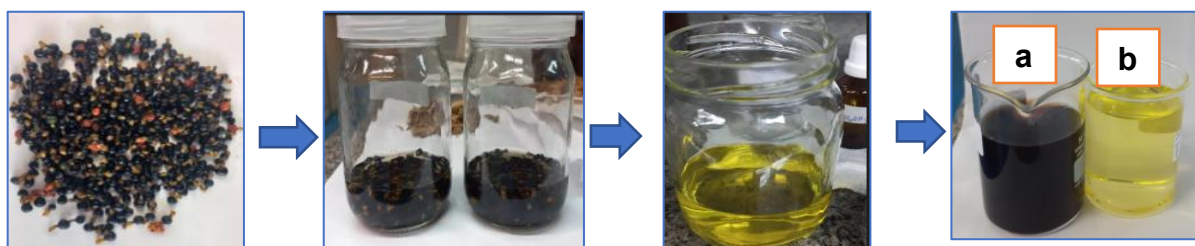


4.3.2 Extração 2 por método de maceração com os solventes MeOH e Hexano p.a.

Da segunda coleta, a extração da casca dos frutos extraídos por método de maceração a frio com os solventes hexano p.a e MeOH p.a. A massa total do material foi de 8,32 g, dividido em partes iguais para extração com dois solventes, hexano p.a e metanol p.a, o volume de solvente usado foi 50 mL, ocorrem três extrações por período de 24 h pelo método de maceração a frio estática.

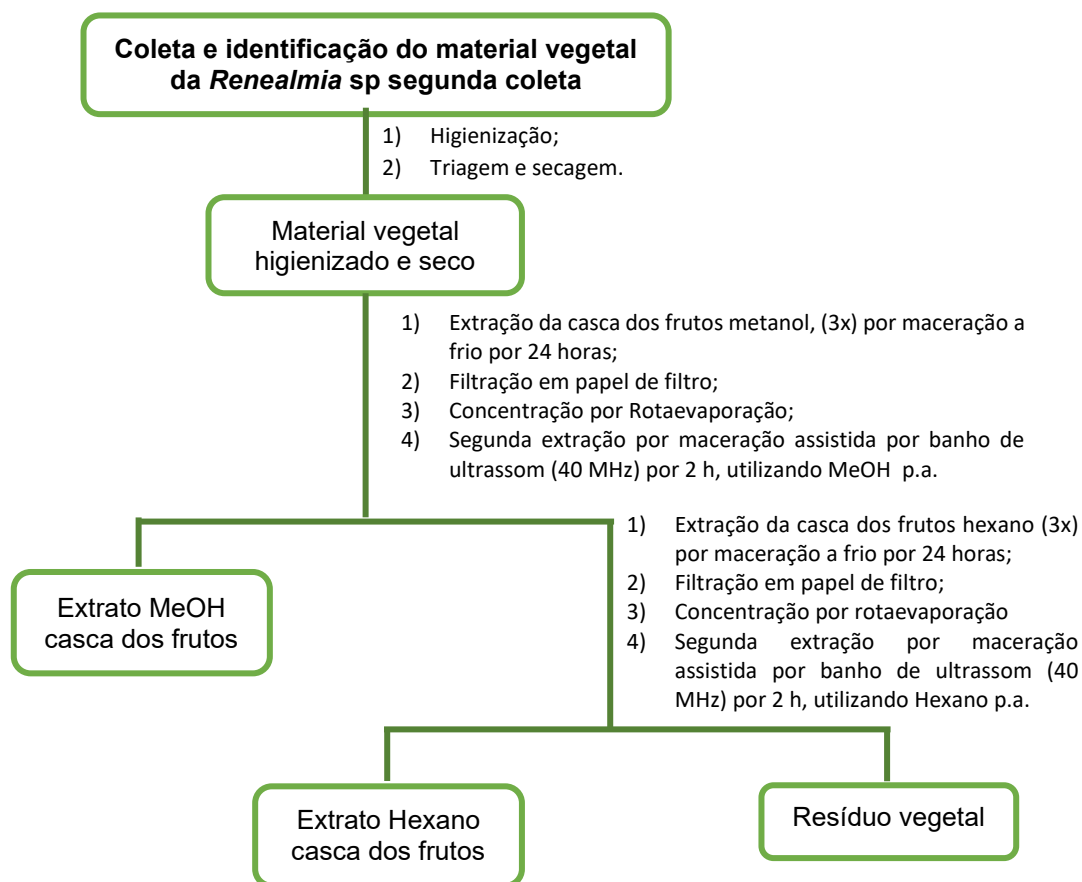
Em seguida após eliminação do solvente, esse mesmo material foi extraído novamente em maceração assistida por banho de ultrassom (40 MHz) por 2 h, utilizando Hexano p.a e posteriormente MeOH. Após o processo de extração, os extratos metanólicos e hexânicos foram secos em capela de exaustão, para cálculo do rendimento. A Figura 17 mostra a metodologia de extração a partir de dois solventes diferentes.

Figura 17. Procedimentos de extração com dois solventes (a) metanol p.a e (b) Hexano p.a.



Fonte: Autor (2023).

Figura 18. Fluxograma para obtenção dos extratos segunda coleta.



4.4 Análise de antioxidantes dos extratos obtidos

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada a partir dos modelos de ensaios: DPPH e Fe^{3+} /fenantrolina, conforme utilizado por Novaes e Nunez (2008). Esse ensaio foi realizado no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia LABB-INPA. As atividades antioxidante das amostras testadas foram comparadas com as do ácido ascórbico, como referência de antioxidante padrão. Cada amostra foi avaliada em triplicata e o resultado expresso em equivalência ao antioxidante padrão: ácido ascórbico (Martins et al, 2014).

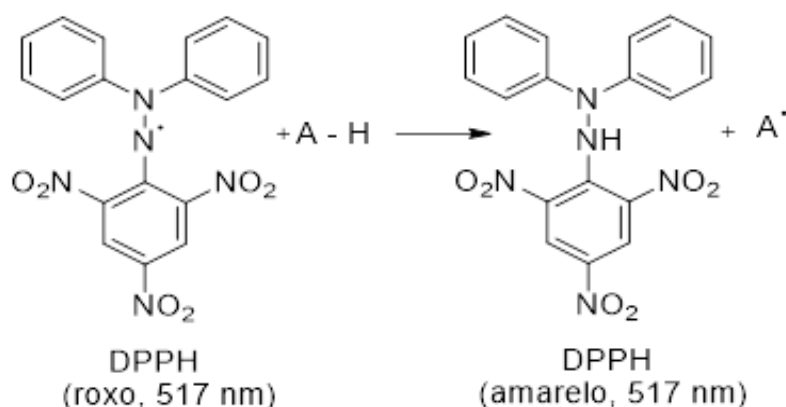
- Curva de calibração

Para iniciar o ensaio foi obtida a curva de calibração para o DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) e para Fe^{3+} /fenantrolina. Sendo preparadas as soluções de: DPPH (28 $\mu\text{g/mL}$), Fe^{3+} e 1,10-fenantrolina 0,25%. Uma solução estoque de ácido ascórbico com água deionizada na concentração de 900 $\mu\text{g/mL}$ foi preparada, a partir da qual foram

feitas seis alíquotas nas concentrações: 0,90, 180, 360, 540 e 720 µg/mL. Para obtenção da curva de calibração com DPPH, adicionou-se em seis micro tubos 990 µL de DPPH, mais 10 µL das alíquotas de ácido ascórbico das concentrações referentes. Após 30 minutos, foi realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 517 nm. Para a obtenção da curva de calibração de Fe³⁺/fenantrolina, foram adicionados em seis novos microtubos 10 µL das alíquotas de ácido ascórbico das concentrações referentes, mais 10 µL da solução padrão de Fe³⁺ e 980 µL da solução 1,10-fenantrolina 0,25%. Após 1 hora, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 515 nm.

A avaliação da atividade antioxidante das amostras frente a radical livre foi realizada utilizando o método com DPPH, o qual é considerado um radical estável que permite avaliar a capacidade de substâncias como sequestradores de radicais livres. Quando o DPPH recebe um elétron, ou um radical hidrogênio, torna-se um composto mais estável e sua absorbância diminui. Para determinação da absorbância da reação entre o DPPH e os extratos foram utilizados 990 µL de DPPH (28 µg/mL em metanol) e 10 µL da solução das amostras teste (de extratos ou frações) a uma concentração de 500 µg/mL, em triplicata. Como controle negativo foram utilizados 990 µL de DPPH (28 µg/mL em metanol) e 10 µL de água deionizada. Após 30 minutos, foi realizada uma leitura da absorbância em espectrofotômetro (λ: 517 nm).

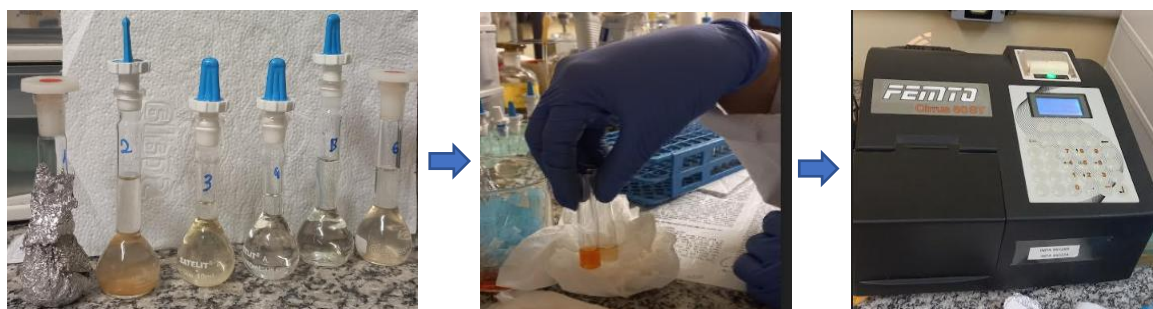
Figura 19. Reação antioxidante com o radical de DPPH.



Adicionalmente foi realizado o método com Fe³⁺/fenantrolina para avaliar a atividade antioxidante. Esta metodologia justifica-se por permitir avaliar a capacidade

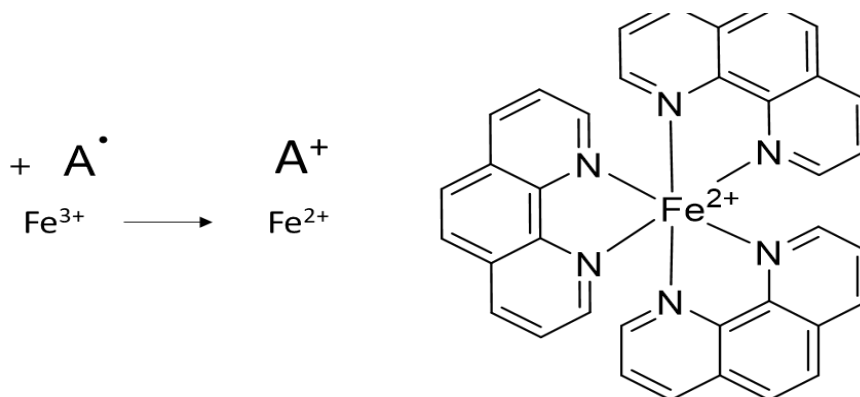
que tem alguns tipos de antioxidantes de agirem como agentes quelantes, complexando íons metálicos que catalisam a oxidação lipídica. Um par de elétrons não compartilhados na sua estrutura promove a ação de complexação. Para esta metodologia foram utilizados 980 µL da solução de 1,10-fenantrolina, adicionando-se 10 µL da solução de Fe^{3+} , e ao final, foi adicionado 10 µL da solução das amostras teste (extratos ou frações) a uma concentração de 500 µg/mL. Como controle negativo foi utilizado uma solução de 1,10-fenantrolina mais 10 µL da solução de Fe^{3+} e 10 µL de água deionizada. Após 1 hora, foi realizada uma leitura da absorbância em espectrofotômetro (λ : 515 nm).

Figura 20. Representação do complexo de Ferro³⁺ e fenantrolina.



Fonte: Autor, (2023).

Figura 21. Extratos para procedimentos durante a realização do ensaio de antioxidantes no LABB (INPA).



Fonte: Autor, (2023).

4.5 Fracionamento por cromatografia líquida de média pressão (MPLC-FLASH) do extrato etanólico casca dos frutos da *Renealmia* sp.

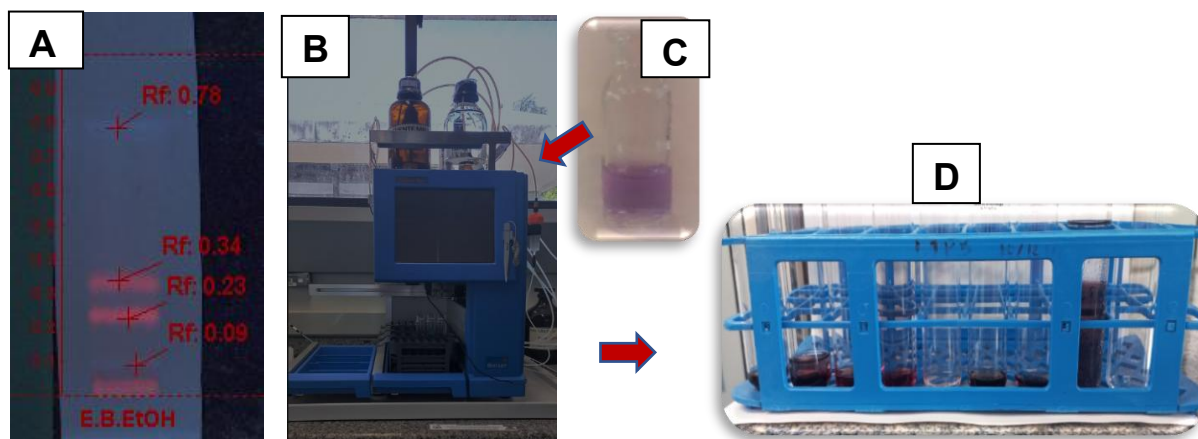
Para a escolha do método de fracionamento, foram realizados testes com diferentes sistemas de fase móvel e com fase estacionária normal e reversa com técnica de cromatografia em camada delgada (CCDC). A fase estacionária selecionada por CCD foi a sílica gel C₁₈, que apresentou a melhor separação dos compostos do extrato etanólico, a mistura de solventes ACN/H₂O (9:1) apresentou melhor sistema de separação das bandas demonstrado na Figura 22 (A).

Em um cromatógrafo de média pressão (cromatografia *flash*), o extrato etanólico das cascas dos frutos de *Renealmia* sp. com massa de 0,0900 g foi solubilizado com EtOH e MeOH na sequência inserido na pré-coluna. Os parâmetros escolhidos para o fracionamento do corante foram os seguintes: Fase estacionária cartucho C₁₈ com a massa de 12 g com volume de 17 mL. Utilizou-se acetonitrila p.a (ACN) como solvente A e H₂O como solvente B em modo gradiente iniciando em 10 % de A, a duração total do método foi 45 minutos e fluxo de 5 mL/min. Parâmetros do método cromatográfico, 0-9 min 100% de MeOH para ativar o cartucho; 9-15 min 20% de A; 15-21 min 20% B e 100% de A; 21-26 min 100% de A; 26-41 min 100% B-20% de A. Tempo da análise 5:15 min. Dois comprimentos de ondas foram selecionados 254 nm e 520 nm. Para a coleta automática das frações, foram usados tubos de ensaios sendo obtidas 09 frações (Bickler; Denton, 2016), as mesmas foram submetidas a processo de evaporação dos solventes em um Multivaporador Buchi modelo P12, a vácuo por 4 h posterior liofilização para frações com maior concentração de água.

Para o fracionamento do extrato etanólico da casca dos frutos, foram utilizados os seguintes parâmetros para: comprimentos de onda UV1 254 nm e UV2 520 nm com a fase móvel solvente **(A)** ACN e solvente **(B)** Água a fase estacionária utilizou-se cartucho de fase reversa 12 g com capacidade de até 12 mL/min e pressão 17 bar. As cromatoplasas de fase normal de sílica gel com as frações aplicadas, foram eluídas nos sistemas acetato de etila/ácido/acético/ácido/fórmico/água nas proporções (100:11:11:26).

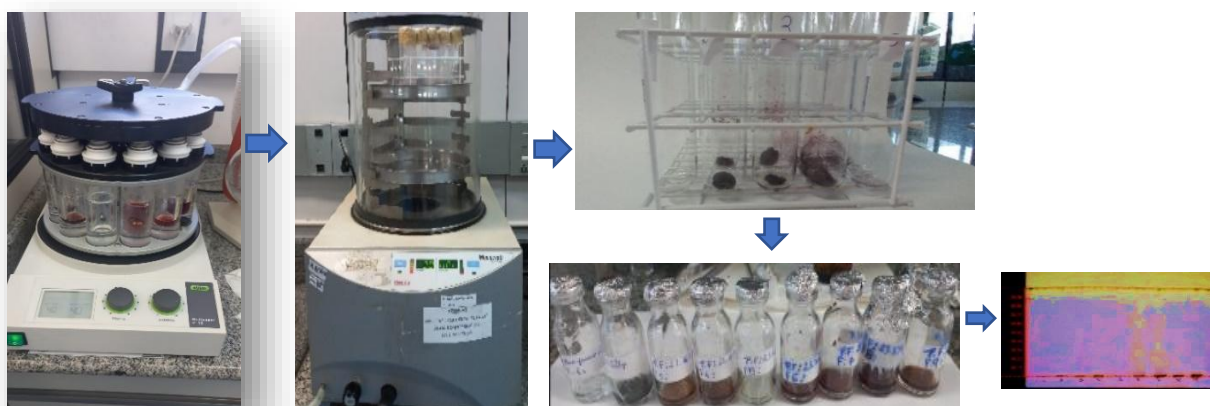
As frações foram analisadas em placas cromatográficas reveladas com luz ultra violeta (UV) 254 e 365 nm e também com DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila), para identificar a atividade antioxidante, foi utilizado placas de fase normal F₂₅₄ e reversa (C₁₈).

Figura 22. Parâmetros do fracionamento do extrato etanólico. Placa cromatográfica C18, comprimento de onda (λ = UV 366 nm) com o método selecionado (A). Cromatógrafo *flash* Isolera (B), (C) corante injetado e (D) 9 frações coletadas. **Fonte:** Autor, (2023).



Fonte: Autor, (2023).

Figura 23. Sequência de procedimento para concentração das frações obtidas.



Fonte: Autor, (2023).

Os extratos etanólicos e hidroetanólico da casca dos frutos foram analisados por cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), método de separação qualitativo mais aplicado na separação de misturas com substâncias de diferentes polaridades. Seguindo orientações de Collins e colaboradores (2010), foi utilizado cromatoplasas revestida com vidro, alumínio com fase estacionária de sílica gel, com a fase reversa C₁₈ figura 27 (A) e (B) fase normal F₂₅₄.

Foram testados reveladores químicos e físicos com dois sistemas de separação fase móvel de melhor separação de misturas dos corantes foi: AcOEt/Ác.Acético/Ác.Fórmico/Água (A:A:A:A) nas proporções (100:11:11:26 v/v) e n-BuOH/Ác.Acético/Água nas proporções (40:10:50 v/v), com fase estacionária normal conforme apresentado nos perfis dos extratos etanoico e hidroetanólico da casca dos frutos da *Renealmia* sp. As placas foram eluídas com a fase móvel selecionada, o extrato etanólico foi aplicado na fase estacionária reversa conforme apresentado na Figura 27 (A). Após o ensaio cromatográfico, as placas foram secas e foto documentadas no Reprostar 2 CAMAG, reveladas em UV (254 nm, 366 nm e visível), soluções reveladoras de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) e cloreto férrico indicado para a surgimento de manchas brancas indicação para substâncias com atividade antioxidantes.

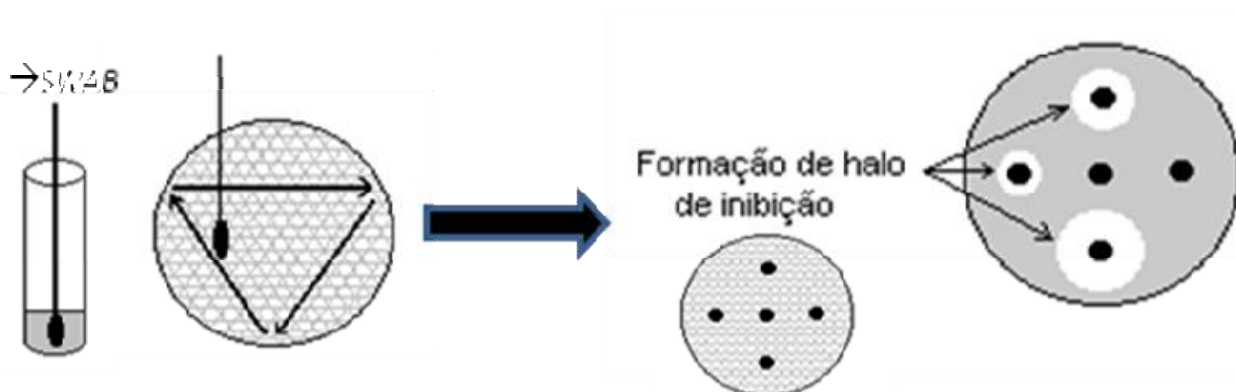
4.6 Ensaio antimicrobiano (Método: Difusão em disco)

Os extratos vegetais (A e B) foram avaliados quanto a sua atividade antimicrobiana frente aos seguintes microrganismos indicadores: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Burkholderia cepacia* ATCC 17759, *Serratia marcescens* ATCC 14756 e *Mycobacterium smegmatis* (não tem ATCC foi doação) cultivados N; m caldo Luria Bertani (LB) durante 24 h, diluídos com solução salina 0,9% de acordo com padronização do tubo 0,5 da escala de McFarland (0,05 mL de cloreto de bário a 1% + 9,95 mL de ácido sulfúrico a 1%).

Para avaliação da atividade antimicrobiana, foi utilizada a técnica de difusão em ágar/disco Kirby-Bauer, onde as bactérias indicadoras padronizadas foram semeadas com o auxílio de swab estéril em placa de Petri contendo meio Ágar Muller-Hinton. Discos de papel (6 mm) foram embebidos com 30 µL de cada extrato solubilizados em metanol na concentração de 100 mg/mL e deixados evaporar por 24 h. Como controle positivo foi utilizado amoxicilina 10 mg/mL. Os discos foram colocados nas placas previamente semeadas com os microrganismos testes padronizados. As placas foram armazenadas em geladeira *overnight* e então incubadas a 35 °C / 37 °C por 24 h a 48 h para bactérias e leveduras respectivamente. Após o período de incubação foi avaliado a formação do

halo de inibição. O ensaio foi realizado no Laboratório de Microbiologia do CBA (Centro de Bionegócios da Amazônia).

Figura 24. Método de antibiose por difusão em ágar.



Fonte: Autor, (2023).

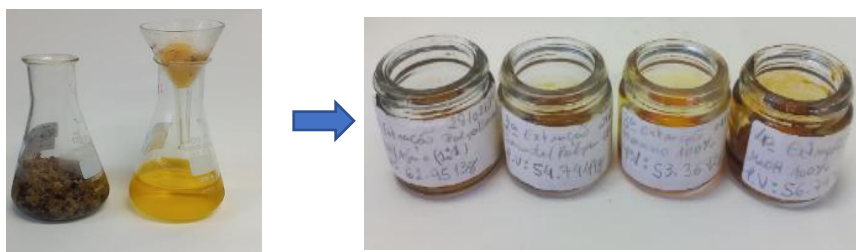
4.7 Análise espectroscopia UV-Vis dos extratos e frações

O ensaio foi realizado por método espectroscópico UV-Vis com absorvância de 200 – 600 nm, com os extratos da tabela 2 (1 e 7) e com o extrato 3, início da varredura de 200 a 800 nm, extrato (1) tabela 3 e reunião das frações (5-9) do fracionamento do extrato etanólico (tabela 2), cromatografia *flash*, casca dos frutos. Os extratos 3 da tabela 2 e o extrato com absorvância de 200 - 800 nm, conforme demonstrado na figura 26. O resultado apresentado demonstrou indicativo para substâncias com dupla conjugadas com possibilidade de possível molécula de corante. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia LABB-INPA, as amostras foram pesadas com massas iguais na mesma concentração, sendo, 2 mg de material solubilizado com 1 mL de solvente orgânico de acordo com solubilidade do extrato, na sequência as amostras foram armazenadas no poço da placa acrílica para UV-Vis, o volume aplicado, foi de 200 µL, o ensaio foi realizado em triplicata, iniciando varredura com comprimento de onda a partir de (λ : 200 - 600 nm) e (λ : 200 - 800 nm) no eixo horizontal. Os espectros com resultados encontram-se na figura 26 com resultados preliminares respectivamente (Torres et al, 2016).

4.8 Extrato da polpa com as sementes por técnica de maceração da *Renealmia* sp.

Por ter apresentado atividade microbiana e também por ter pigmento amarelo, com características de carotenoides e também por ter ou compostos aromáticos para uso como corante natural. Foi realizado uma nova extração com o material vegetal polpa com as sementes, por um período de 24 horas, método de maceração a frio, foram realizadas no total quatro extrações com sistemas de solventes diferentes, iniciou-se com EtOH/Água 1:1, EtOH 100%, Hexano p.a e por fim MeOH. Os extratos foram concentrados em rotaevaporador e armazenados para posterior ensaios cromatográficos ccdc.

Figura 25. Extratos da polpa com as sementes da *Renealmia* sp.



Fonte: Autor, (2024).

4.9 Análise por Ressonância Magnética Nuclear ^1H (RMN) de três extratos de *Renealmia* sp.

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma técnica analítica usada para determinar a estrutura molecular e a composição química de uma amostra, atua analisando a interação dos núcleos em rotação com sobre forte campo magnético. Os três extratos brutos de *Renealmia* sp, foram submetidos a análise de RMN de ^1H com supressão de água deuterada, os extratos de *Renealmia* sp. hidroetanólico polpa com sementes e folhas secas (tabela 2) e metanólico casca dos frutos (tabela 3), foram solubilizados com 600 μL de D_2O de marca CIL Cambridge (+ 0.01% DSS-04 DLM (D_2O)). De cada amostra foram pesados 10 mg, sendo necessário filtrar os extratos da casca do fruto e da folha seca. Todos os extratos foram analisados por RMN de ^1H (300 MHz,

Fourier-300, Bruker), os espectros foram processados no programa TopSpin 3.7.0. o resultado será apresentado na discussão.

4.9.1 Perfil cromatográfico dos extratos submetidos a análises por RMN.

Os extratos foram submetidos análise cromatográfica por CCDC. Os extratos das hidroetanólico das folhas secas e das cascas dos frutos foram solubilizados com MeOH, enquanto o hidroetanólico das polpas com sementes foi solubilizado com AcOEt. Fase movel A:A:A:A e estacionária fase normal, as amostras foram aplicadas com uso do Aplicador Automático TLC CAMAG. 20 µL do extrato, foi aplicado na placa. Após eluição foi revelada no Reprostar CAMAG UV 254 e 366 nm e solução reveladora de DPPH, afim de verificar atividade antioxidante.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Cálculo do rendimento dos extratos

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{(\text{PCC} - \text{PSC})}{\text{MF}} \times 100$$

Onde:

a) Extrato hidroetanólico (1:1)

PCC = peso do frasco com extrato da casca do fruto (g) = 76,3393 g

PSC = peso do frasco vazio = 76,3058 g

MF = massa do material fresco = 4,0087 g

Resultado: Cálculo do rendimento do extrato hidroalcólico = 0,836%.

Os rendimentos dos sete extratos brutos obtidos por método de maceração exaustiva a temperatura ambiente variaram de 0,836 a 14,877% conforme exposto na (Tabela 1). Os melhores rendimentos obtidos ocorreram nas folhas *in natura* e secas apresentaram maior massa ambas os sistemas de extração hidroetanólico. Nas cascas dos frutos a diferença entre o extrato hidroetanólico (2,282%) e etanólico (2,434%) foi de 0,152%. O rendimento obtido nas extrações da polpa com sementes foi de 1,821%. Para pseudocaule e rizoma o rendimento foi menor que 1%. Em todos os extratos de *Renealmia* sp. da primeira coleta, utilizou-se solução extratora hidroetanólica (1:1) com exceção para os extratos 2 extraído com etanol (100%) e o extrato 7 com a proporção (7:3).

Tabela 1. Extratos obtidos da primeira coleta de *Renealmia* sp.

MATERIAL	PCC	PSC	MF	REND%
1 - hidroetanólico das cascas dos frutos (1:1)	76,3393	76,3058	4,0087	0,836%
2 - etanólico 100% das cascas dos frutos	79,0514	78,9614	4,0048	2,247%
3 - hidroetanólico das polpas com sementes (1:1)	51,1331	50,9512	10,0105	1,817%
4 - hidroetanólico das folhas <i>in natura</i> (1:1)	54,8900	50,1018	50,2910	9,521%
5 - hidroetanólico do pseudocaule (1:1) liofilizado	35,9520	35,8410	30,1200	0,369%
6 - hidroetanólico dos rizomas (1:1) liofilizado	81,1653	81,0300	50,9917	0,265%
7 - hidroetanólico das folhas secas (7:3) liofilizado	151,4823	138,0921	90,0029	14,878%

Legenda:

PCC = peso do frasco com extrato da casca do fruto;

PSC = peso do frasco vazio;

MF = massa do material fresco.

Avaliação das metodologias de extração aplicadas às diferentes partes da *Renealmia* demonstrou que a eficiência da obtenção de pigmentos está diretamente associada ao tipo de solvente, à polaridade das frações e à parte da planta utilizada. Os resultados obtidos na comparação entre folhas, casca dos frutos e polpa com sementes evidenciam diferenças marcantes na composição química, observado em *Renealmia alpinia* por Luna-Guevara et al (2016). Segundo Oliveira et al (2016), a extração com o sistema hidroetanólico 70% apresentou melhor resultado de extração, bem como maior rendimento em praticamente todos os métodos de extração, por ser mais seletivo para extração dos metabolitos secundários.

Segundo Luna-Guevara et al (2016) os frutos de *Renealmia* sp. apresentaram maior concentração de pigmentos carotenoides e fenólicos, enquanto as folhas exibiram compostos com menor intensidade a cor, porém relevantes em termos de bioatividade. A diferenciação na composição química entre folhas, casca de frutos e polpa de *Renealmia* sp. foi identificada neste estudo de que encontrou perfis distintos de fenólicos e pigmentos em diferentes partes de *R. alpinia*.

Além disso, Negrelle (2015) ressalta a grande variabilidade fitoquímica dentro do gênero *Renealmia* indicando que diferentes partes da planta podem concentrar diferentes tipos de metabólitos (como fenólicos, diterpenos) dependendo da espécie e do órgão vegetal. Por exemplo, certas espécies de *Renealmia* sp, têm altos teores de labdanos diterpênicos e compostos fenólicos.

Segundo Negrelle (2015) e Gómez-Betancur; Benjumea (2014), os povos originários tribos indígenas Emberá-Katío, pertencentes às regiões de Antioquia e Chocó, na Colômbia, utilizam *Renealmia alpinia* para fins medicinais. O estudo de Gómez-Betancur; Benjumea (2014) foi o primeiro relato a descrever a pinostrobina (metabólito secundário da classe dos flavonoides) na espécie *Renealmia alpinia* e comprovar suas propriedades *in vitro* contra o veneno de *Bothrops asper*. O estudo

verificou a capacidade inibitória da pinostrobin, o principal composto do extrato diclorometânico da *R. alpinia*, sobre os efeitos tóxicos do veneno de *Bothrops asper* por meio de modelos *in vitro* e *in vivo*. Constatou-se também que este favonoide foi o responsável pela atividade analgésica e anti-inflamatória do extrato de *Renealmia alpinia*. Além disso, os dados deste estudo demonstram que a pinostrobin pode atenuar alguns danos teciduais locais induzidos pelo veneno devido a efeitos hemorrágicos.

Tabela 2. Extratos obtidos da segunda coleta de *Renealmia* sp.

MATERIAL	PCC	PSC	MF	REND %
Metanólico das cascas dos frutos	33,9110	33,8270	4,0018	2,099%
Hexânico das cascas dos frutos	26,7803	26,7007	4,0013	1,989%

Na segunda coleta do material vegetal utilizado foram coletadas apenas as cascas dos frutos *in natura*. A extração ocorreu com dois solventes, hexano e metanol p.a, também por método de maceração exaustiva, o rendimento obtido dos extratos, foi de 2,099% metanol enquanto o hexano 1,989% extraído de 4,0018 g de material fresco (Tabela 2). O extrato metanólico apresentou maior rendimento com diferença de menos 1%.

Devido a escassez de estudos com o gênero *Renealmia* sp. foi necessário comparar os resultados obtidos considerando-se extratos de diferentes gêneros e espécies visando a obtenção de uma discussão mais ampla e robusta.

Avaliação das metodologias de extração aplicadas as diferentes partes da *Renealmia* demonstrou que a eficiência da obtenção de pigmentos está diretamente associada ao tipo de solvente, à polaridade das frações e à parte da planta utilizada. Os resultados obtidos na comparação entre folhas, cascas dos frutos e polpas com sementes evidenciam diferenças marcantes na composição química, observado em *Renealmia alpinia* por Luna-Guevara et al, (2016).

A avaliação das propriedades antimicrobianas dos extratos vegetais empregados como corantes naturais tem ganhado destaque devido ao interesse crescente por substitutos aos corantes sintéticos e por compostos capazes de agregar valor funcional a alimentos e bioprodutos. Os resultados obtidos para os extratos avaliados demonstram

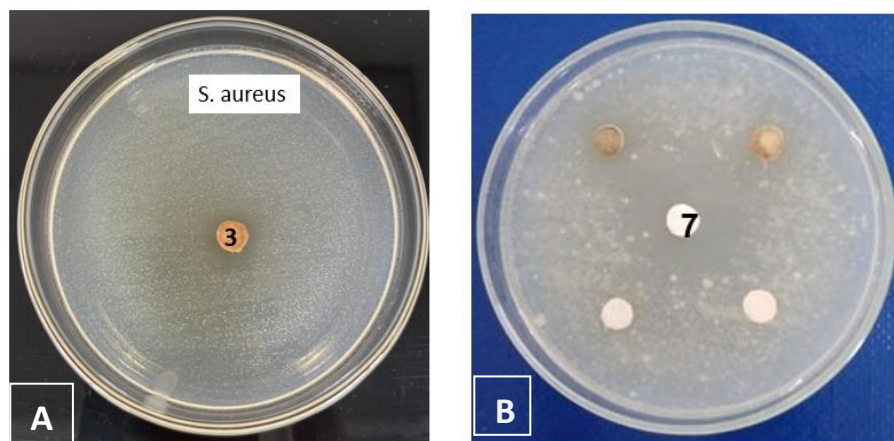
que substâncias pigmentantes frequentemente associadas a flavonoides, antocianinas, carotenoides e outros metabólitos secundários podem apresentar atividade antimicrobiana relevante, corroborando achados já descritos na literatura (Rodrigues et al, 2020; Silva et al, 2019).

É relevante destacar que o uso de extratos pigmentados como corantes naturais apresenta dupla vantagem: além de conferir coloração estável, pode agregar propriedades bioativas como ação antioxidante e antimicrobiana, aumentando seu potencial de aplicação em alimentos e bioprodutos (Kinupp & Lorenzi, 2014; Santos et al, 2021).

5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos por difusão em disco.

Os extratos hidroetanólicos das polpas com sementes (amostra 3) (Tabela 3), apresentaram atividade antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* (Sa). Os extratos apresentaram coloração na cor amarelo, um possível indicativo da presença de carotenoides. Já o extrato hidroetanólico das folhas secas (amostra 7) apresentou atividade sobre *Enterococcus faecalis* (Ef) e *Mycobacterium smegmatis* (Ms). O extrato das folhas secas apresentou coloração marrom, indícios de perda da clorofila, devido as atividades apresentadas poderá ser objeto de estudo fitoquímica para caracterizar as substâncias antimicrobianas.

Figura 26. Placa dos extratos (A) hidroetanólico polpa com as sementes e (B) hidroetanólico folhas secas.



Segundo Ribeiro et al (2014), *Staphylococcus aureus* é uma bactéria responsável por ocasionar uma ampla variedade de doenças infecciosas. A preocupação está relacionada principalmente com os isolados resistentes à meticilina (MRSA) que, tradicionalmente eram limitados aos hospitais.

Tabela 3. Halos de inibição (cm) observados para as amostras testadas da primeira coleta

Amostras	Microrganismos testados – CEPAS ATCC'S										Diâmetro do disco 0,65 cm
	Pá	Ms	Ef	Ca	Ec	Kp	Bk	Bc	Sm	Sa	
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,2	
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7	-	1,2	2,0	-	-	-	-	-	-	-	

Legenda: 1 - Extrato EtOH/H₂O das cascas dos frutos; 2 - extrato EtOH das cascas dos frutos; 3 - extrato EtOH/H₂O das polpas com sementes; 4 - extrato EtOH/H₂O das folhas *in natura*; 5 - extrato EtOH/H₂O dos pseudocaules; 6 - extrato EtOH/H₂O dos rizomas; 7 - extrato EtOH/H₂O das folhas secas. Pa: *Pseudomonas aeruginosa*; Ms: *Mycobacterium smegmatis*; Ef: *Enterococcus faecalis*; Ca: *Candida albicans*; Ec: *Escherichia coli*; Kp: *Klebsiela pneumoniae*; Bk: *Burkholderia cepacia*; Bc: *Bacillus cereus*, Sm: *Serratia marcescens*, Sa: *Staphylococcus aureus*.

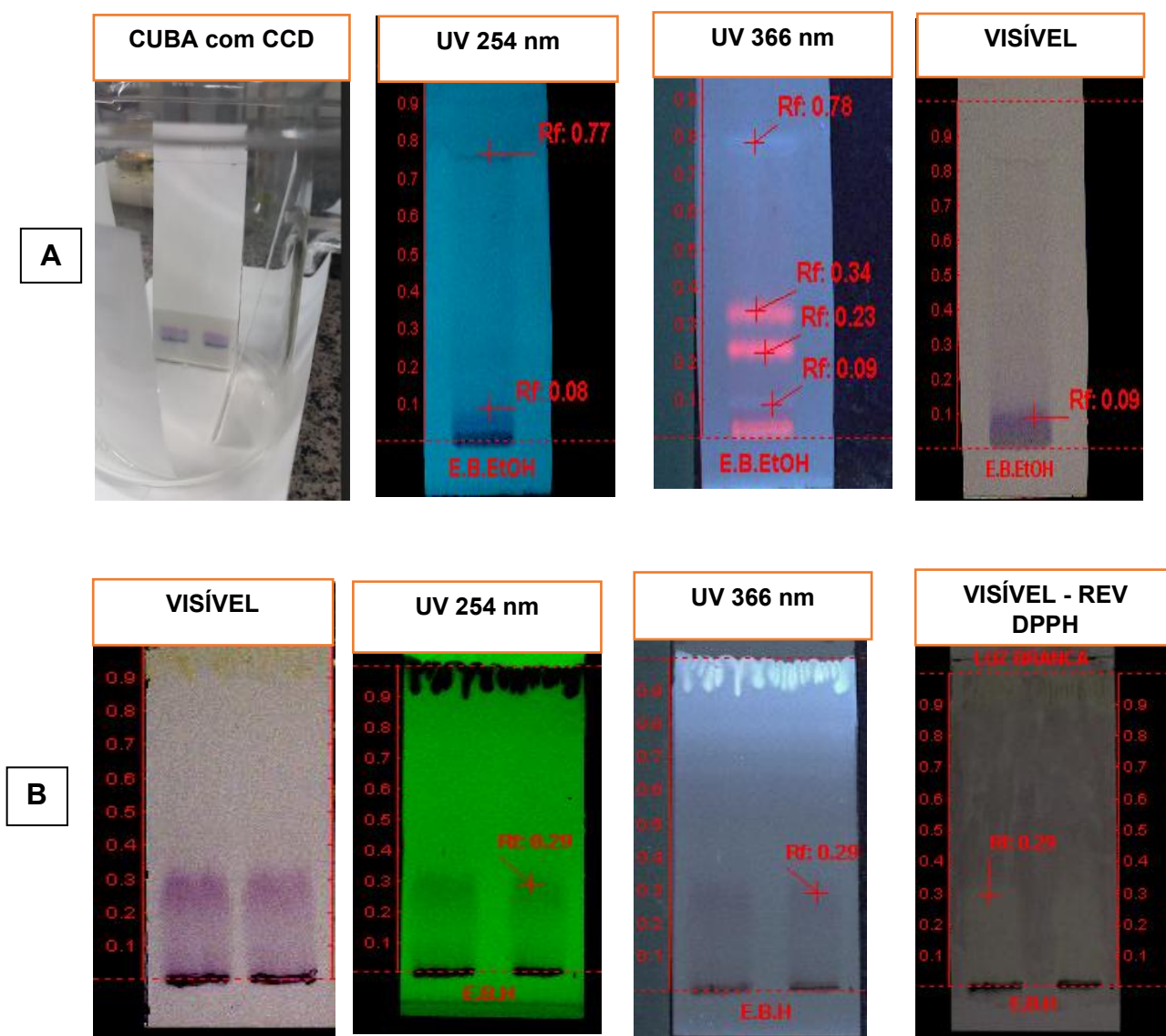
Diversos autores relatam que a atividade antimicrobiana mais expressiva das espécies de *Renealmia* está associada principalmente aos óleos essenciais e não aos extratos hidroalcoólicos. Noriega et al (2016), ao analisarem o óleo essencial das folhas de *R. thyrsoides* identificaram altos teores de compostos voláteis como β -pineno, α -phellandreno e terpinoleno, que demonstraram significativa atividade contra bactérias como *E. coli* e *P. aeruginosa*. Resultados semelhantes foram observados por Noriega et al (2018), que investigaram o óleo essencial dos rizomas da mesma espécie e relataram inibição bacteriana associada à presença de monoterpenos e sesquiterpenos.

5.3 Perfil cromatográfico (CCDC) preliminar dos extratos brutos da casca dos frutos

O extrato etanólico aplicado na cromatoplaça fase reversa e analisado no comprimento de onda UV 254 nm apresentou manchas azuis, com os Rf's 0,08 e 0,77 indícios de flavonoide (Figura 27).

A presença de fluorescência amarelada a verde sob UV-366 nm após o tratamento com NP/PEG indica fortemente a ocorrência de flavonas e flavonóis glicosilados, metabólitos já descritos para o gênero *Renealmia* em diferentes órgãos vegetais (Pabon et al, 2019).

Figura 27. Perfil cromatográfico CCDC dos extratos etanólico e hidroetanólico, fase estacionária reversa (A) e fase normal (B).



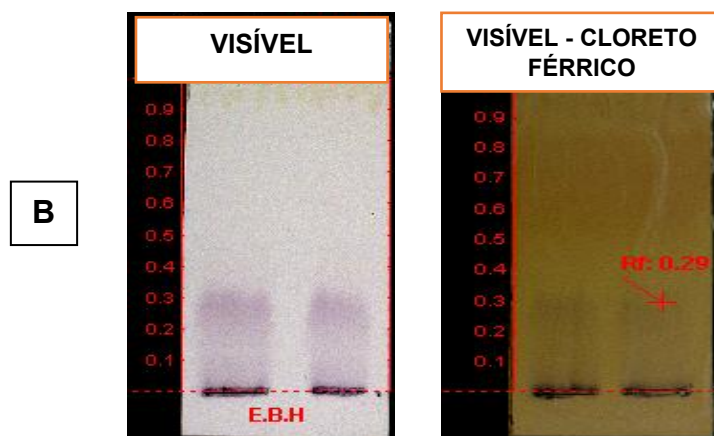
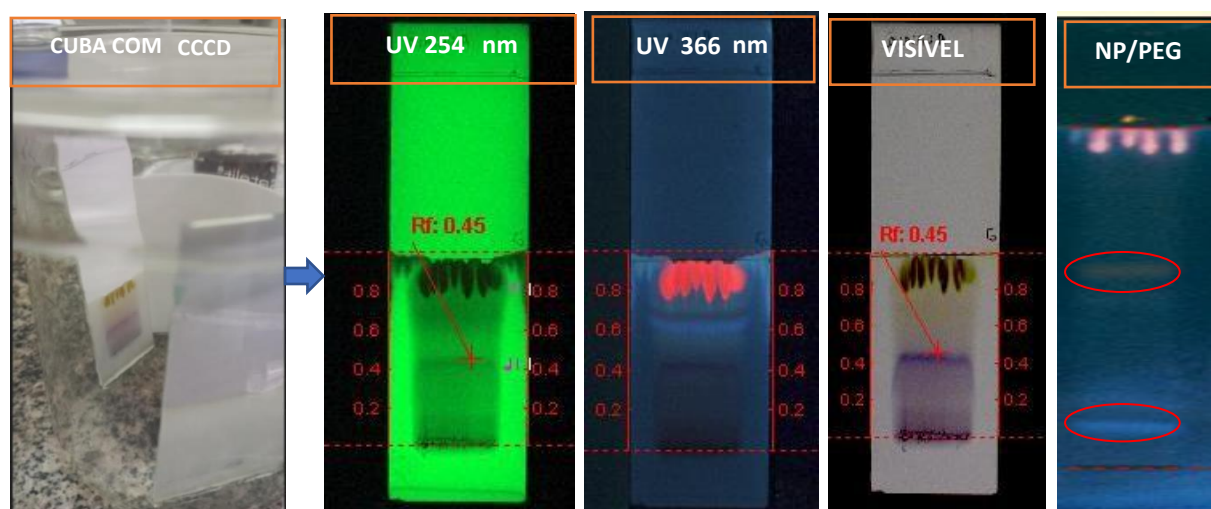


Figura 28. Cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) do extrato metanólico casca dos frutos, cuba com CCDC, fase estacionária normal, fase móvel A:A:A:A (AcOEt/Ác.Acético/Ác.Fórmico/Água) (100:11:11:26) volume aplicado 5 μ L.



Os resultados obtidos a partir do extrato metanólico das cascas dos frutos (Figura 28) apresentaram substâncias com intensa coloração roxa quando revelado nas luzes visível, UV 254 nm e 365 nm com o mesmo Rf 0,45 (fator de retenção). Esses resultados indicam presença de compostos fenólicos ou antocianinas no extrato vegetal o que caracteriza como corante. Foi observado que o extrato das cascas dos frutos apresentou mancha azul com Rf 0,35 e amarelo com Rf 0,75 quando revelado com NP/PEG característico de flavonoides (Figura 28).

A princípio foi observado um aumento da intensidade dos cromóforos o que sugere a presença de substâncias com anel aromático revelado na luz visível que apresenta o R_f de 0,45. Observou-se também forte indício de substância com cromóforos no extrato metanólico casca dos frutos da *Renealmia* sp. Os resultados mostraram atividade antioxidante após revelado com DPPH com surgimento de mancha com cor amarela sobre o fundo purpura (Figura 28) e atividade microbiana para três cepas *Sa*, *Pá* e *Ef*. Conforme resultado apresentado na (Tabela 6) os extratos brutos poderão ser testados como corante natural por ter revelado coloração roxa na luz visível característica de substâncias com cromóforos.

A presença de fluorescência amarelada a verde sob UV-366 nm após o tratamento com NP/PEG indica fortemente a ocorrência de flavonas e flavonóis glicosilados, metabólitos já descritos para o gênero *Renealmia* em diferentes órgãos vegetais (Pabon et al, 2019).

5.4 Resultado do fracionamento do extrato EtOH 100% das cascas dos frutos por cromatografia *flash*.

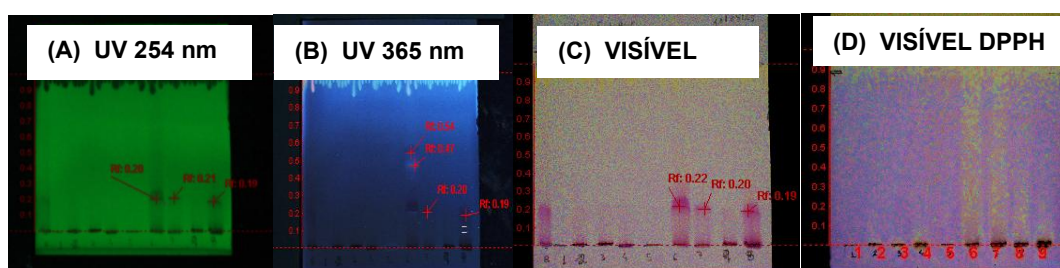
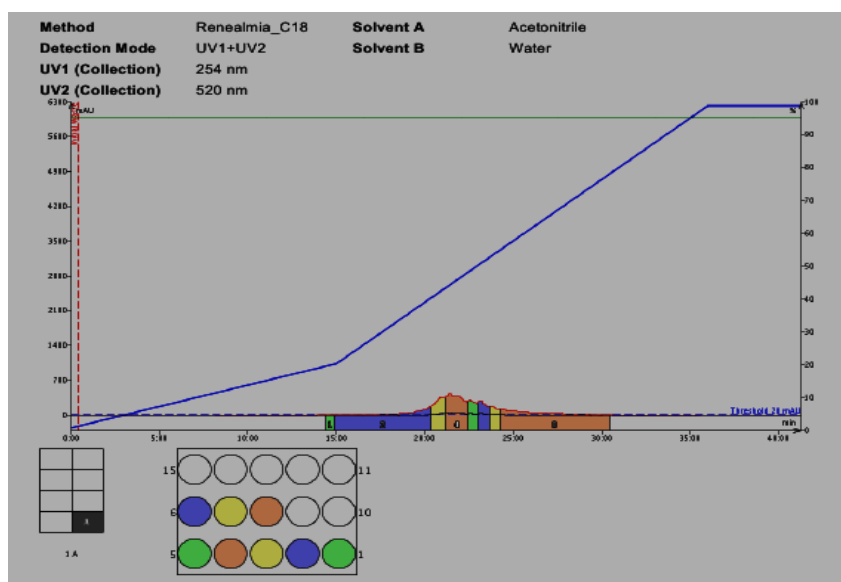
As nove frações resultantes do fracionamento quando analisadas por CCDC e revelados por reveladores físicos e químicos após eluição com a fase móvel Acetato de Etila/Ácido Acético/Ácido Fórmico/Água nas proporções (100:11:11:26), com fase estacionária normal, apresentaram coloração roxa com características de antocianinas (Figura 29). As frações apresentaram manchas quando reveladas em luz ultravioleta (λ : 254 e 365 nm) e na luz visível.

Nas frações 5, 6, 7, 8 e 9 pode-se observar que, as substâncias absorvem nos comprimentos de onda (UV 254 e 366 nm) e visível nos R_f 's 0,19, 0,20 e 0,22 apresentaram coloração roxa, o que indica a presença de metabólitos com cromóforos e cor visível para aplicação de corantes. Nas frações, também foi possível observar indícios de atividade antioxidante, quando as placas foram reveladas com solução de DPPH.

A extração com etanol tende a favorecer a solubilização de pigmentos polares, como flavonoides, antocianinas e taninos condensados, classes frequentemente

reportadas em espécies da família Zingiberaceae, à qual *Renealmia* sp. pertence (Kamenik et al, 2020).

Figura 29. Parâmetros do fracionamento por cromatografia *Flash* e CCDC das frações coletadas.



5.5 Ensaio de atividade antioxidante

De todos os extratos testados apenas o extrato hidroetanólico das cascas dos frutos (extrato 01) apresentou atividade moderada frente ao ensaio de Fe^{3+} /fenantrolina com equivalência de 3 quando testado na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 4). Conforme a tabela 5 este resultado a atividade antioxidante pode ser considerada moderada quando comparada ao antioxidante padrão, ácido ascórbico. Já no ensaio sobre o DPPH, nenhum dos extratos avaliados apresentou atividade antioxidante.

A atividade pode estar relacionada com a presença de substâncias fenólicas que podem ser encontradas em plantas. Nos extratos avaliados, essas substâncias podem ser responsáveis pela atividade quelante de íons metálicos (Akin; Saki, 2019).

Tabela 4. Análise da atividade antioxidante dos extratos brutos de *Renealmia* sp.

Extrato	Método usando DPPH•			Método usando Fe ³⁺		
	ΔABS ₅₁₇	[AA] _{eq}	Equiv.	[Fe ²⁺]	[AA] _{eq}	Equiv.
01 - EtOH/H₂O das casca dos frutos	0,056 ±0,0	0,546 ±0,06	9,233 ±0,9	0,593 ±0,13	1,742 ±0,39	2,96 ±0,58
02 - Aquoso das folhas <i>in natura</i>	0,006 ±0,0	-0,213 ±0,01	-23,637 ±2,0	0,030 ±0,0	0,060 ±0,06	182,31 ±152,5
03 - EtOH/H₂O das polpas com sementes	0,024 ±0,01	0,067 ±0,14	5,978 ±4,7	0,067 ±0,0	0,170 ±0,09	38,11 ± 25,2
04 - EtOH dos rizomas	0,011 ±0,0	-0,138 ±0,02	-36,964 ±5,9	0,048 ±0,02	0,115 ±0,07	77,81 ± 78,7
05 - EtOH/H₂O dos pseudocaules	0,010 ±0,0	-0,148 ±0,01	-34,095 ±3,47	0,032 ±0,02	0,065 ±0,08	-24,99 ±120,08
06 - EtOH/H₂O das folhas <i>in natura</i>	0,007 ±0,0	-0,193 ±0,03	-26,394 ±4,15	0,077 ±0,04	0,200 ±0,12	31,86 ±16,67

Tabela 5. Escala para interpretação dos resultados da atividade antioxidante (Martins, et al, 2014).

Atividade antioxidante	
Menor que 1,0	Muito ativo
Entre 1,1 a 2,0	Ativo
Entre 2,1 a 3,0	Atividade moderada
Maior que 3,1	Inativo

- Curva de calibração com ácido ascórbico com DPPH e Fe³⁺

Figura 30. Curva de calibração com ácido ascórbico com DPPH.

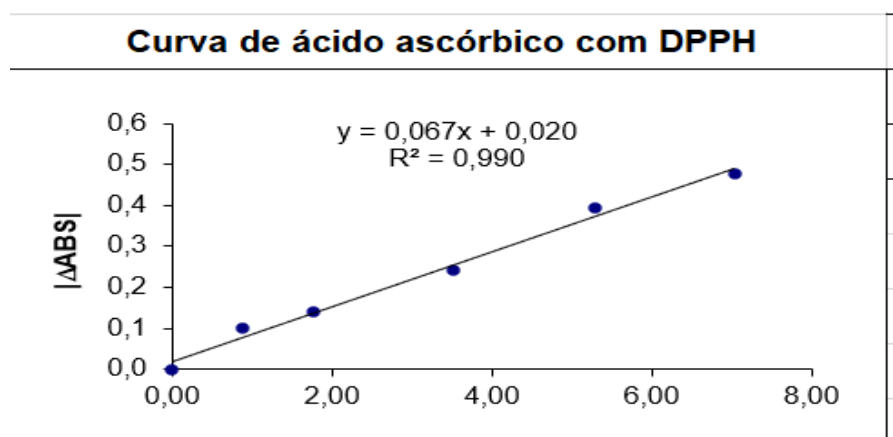
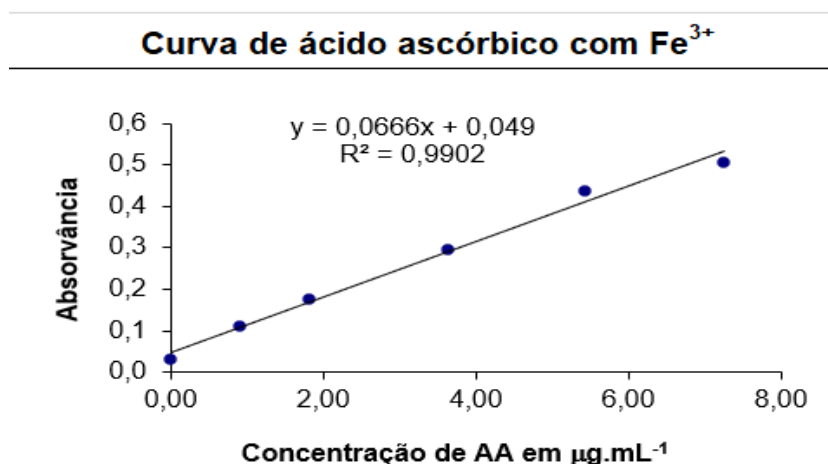


Figura 31. Curva de calibração com ácido ascórbico com Fe^{3+}



5.6 Análise por espectrofotômetro UV-Vis leitura de (λ : 200 a 800 nm) dos extratos brutos selecionados e frações reunidas.

Os espectros de absorção na região de ultravioleta-visível (UV-Vis) apresentados abaixo, evidenciam a presença características de substâncias com duplas ligações conjugadas com absorbância verso comprimento de onda na faixa de (λ : 254 nm), no eixo horizontal o que é indicação para substância com corante (Linhares et al, 2023).

Os extratos submetidos as análises foram os seguintes: **a)** Hidroetanólico casca dos frutos, **b)** Hidroetanólico polpa e sementes, **c)** Hidroetanólico folha seca, ambos inseridos na tabela 1, **d)** Metanólico casca dos frutos, **e)** Hexânico casca dos frutos ambos (tabela 2), e **f)** Frações reunidas (5-9) do fracionamento por cromatografia *flash* (figura 29).

De acordo com os espectros, dois extratos apresentaram absorbância abaixo da faixa de 220 nm, extrato hidroetanólico casca do fruto e extrato hexânico casca dos frutos. Os extratos que apresentaram o máximo de absorbância nas faixas (270 – 280 nm), foram o extrato hidroetanólico das polpas com sementes (tabela 2) e extrato metanólico das cascas dos frutos (tabela 2). Os extratos que apresentaram melhores resultados com indícios de cromóforos para obtenção do corante foram hidroetanólico,

etanólico e metanólico das cascas dos frutos e metanólico das polpas com sementes. Os espectros apresentaram absorbância a partir 270 - 280 nm.

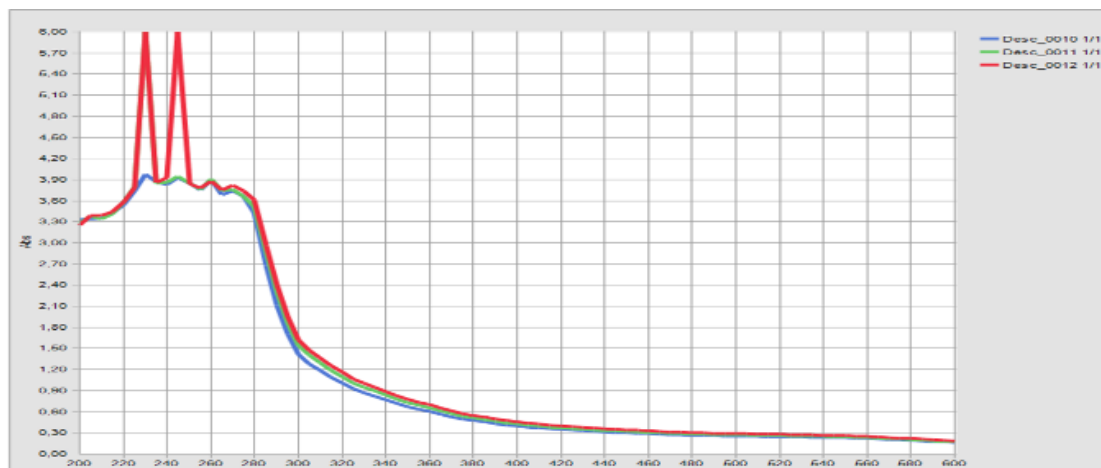
Recentemente Santos (2021 *apud* Soares et al, 2021), identificaram oito compostos principalmente fenólicos na espécie *R. petasites* Gagnep, extraídos de rizomas, caules e folhas. O fruto incluindo polpa, sementes e casca, também encontrou aplicação devido à alta capacidade antioxidante. Nos extratos de *Renealmia* sp, foi possível identificar atividade antioxidante nos extratos da casca dos frutos, folha seca e polpa com sementes.

A análise espectrofotométrica na faixa de 200 a 800 nm revelou diferenças marcantes entre os extratos hidroalcoólico, etanólico e metanólico das diferentes partes de *Renealmia* sp. (folhas, casca de frutos e polpa com sementes). Em todos os espectros, observou-se um padrão de absorção concentrado na região do ultravioleta (UV), entre 250 e 300 nm, o que indica a predominância de compostos fenólicos com estruturas aromáticas conjugadas, como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos. Resultados semelhantes foram descritos por Farag et al, (2024), que demonstraram que extratos vegetais apresentam forte absorção nessa faixa devido aos anéis benzênicos conjugados típicos de metabólitos fenólicos.

A literatura atual reforça que, embora a espectroscopia UV-Vis seja uma ferramenta valiosa para triagem inicial de compostos fenólicos e pigmentos, ela não é suficiente para caracterização definitiva. Trabalhos recentes recomendam o uso combinado com cromatografia líquida (HPLC-DAD ou LC-MS) para identificação e quantificação das antocianinas, flavonoides e taninos presentes (Kowalewski et al, 2023; Silva et al, 2019). Assim, os resultados obtidos indicam que *Renealmia* sp. possui composição rica em compostos fenólicos detectáveis por UV-Vis, mas a identificação exata dos pigmentos responsáveis pelas cores observadas demanda técnicas complementares.

Figura 32. Espectros de UV dos extratos (tabela 1 e 2), absorbância UV-Vis leitura de (λ : 200 a 600 nm: a), b), c), d), e) e f).

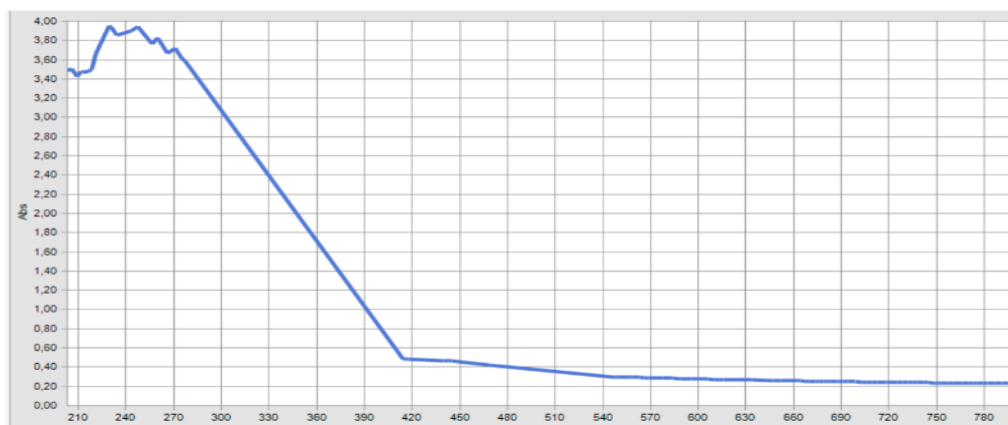
a) Extrato 1 hidroetanólico casca dos frutos (tabela 1).



Legenda: Extratos de *Renealmia* sp.

- a) Extrato 1 hidroetanólico das cascas dos frutos (tabela 1);
- b) Extrato 3 etanólico das polpas com sementes (tabela 1);
- c) Extrato 7 hidroetanólico das folhas secas (tabela 1);
- d) Extrato 1 metanólico das cascas dos frutos (tabela 2);
- e) Extrato 2 hexânico das cascas dos frutos (tabela 2);
- f) Frações reunidas 5-9 do fracionamento do extrato EtOH das cascas dos frutos (tabela 1).

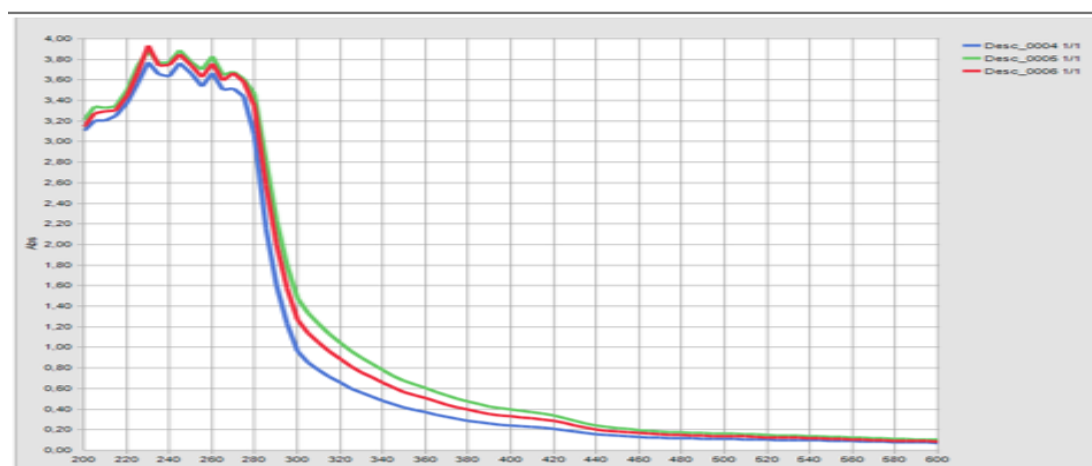
b) Extrato 3 etanólico polpa com as sementes (tabela 1) leitura de (λ : 200 a 800 nm).



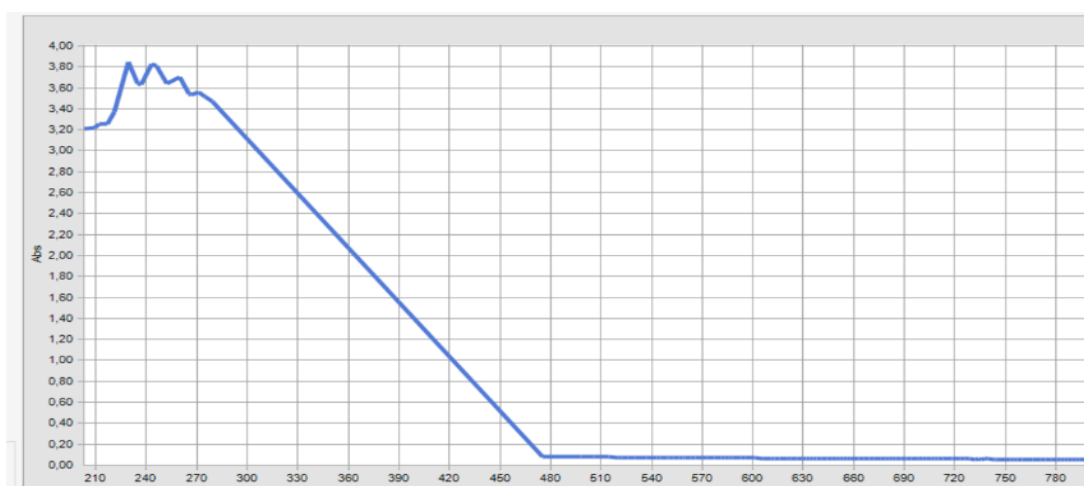
c) Extrato 7 hidroetanólico folhas secas o extrato apresentou atividade microbiana (tabela 1)



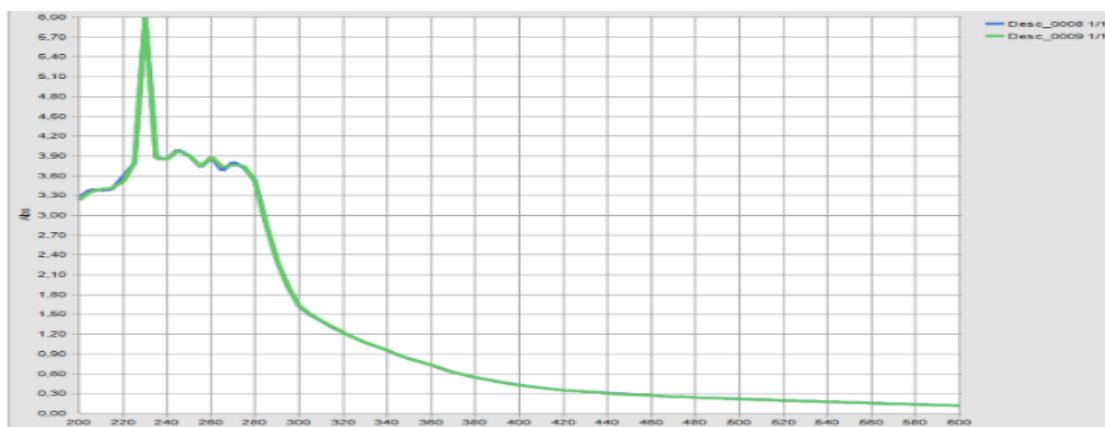
d) Extrato 1 metanólico casca dos frutos, apresentou atividade microbiana (tabela 2).



e) Extrato 2 hexânico da casca dos frutos, segunda coleta (tabela 2) absorvância (λ : 200 – 800 nm).



f) Frações reunidas 5-9 do fracionamento por cromatografia *flash*, extrato etanólico casca dos frutos.



5.7 Análise dos espectros de RMN de ^1H dos três extratos brutos de *Renealmia* sp.

Dos extratos analisados por RMN de ^1H , somente o extrato hidroetanólico das polpas com sementes apresentou sinais de hidrogênios aromáticos entre 6 a 8 ppm, indicando a presença de substâncias fenólicas ou aromáticas. Em todos os extratos não foram observados sinais de hidrogênios após essa região, como hidroxilas queladas, hidrogênios ligados a nitrogênio, ácidos carboxílicos ou aldeídos.

Na região entre 0 e 1 ppm não foi possível observar presença de metilas dos terpenos, talvez por serem mais hidrofóbicos, considerando que os extratos foram solubilizados com água deuterada (D_2O). Já entre 1,5 a 1,75 ppm, foi observada a presença de intensos sinais de hidrogênios metilênicos ou metínicos no extrato das folhas secas hidroalcóolico e também no extrato metanólico das cascas dos frutos. Já na região entre 1,75 a 3 ppm, foi possível observar hidrogênios com mais desproteção, relacionadas a presença de hidrogênios metilênicos próximos a heteroátomos e com sinais mais intensos no extrato de casca metanólico. Em ambos os extratos foi possível observar intensos multipletos nas regiões 3 a 4 ppm característicos de hidrogênios de açúcares.

Estudos metabólicos demonstram que as sementes de *Renealmia* sp contêm triglicerídeos e compostos terpenoides de cadeia longa, frequentemente observados entre δ 1,0 e 1,5 ppm (Kamenik et al, 2020).

As análises de RMN de ^1H indicam que o extrato metanólico das cascas dos frutos, hidroetanólico das polpas com sementes e hidroetanólico das folhas da *Renealmia* sp

possuem sinais de açúcares e de metoxilas, com sinais entre 3 e 4,5 ppm, mas destacando que os extratos hidroetanólico das folhas e metanólico das cascas dos frutos tem indicativo de metilas e o extrato hidroetanólico das polpas com sementes apresenta sinais de possível flavonoide, com sinais entre 6,6 e 7,4 ppm. Estes resultados estimulam a continuação do trabalho a fim de isolar as substâncias presentes e que possam ser corantes com atividade antibacteriana ou antioxidante.

Tais resultados estão alinhados com o perfil químico já descrito para *Renealmia* spp., onde compostos fenólicos e flavonoides variam conforme o órgão vegetal (Pabon et al. 2019; Barradas et al, 2018).

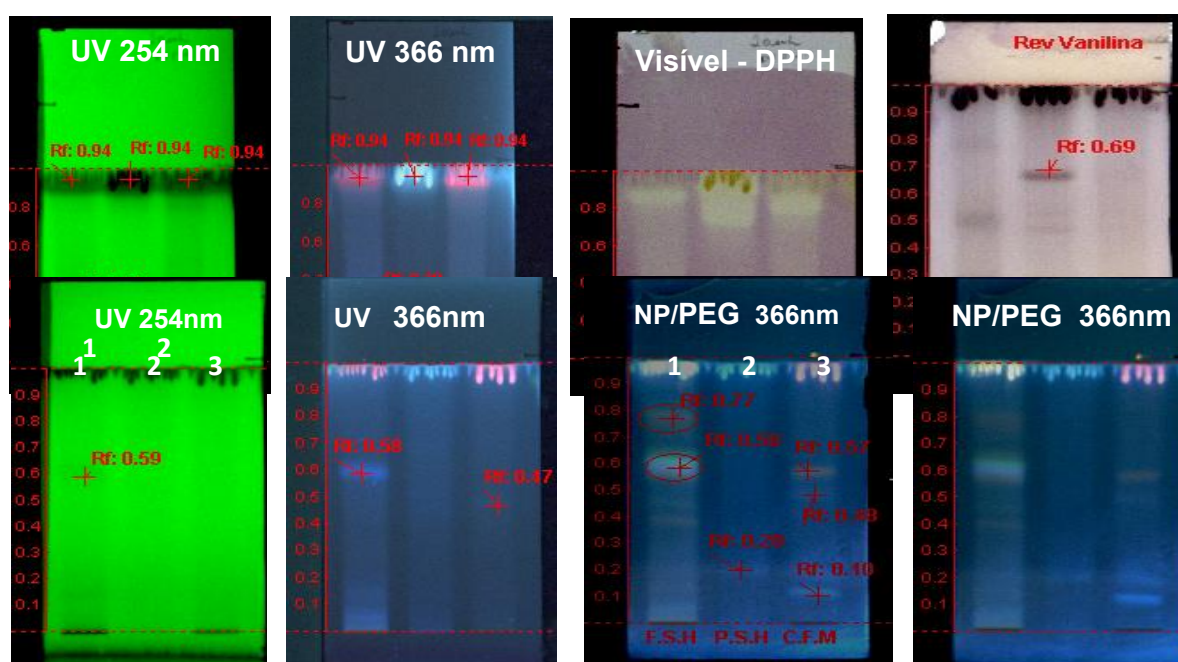
5.7.1 Perfil cromatográfico dos extratos submetidos análises de RMN ¹H.

Os extratos brutos analisados, apresentaram substâncias semelhantes após serem revelados com reveladores físicos e químicos com o comprimento de onda UV 254 nm, 366 nm, Luz visível DPPH, Vanilina e NP/PEG (Figura 33). No extrato hidroetanólico folha seca, observou-se manchas com substância na cor azul ao revelar com o comprimento de onda UV 366 nm. A partir do revelador NP/PEG que é específico para flavonoides, manchas revelaram-se com mais intensidade na cor azul e amarela com os (Rfs 0,30 e 0,90), UV 254 nm (Rfs. 0,30, 0,94) nos extratos (1 e 3) e 366 nm com os (Rfs. 0,18, 0,30 e 0,94). A partir do extrato da casca dos frutos, foi possível observar uma mancha com Rf 0,18 no UV 366 nm.

Após os extratos serem revelados com a solução reveladora de DPPH, observou-se que os três extratos apresentaram atividade antioxidante fundamental para o uso como corante natural que é capaz de inibir os radicais livres (Figura 33).

As substâncias que apresentaram coloração e atividade antioxidante com indicativos de substâncias polifenóis, entre os mais característicos, podem ser antocianinas devido sua coloração vermelho a roxa em frutas e vegetais (Guerrero et al, 2023). O estudo de Jimenez et al (2022) relatou a presença de antocianinas na casca da espécie *R. alpinia*. As flavonas, são as que proporcionam a coloração amarela em algumas frutas e os carotenoides que auxiliam na mudança da cor do vermelho para o verde (Jimenez, et al, 2022).

Figura 33. Perfil ccdd dos extratos brutos revelados em UV 254 e 366 nm, DPPH, Vanilina e NP/PEG.



Legenda: 1 - Extrato hidroetanólico das folhas secas;
2 - Extrato hidroetanólico das polpas com sementes;
3 - Extrato metanólico das cascas dos frutos.

5.7.2 Avaliação da atividade microbiana dos extratos tabela 6, por difusão em disco.

Os extratos brutos das cascas dos frutos apresentaram atividade para o microrganismo *Pseudomonas aeruginosa* (**Pa**), *Enterococcus faecalis* (**Ef**), *Staphylococcus aureus* (**Sa**), no extrato bruto casca dos frutos metanólico e *Pseudomonas aeruginosa* (**Pa**) e *Enterococcus faecalis* (**Ef**) no extrato bruto da polpa com as sementes metanólico. Foi possível observar indícios de flavonoides nas cromatoplasmas ao serem revelados com NP/PEG, apresentaram coloração azul, amarela nas bandas com os Rfs. 0,58, 0,77 no extrato hidroetanólico da folha seca Rf. 0,20, extrato hidroetanólico polpa e sementes e Rf. 0,10, 0,48, 0,57, extrato casca dos frutos metanólico. Com o uso do revelador Vanilina sulfúrica, surgimento de manchas lilás o

que caracteriza indícios de substâncias aromáticas nos três extratos demonstrados na (Figura 33).

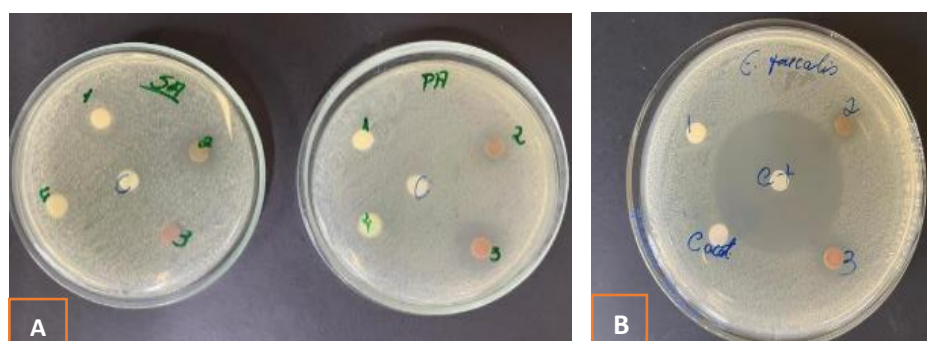


Figura 34. Placa de teste de antibiose dos extratos bruto da casca do fruto e polpa com as sementes (A) e (B).

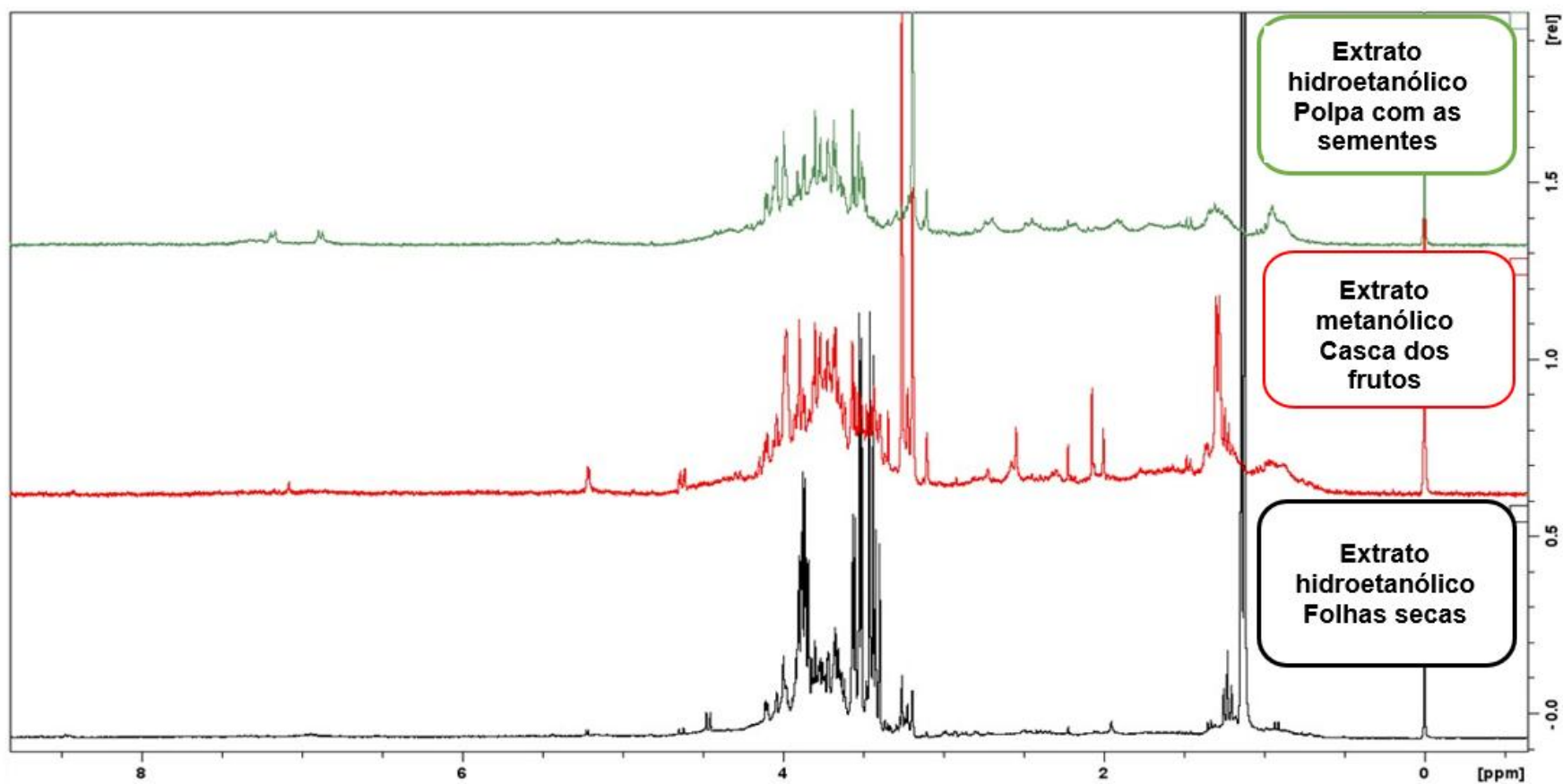
Tabela 6. Halos de inibição (cm) observados para as amostras testadas da segunda coleta

Amostras	Microrganismos testados – CEPAS ATCC'S										Diâmetro do disco 0,65 cm
	<i>Pa</i>	<i>Ms</i>	<i>Ef</i>	<i>Ca</i>	<i>Ec</i>	<i>Kp</i>	<i>Bk</i>	<i>Bc</i>	<i>Sm</i>	<i>Sa</i>	
1- Polpa com as sementes - EtOH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2- Casca dos frutos - MeOH	0,9	-	0,9	-	-	-	-	-	-	1,0	
3- Polpa com as sementes - MeOH	0,9	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-	

Legenda das 10 cepas testadas: *Staphylococcus aureus* (**Sa**) ATCC 25923, *Streptococcus pneumoniae* (**Sp**) (ATCC 49619, *Enterococcus faecalis* (**Ef**) ATCC 29212, *Escherichia coli* (**Ec**) ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* (**Kp**) ATCC 700603, *Burkholderia cepacia* (**Bc**) ATCC 17759, *Serratia marcescens* (**Sm**) ATCC 14756, *Mycobacterium smegmatis* (**Ms**) e *Pseudomonas aeruginosa* (**Pa**).

Além da relevância cromática, a presença de fenólicos nos extratos também é consistente com propriedades funcionais frequentemente atribuídas a extratos de *Renealmia* sp, como atividade antioxidante e antimicrobiana, amplamente associadas aos flavonoides e taninos detectados por CCDC (Ghosh; Rane; Nayak, 2021). Portanto, o perfil observado reforça o potencial da casca e polpa com as sementes do fruto como fonte de corantes naturais, com possível aplicação nas indústrias alimentícias, cosmética e biotecnológica.

Figura 35. Espectros de ^1H RMN em D_2O extrato metanólico casca dos frutos, hidroetanólico polpa com as sementes e folhas secas da *Renealmia* sp.



6 CONCLUSÕES

Os extratos hidroetanólico e metanólico da casca dos frutos, a polpa com as sementes e o extrato hidroetanólico das folhas secas de *Renealmia* sp. demonstraram potencial para uso como corantes.

Os extratos etanólicos da folhas secas de *Renealmia* sp. apresentaram potencial antimicrobiano, *in vitro*, contra as bactérias *Mycobacterium smegmatis* e *Enterococcus faecalis*.

O extrato hidroetanólico das cascas dos frutos de *Renealmia* sp. apresenta potencial como antioxidante natural.

A espécie *Renealmia* sp. é uma planta alimentícia não convencional, nativa da Amazônia e é promissora para a obtenção de corantes naturais e substâncias com aplicação biotecnológicas, como antioxidantes e antimicrobianas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEROUMAND, A. *et al.* Um artigo de revisão sobre propriedades e fontes de pigmentos comestíveis como biocolorantes naturais em alimentos e na indústria alimentícia. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, v. 1, pág. 71-78, 2011.
- AIN, P.; ALVAREZ, J. Structural barriers in mycobacteria: implications for drug penetration and resistance. **Microbiology Reviews**, v. 44, p. 112–130, 2020.
- AKC S., DE Sousa J., MF Lorençoni, JA de Castro, FV de Araújo Porto, IS Pessoa, M. Fronza. Atividade anti-inflamatória in vitro e in vivo e composição química de *Renealmia petasites* Gagnep Inflamofarmacologia, 29 (2) (2021), pp. 451 - 465, 10.1007/s10787-020-00786-4.
- AKIN, M.; SAKI, N. Antimicrobial, DPPH scavenging and tyrosinase inhibitory activities of Thymus vulgaris, Helichrysum arenarium and Rosa damascena mill. ethanol extracts by using TLC bioautography and chemical screening methods. **Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies**, 42(7–8), 204–216. 2019. <https://doi.org/10.1080/10826076.2019.1591977>. Acesso em: 25 jul. 2023.
- ALMEIDA, J. R. D. Identificação de flavonoides por cromatografia em camada delgada de alta performance (CCDAP): uma revisão de literatura. 2023.
- AL-SHABIB, N. A. *et al.* Rutin inhibits mono and multi-species biofilm formation by foodborne drug resistant Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Food control**, v. 79, p. 325-332, 2017.
- ALVERGA, P; PALHARES P. *et al.* Efeitos da sucessão florestal na riqueza e composição de Zingiberales em um fragmento florestal no sudoeste da Amazônia. **Revista Brasileira de Botânica**. v. 44, p. 491-502, 2021.
- ALVES M., R.; SANTOS L. *et al.* Determinação dos compostos fenólicos totais em cascas de frutas encontradas no cerrado brasileiro. desafios - **Revista**

- Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S.l.], v. 7, n. Especial, p. 26–33, 2020.
- AMÂNCIO, M. A. *et al.* Corantes naturais da floresta Amazônica: potenciais aplicações em células solares fotosensibilizadas por corante. **Matéria** (Rio de Janeiro), v. 26, 2021.
- ANDRÉ, T. *Zingiberaceae* in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB110707>>. Acesso em: 01 jul. 2023.
- ANUGRAHA, A. C.; THOMAS, Toji. A review on pigment producing soil fungi and its applications. **Asian Journal of Mycology**, v. 4, n. 1, p. 89-112, 2021.
- AYALA-SILVA, T., BEYL, CA, & DORTCH, G. Transformação mediada por *Agrobacterium rhizogenes* de estacas de *Asimina triloba* L. **Jornal de Ciências Biológicas do Paquistão: PJBS**, 10 (1), 132-136, 2007.
- BAI, LIN; LEONG-SKORNICKOVA, JANA; XIA, NIANHE. Typification of Adanson's generic name *Pacoseroca* (Zingiberaceae) and its implications. **TAXON**, v. 72, n. 1, p. 151-158, 2023.
- BARRADAS, C. *et al.* Phytochemical profile and antioxidant potential of *Renealmia* species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 226, p. 78–85, 2018.
- BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American journal of clinical pathology**, v. 45, n. 4_ts, p. 493-496, 1966.
- BICKLER, J. R.; DENTON, E. Purificação eficaz de canabinóides por cromatografia *flash*. In: Resumos de Trabalhos da Sociedade Química Americana. 1155 16th ST, NW, Washington, DC 20036 EUA: **Amer Chemical Soc**, 2016.
- BOBBIO, A.; TELEK, N. Markov regenerative SPN with non-overlapping activity cycles. In: Proceedings of 1995 IEEE International Computer Performance and Dependability Symposium. IEEE, p. 124-133, 1995.

- BORKOWSKI, T. *et al.* A capacidade de eliminação de radicais das antocianinas do vinho é fortemente dependente do pH. **Revista de química agrícola e alimentar**, v. 53, n. 14, pág. 5526-5534, 2005.
- BOYLE, V. James; FANCHER, Marilyn E.; ROSS JR, Richard W. Rapid, modified Kirby-Bauer susceptibility test with single, high-concentration antimicrobial disks. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 3, n. 3, p. 418-424, 1973.
- BRASIL, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Resiliência das florestas tropicais às mudanças climáticas pode ser maior, diz estudo. São José dos Campos-SP- **Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação**., 14 março, 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 778, de 28 de março de 2023. Dispõe sobre aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em alimentos. Brasília: **ANVISA**, 2021.
- BRAUN, J. B.; RODRIGUES, R. da Silva. Toxicidade dos corantes alimentares artificiais. In: BORGES, Caroline Dellinghausen; Tecnologia de Frutas e Hortaliças: compostos químicos de interesse. Canoas: **Mérida Publishers**, 2021.
- BRUNETON, J. Phenols and phenolic acids In *Pharmacognosy, phytochemistry and medical plants* (J. Bruneton, ed.). **Lavoisier Press**, EUA, p.211-227, 1995.
- BUCKLER, D. G., *et al.* Association of mechanical cardiopulmonary resuscitation device use with cardiac arrest outcomes: a population-based study using the CARES Registry (Cardiac Arrest Registry to Enhance Survival). **Circulation**, v. 134, n. 25, p. 2131-2133, 2016.
- CATANEO, M. *et al.* On the road to per cent accuracy—III. Non-linear reaction of the matter power spectrum to massive neutrinos. **Monthly Notices of the Royal Astronomical Society**, v. 491, n. 3, p. 3101-3107, 2020.
- COLLINS, C. H. V. O Desenvolvimento da Cromatografia em Camada Delgada. **Scientia Chromatographica**, 2(1), 5-12, 2010.

- CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P.; SANDI, D. Corantes alimentícios. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, v. 20, n. 2, 2002.
- COULTATE, T. P.; PAGNI, RICHARD, M. Chemical Education Today-Book & Media Reviews-Food: The Chemistry of Its Components. **Journal of Chemical Education**, v. 81, n. 1, p. 39-39, 2004.
- COYAGO-CRUZ, E. *et al.* Bioactive Composition of Tropical Flowers and Their Antioxidant and Antimicrobial Properties. **Foods**, v. 13, n. 23, p. 3766, 2024.
- DA CRUZ, J. R. E. *et al.* Composição de fenólicos, flavonoides, antocianinas, determinação da atividade antioxidante e comparação de métodos extrativos da folha e da casca de Caryocar brasiliense. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 21, n. 1, p. 18-24, 2022.
- DA ROCHA, B. S.; NOBRE, J. DA C. N.; DE FREITAS, A. D. G. Avaliação do Potencial Antimicrobiano dos Extratos da Tradescantia Zebrina Heynh. **Revista Foco**, v. 16, n. 02, p. e1140-e1140, 2023.
- DE ARAÚJO, A. D. *et al.* Extrato aquoso de folhas frescas de Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze: avaliação química e atividades antimicobacteriana e anticandida. **Advances in Traditional Medicine**, v. 21, p. 767-777, 2021.
- DE OLIVEIRA, V. B. *et al.* Phytochemical screening of the Dicksonia sellowiana leaves and its structures. Rodriguésia, v. 74, p. e 00282023, 2023.
- DE SOUZA, M. C. BV; DA CUNHA, M. F. V.; DE SOUZA, N. A. Luz e o Desenvolvimento da Indústria da Química Orgânica desde a Antiguidade. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 1, p. 103-111, 2015.
- DEHGHAN, MAHSHID. *et al.* Associações de ingestão de gorduras e carboidratos com doenças cardiovasculares e mortalidade em 18 países dos cinco continentes (PURE): um estudo de coorte prospectivo. **The Lancet**, v. 10107, pág. 2050-2062, 2017.

- DENTON, E.; BICKLER, J. Estratégias alternativas para purificação de peptídeos totalmente protegidos utilizando cromatografia flash. In: Resumos de Trabalhos da Sociedade Química Americana. 1155 16TH ST, NW, Washington, DC 20036 EUA: **Amer Chemical Soc**, 2017.
- DO CARMO SERRANO, M; LOPES, CARREIRA, A; SERUYA, ISABEL, A. Plantas tintureiras. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 31, n. 2, p. 3-21, 2008.
- DOS SANTOS L.C. *et al.* Comparação de diferentes métodos de extração de sementes oleaginosas brasileiras de “pacová” (*Renealmia petasites* Gagnep.) para determinação da composição lipídica e ter peno, capacidade antioxidante e efeito inibitório sobre enzimas neurodegenerativas. **Food Chemistry**: X 12: 100140. doi: 10.1016/j.fochx.2021.100140.
- DOWNHAM, A.; COLLINS, P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 35, n. 1, p. 5–22, 2000.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Bioeconomia: a ciência do futuro no presente. 22 out. 2019. Disponível em: <https://www.embrapa.br/tema-bioeconomia/sobre-o-tema>. Acesso em: 21 out. 2021.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA). Re-evaluation of tartrazine (E 102) as a food additive. **EFSA Journal**, v. 7, n. 11, p. 1331, 2009. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2009.1331>. Acesso em: 08 jan. 2025.
- FAN HW & CARDOSO JLC. Clinical toxicology of snakebite in South America. In: Meier J & White J (Editors), Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 667-688, 1995.
- FARAG, M. A.; *et al.* Advances in phenolic profiling of medicinal plants by UV-Vis and metabolomics. Biomedical and Biophysical Research, v. 88, n. 7, p. 705–720, 2024.

- FISCHER E, KILLMANN D. DHETCHUVI J.B. A família Zingiberaceae em Ruanda com descrição de duas novas espécies de *Renealmia*. **Ecologia Vegetal e Evolução** 156 (2): 225-238, 2023.
- FLAMBÓ, DIANA FILIPA AFONSO LOPES PERES. Atividades biológicas dos flavonoides: Atividade antimicrobiana. 2013. Tese de Doutorado. [sn].
- FLORA E FUNGA DO BRASIL**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 17 jun. 2023
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Title of the document: subtitle if there is one. Silver Spring, MD: FDA, 2021. Disponível em: <https://www.fda.gov/...> Acesso em: 01 agos. 2024.
- FUNDO DE CONSERVAÇÃO DA FLORESTA TROPICAL. *Renealmia* spp. (Mishquipanga). Disponível em <<http://www.rainforestconservation.org/AGROFORESTRY-ETHNOBOTANY/AGROFORESTRY-ETHNOBOTANY/RENEALMIA-SPP-MISHQUI-PANGA>> Acesso em 20/03/2013.
- GARCÍA, N.M. *et al.* Alterações nos compostos fenólicos do feijão durante o processamento: interações químicas e identificação. **Jornal de Ciência Alimentar**, 86 (3), 643-655. 2021.
- GEVÚ, K. V. *et al.* Chemical Composition and Anti-Candida and Anti-Trypanosoma cruzi Activities of essential oils from the rhizomes and Leaves of Brazilian Species of *Renealmia* L. fil. **Records of Natural Products**, v. 13, n. 3, p. 280, 2019.
- GEVÚ, K. V. *et al.* Phenolic compounds from the rhizome of *Renealmia nicolaioides* Loes.: a new diarylheptanoid. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, p. e20180312, 2019.
- GHOSH, P.; RANE, A.; NAYAK, A. Plant phenolics as natural colorants: chemistry and industrial applications. *Industrial Crops and Products*, v. 169, 113645, 2021.
- GÓMEZ. B. I.; BENJUMEA, D. Uso tradicional dos gêneros *Renealmia* e *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas (Zingiberaceae) - uma revisão no

- tratamento de acidentes ofídicos. **Jornal do Pacífico Asiático de Medicina Tropical**, v. 7, p. S574-S582, 2014.
- GÓMEZ-BETANCUR, I. *et al.* Inibição dos efeitos tóxicos do veneno de *Bothrops asper* pela pinostrobin, uma flavanona isolada de *Renealmia alpinia* (Rottb.) MAAS. **Revista de Etnofarmacologia**, v. 155, n. 3, pág. 1609-1615, 2014.
- GONÇALVES, A.; ESTEVINHO, B.N.; ROCHA, F. Microencapsulation of vitamin A: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 51, p. 76-87, 2016.
- GONÇALVES, B.S.G. Pigmentos Naturais de Origem Vegetal: Betalaínas. Dissertação (Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade do Algarve), Faro, 2018.
- GONÇALVES, C. F.; MENEGOL, T.; RECH, R. Biochemical composition of green microalgae *Pseudoneochloris marina* grown under different temperature and light conditions. **Biocatalysis and agricultural biotechnology**, v. 18, p. 101032, 2019.
- GOULD, K. S.; DAVIES, K. M.; WINEFIELD, C. Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications. New York: Springer, 2008.
- GUARNIERI, P. C. A. *et al.* Avaliação da estabilidade química de corantes naturais utilizados na indústria de alimentos: uma revisão. 2023.
- GUERRERO-MARTÍNEZ, M. *et al.* Caracterização morfológica e física do fruto: avaliação química, antioxidante e funcional de farinhas de guasmole (*Renealmia alpinia*). **Jornal de Medição e Caracterização de Alimentos**, p. 1-9, 2023.
- GUIDONI, M. *et al.* Plant stem cell extract from *Coffea canephora* shows antioxidant, anti-inflammatory, and skin regenerative properties mediated by suppression of nuclear factor-κB. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 56, p. e 12849, 2023. <https://www.euromonitor.com/our-expertise/consulting> Acesso em: 21 out. 2023.

- GUIMARÃES, R. de Cássia Avellaneda *et al.* Corantes artificiais: uma revisão. **Multitemas**, p. 67-82, 2023.
- GUNASEKARAN, S.; POORNIAMMAL, R. Optimization of fermentation conditions for red pigment production from *Penicillium* sp. under submerged cultivation. **African journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, 2008.
- HARBORNE, J. B. Phytochemical methods: a guide to modern techniques of plant analysis. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1984.
- HUBER, L. S.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Variação quantitativa em fontes vegetais brasileiras de flavonóis e flavonas. **Química dos Alimentos**, v. 113, n. 4, pág. 1278-1282, 2009.
- JAIN, P.; ALVAREZ, J. Structural barriers in mycobacteria: implications for drug penetration and resistance. **Microbiology Reviews**, v. 44, p. 112–130, 2020.
- JEONGCHEOL Shin, Mi Hee Lim, Jiyeon Han. Investigações espectroscópicas de RMN de complexos de metais de transição em química organometálica e bioinorgânica, **Boletim da Sociedade Química Coreana**, 10.1002/bkcs.12853, 45,7, (593-613), (2024).
- JIMENEZ-GONZALEZ, O. *et al.* Microencapsulação de pigmentos de polpa e compostos antioxidantes de *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas por spray-drying e sua incorporação em iogurte. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 59, n. 3, pág. 1162-1172, 2022.
- KAMENÍK, J. *et al.* Phenolic compounds in Zingiberaceae: chemistry, analysis, and bioactivity. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 1241–1260, 2020.
- KELEN, M. E. B. *et al.* Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): Hortaliças espontâneas e nativas. (1ª ed.). **UFRGS**, Porto Alegre, 2015.
- KINUPP VF & BARROS IBID. Riqueza de plantas alimentícias não-convencionais na região metropolitana de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências** 5: 63-65, 2007.

- KINUPP, V. F. Plantas Alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, São Paulo, p. 723-734, 2014.
- KINUPP, V. F.; LORENZI, H. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil. 1. ed. São Paulo: Plantarum, 2014.
- KLUGE, R. A. *et al.* Betalains in beet root fresh-cut: losses and preservation methods. **Revista Iberoamericana de Tecnologia Postcosecha**, v. 17, n. 2, p. 175-192, 2016.
- KOWALEWSKI, R.; *et al.* UV-Vis and HPLC characterization of plant pigments: an updated approach. *Analytical Methods*, v. 15, p. 2214–2228, 2023.
- KRESS WJ, Prince LM, Williams KJ. The phylogeny and a new classification of the gingers (Zingiberaceae): evidence from molecular data. *Am J Bot*; 89: 1682-1696, 2002.
- KUMAR, V., & GUPTA, S. Conceptualizing the evolution and future of advertising. **Journal of advertising**, 45(3), 302-317. 2016.
- LAANE, JAAN (Ed.). Fronteiras e avanços em espectroscopia molecular. **Elsevier**, 2017.
- LINHARES, M. S. S. *et al.* Corante antociânico extraído de resíduos da indústria de vinho tinto e suco integral de uva. 21(12), 23697–23717, 2023. <https://doi.org/10.55905/oelv21n12-013>.
- LIRA, A. Mais do que matos, elas são plantas alimentícias não convencionais (PANCs). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Brasília, 20 abr. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/33580014/mais-do-que-matos-elas-saoas-plantas-alimenticias-nao-convencionais-pancs>. Acesso em: mar. 2019.
- LIU *et al.* High-throughput purification platform in support of drug discovery. **ACS Combinatorial Science**, vol.14, n.1, p. 51–59, 2012.

- LOPERA-LONDOÑO, C.; *et al.* Atividade diurética do flavonóide pinostrobinha previamente identificado na espécie *Renealmia alpinia*. **Acta Internacional de Farmácia**, p. e4: 1-6, 2023.
- LUNA-GUEVARA, M. L. *et al.* Composition, physico-chemical properties and antioxidant capacity of *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas fruit. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, v. 48, n. 2, p. 187–199, 2016.
- MAAS, P. J. M.; VELDKAMP, J. F.; NEWMAN, M. A new name for an endemic Jamaican species of *Renealmia* Lf (Zingiberaceae). **Edinburgh Journal of Botany**, v. 70, n. 3, p. 449-450, 2013.
- MAAS, P., MAAS, H.J. M. “*Renealmia* (Zingiberaceae - Zingiberoideae) Costoideae (Additions) (Zingiberaceae).” **Flora Neotropica**, vol. 18, 1977, p. 1–218. JSTOR, <http://www.jstor.org/stable/4393712>. Accessed: 11 June 2023.
- MACÍA, M. J. *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas (Zingiberaceae): planta comestible de la sierra norte de Puebla (México). **Anales del Jardín Botánico de Madrid**, v. 60, n.1, p.183-187, 2003.
- MARASSI, A. G. Nuclear magnetic resonance methodologies applied for seed evaluation (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo). 2021.
- MARÇO, P. H; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, v. 31, pág. 1218-1223, 2008.
- MARTÍNEZ, F. D. *et al.* International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. **European Respiratory Journal**, v. 8, p. 483-491, 1995.
- MARTINS, D., FACHIN-ESPINAR, M. T., OLIVEIRA, T. A. DE, LIMA, K. C. S., Cavalcanti, R. M., Ronchi-Teles, B., & Nunez, C. V. Tamizaje fitoquímico y evaluación de las actividades biológicas de *Duroia macrophylla* (Rubiaceae). **Journal of Pharmacy Phamacognosy Research**, 2, 158–171. 2014.

- MELO, E. A. *et al.* Compostos bioativos em alimentos: uma abordagem funcional. **Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, p. 189–198, 2021.
- MELO, N. L.; LIMA.X. *et al.* Microencapsulação de extratos fenólicos provenientes de frutas e seus resíduos agroindustriais: uma revisão sistemática com meta-análise. 2021.
- MIGUEL-SÁNCHEZ, M. *et al.* Caracterización antioxidante de cáscara de xkijit (*Renealmia alpinia*) una fruta desconocida. XXXVI Encuentro Nacional de la AMIDIQ, p. 5-8, 2015.
- MOHAMMAD, M. R. *et al.* Relative evaluation of in-vitro antioxidant potential and phenolic constituents by HPLC-DAD of Brassica vegetables extracted in different solvents, Heliyon, Volume 8, Issue 10, 2022, e 10838, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10838>.
- MORAES, G. V., *et al.* Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. Research, Society and Development, v. 11, n. 14, p. e238111436225-e238111436225, 2022.
- MORAIS, R.; SANTOS, L. *et al.* Determinação dos compostos fenólicos totais em cascas de frutas encontradas no cerrado Brasileiro. Desafios - **Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S. l.], v. 7, n. Especial, p. 26–33, 2020.
- MORITZ, D. E. *et al.* Produção de pigmentos monascus por *Monascus ruber* CCT3802 em cultivo submerso. 2005.
- MOWAD, C. M. *et al.* Allergic contact dermatitis and hypersensitivity reactions to food colorants. **Dermatitis**, v. 27, n. 6, p. 317–325, 2016.
- MUSTAFA Akin & NESLIHAN Saki: Atividades antimicrobianas, eliminação de DPPH e inibição da tirosinase de *Thymus vulgaris*, *Helichrysum arenarium* *Rosa damascena* mill. extratos de etanol usando bioautografia TLC e métodos de triagem química, **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, 42:7-8, 204-216, 2019.

- NEGRELLE, R. R. B. *Renealmia* L.f.: aspectos botânicos, ecológicos, farmacológicos e agrônômicos. Laboratório OIKOS. Departamento de Botânica. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, Paraná. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.2, p.274-290, Abr-Jun 2015.
- NIGG, J. T. *et al.* Meta-analysis of ADHD symptoms and artificial food dyes. **Clinical Pediatrics**, v. 51, n. 2, p. 199–210, 2012.
- NORIEGA RIVERA, P. F.; Paredes Paredes, E. A.; Díaz Gómez, E. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from rhizomes of *Renealmia* thyrsoides. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, 2018.
- NORIEGA, P. F. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and free radical scavenging activity of essential oil from leaves of *Renealmia* thyrsoides. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 10, p. 553–558, 2016.
- NÖRNBERG, M. L. *et al.* Compostos bioativos em manteigas: carotenoides e ácidos graxos Bioactive compounds in butters: carotenoids and fatty acids. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 10270-10288, 2022.
- NOVAES, J. DE A. P., & NUNEZ., C. V. Desenvolvimento e validação de método para quantificação da capacidade redutora de extratos vegetais. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia) - Universidade do Estado do Amazonas. 2008.
- OFOU, I.W.; OPPONG, S.Y.; ODURO, I. Optimization of incorporation conditions of *Renealmia* battenbergiana extract in refined bleached deodorized (RBD) palm olein. **Food and Nutrition Sciences**, v.3, p.1976-1983, 2012.
- OLIVEIRA, A. C. P. *et al.* Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, p. 493-497, 2006.
- OLIVEIRA, A. L. *et al.* Antimicrobial potential of flavonoid-rich plant extracts against *Enterococcus faecalis*: membrane disruption and metabolic inhibition. **Journal of Applied Microbiology**, v. 132, p. 1458–1470, 2022.

- OLIVEIRA, V. B. *et al.* Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clae-dad de dicksonia sellowiana (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 18, p. 230-239, 2016.
- OSMANOVA, N.; SCHULTZE, W.; AYOUB, N. Azafilonas: uma classe de metabólitos fúngicos com diversas atividades biológicas. **Revisões de Fitoquímica**, v. 9, p. 315-342, 2010.
- OTERO, R. *et al.* Picadas de cobra e etnobotânica na região noroeste da Colômbia: Parte I: uso tradicional de plantas. **Revista de etnofarmacologia**, v. 71, n. 3, pág. 493-504, 2000.
- PABÓN, L. M. *et al.* Secondary metabolites from Renealmia spp.: distribution and biological relevance. **Natural Product Communications**, v. 14, n. 6, p. 1–10, 2019.
- PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoides: uma visão geral. **Revista de ciência nutricional**, v. 5, p. e 47, 2016.
- PASCHOAL V, GOUVEIA I, SOUZA N.S. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs): O potencial da biodiversidade brasileira. **Revista Brasileira de Nutrição Funcional**. São Paulo. ISSN: 2176 4522, 2016.
- PASCOAL, G. DE F. *et al.* Avaliação da capacidade antioxidante, composição volátil e conteúdo fenólico do híbrido vitis vinifera L. variedades safira doce e surpresa doce. **Química de Alimentos**, v. 366, pág. 130644, 2022.
- PASCOAL, V.; SOUZA, N.S. Plantas Alimentícias não convencionais (PANC). In: CHAVES, D. F. S. Nutrição Clínica Funcional: compostos bioativos dos alimentos. **VP Editora**. Cap. 13. p. 302-323. 2015.
- PATINO, A. C. *et al.* Efecto inhibitorio de extractos de Renealmia alpinia Rottb. Maas (Zingiberaceae) sobre el veneno de Bothrops asper (mapaná). **Biomédica, Bogotá**, v. 32, n. 3, p. 365-374, Sept. 2012.
- PAULA, V. B.; DIAS, L. G.; ESTEVINHO, L. M. Compostos fenólicos totais no própolis por espectrofotometria ultravioleta com calibração multivariada. In: IV Congresso Ibérico de Apicultura. 2016.

- PAVIA, D. L. *et al.* Introdução à espectroscopia. 2015.
- POWO. Plants of the World Online. *Renealmia* L.f. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331273-2/general-information>. Acesso em 11 nov. 2025.
- PRADO, M. A.; GODOY, H. T. Corantes artificiais em alimentos. *Alimentos e Nutrição*, v. 14, n. 2, p. 237-250, 2003.
- RAVINDRAN, Radhika *et al.* Inhibitory activity of traditional plants against *Mycobacterium smegmatis* and their action on Filamenting temperature sensitive mutant Z (FtsZ)—A cell division protein. **PloS one**, v. 15, n. 5, p. e0232482, 2020.
- RIBEIRO, I. F. *et al.* Identificação de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em estudantes universitários. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35, n. 2, 2014.
- RODRIGUES, D. M. *et al.* Natural pigments with antimicrobial activity: chemical profile, mechanisms of action and technological applications. **Food Chemistry**, v. 328, p. 127–136, 2020.
- RODRIGUES, D. M. *et al.* Natural pigments with antimicrobial activity: chemical profile, mechanisms of action and technological applications. **Food Chemistry**, v. 328, p. 127–136, 2020.]
- RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B. Comprehensive Update on Carotenoid Colorants. **Foods**, v. 12, n. 22, 4080, 2023.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, v. 7, p. 20-26, 2016.
- SAKI, N.; AKIN, M.; ATSAY, A.; KARAOGLU, H. R. P.; KOCAK, M. B. Synthesis and Characterization of Novel Quaternized 2,3-(Diethylmethylamino) Phenoxy Tetrasubstituted Indium and Gallium Phthalocyanines and Comparison of Their Antimicrobial and Antioxidant Properties with Different Phthalocyanines. *Inorg. Chem. Comm.* 95, 122–129, 2018.
- SANTOS, M. A. C.; V, A. F. S. *et al.* Avaliação de diferentes métodos de extração e atividade antioxidante de compostos bioativos do resíduo

- madeiro de maçaranduba (*Manilkara huberi* (Ducke) Standl.). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, v. 15, n.1, p. 32–39, 2021. Disponível em: <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/948>. Acesso em: 10 jun. 2023.
- SANTOS, M. S. V. *et al.* Prospecção tecnológica em bases de patentes com foco em corantes e pigmentos alimentícios obtidos de fontes naturais. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e 53810313603-e53810313603, 2021.
- SANTOS, N. S; DA SILVA, Flávia Luiza Araújo Tavares; NETA, Maria Terezinha Santos Leite. Corantes naturais: importância e fontes de obtenção. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar-ISSN 2675-6218**, v. 3, n. 3, p. e331165-e331165, 2022.
- SANTOS, T. R. *et al.* Antimicrobial properties of anthocyanin-rich plant extracts against multidrug-resistant bacteria. **Phytotherapy Research**, v. 35, p. 2104–2116, 2021.
- SAYUTI, NA E RUSHITA, YD. Família Zingiberaceae Sebagai imunomodulator dalam tanaman obat keluarga (toga) DI Indonésia Pada COVID-19: Mini Revisão. **Jurnal Jamu Kusuma**, 2 (1), 14–22, 2022.
- SHOHAIB, A.; BADAR, T.; ASLAM, N. Remoção de Pb (II), Cu (II) e Cd (II) de solução aquosa por alguns fungos e adsorventes naturais em sistemas metálicos simples e múltiplos. **Pak J Bot**, v. 2997-3000, 2011.
- SIGURDSON, GT.; TANG, P.; GIUSTI, MM. Corantes naturais: Corantes alimentares de fontes naturais. **Revisão anual de ciência e tecnologia de alimentos**, 8, 261-280. 2017.
- SIGURJÓNSDÓTTIR, J.; SIGFÚSSON, B.; ÓLAFSDÓTTIR, G. Natural food colorants: stability and future perspectives. **Food Chemistry**, v. 364, p. 130–415, 2021.
- SILVA L. P.; TRAVASSOS. V. D. *et al.* PANCs-Plantas alimentícias não convencionais e seus benefícios nutricionais. **Environmental smoke**, v. 2, n. 2, p. 102-111, 2019.

- SILVA, H. A. L., MOREIRA, D. K. T. *et al.* Otimização da extração de compostos fenólicos do resíduo agroindustrial de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Wild. ex. spreng) K. Schum) da Amazônia. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, v. 1, n. 1, 2023. Disponível em: <http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1383>. Acesso em: 10 jun. 2023.
- SILVA, L. M. A. *et al.* Uso da cromatografia flash como método alternativo e de baixo custo para a separação dos principais componentes do LCC. In: Encontro Nacional sobre Metodologias e Gestão de Aboratórios da Embrapa, 19.; Simpósio sobre Procedimentos Analíticos e a Rastreabilidade dos Resultados da Agropecuária, 6., 2014, Fortaleza, CE. Unir talentos para ultrapassar fronteiras: resumos. Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2014.
- SILVA, M. C.; *et al.* Chromatic stability and spectral properties of natural plant pigments. *Food Chemistry*, v. 289, p. 174–181, 2019.
- SILVA, R. S. *et al.* Pigmented plant extracts as natural antimicrobials: phenolic profile and mechanisms of inhibition. **Industrial Crops and Products**, v. 141, p. 111–124, 2019.
- SILVA, S. *et al.* Anthocyanin extraction from plant tissues: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 57, n. 14, p. 3072-3083, 2017.
- SILVA, I. F., I. *et al.* Utilização da Uva como Fonte de Corante Natural: Uma revisão integrativa. **Revista Ciência (In) Cena**, [S. l.], v. 2, n. 7, 2021. Disponível em: <https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/cienciaincenabahia/article/view/21>. Acesso em: 27 set. 2023.
- STINTZING, F. C.; CARLE, R. Propriedades funcionais de antocianinas e betalaínas em plantas, alimentos e nutrição humana. *Tendências em ciência e tecnologia de alimentos*, v. 1, pág. 19-38, 2004.
- TORRES, F. A. E. *et al.* Natural colorants from filamentous fungi. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 100, p. 2511-2521, 2016.
- TROPICALS, A. *Renealmia*. Disponível em <<http://www.alohatropicals.com/renealmi.html>>. Acesso em, 20 mar 2013.

- UENOJO, M.; MARÓSTICA, J., M. R.; PASTORE, G. M. Carotenoides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. **Química Nova**, v. 30, p. 616-622, 2007.
- UNICAMP. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Antocianinas: corantes naturais para alimentos, cosméticos, tintas e experiências para ensinar e aprender Química. São Paulo: **UNICAMP**, 2011. 167 p. Disponível em: <https://canalciencia.ibict.br/ciencia-em-sintese1/ciencias-exatas-e-da-terra/167antocianinas-corantes-naturais-para-alimentos-cosmeticos-tintas-e> Acesso em: 15 jul. 2021.
- VANUCHI, V. C. F.; BRAIBANTE, M. E. F. O uso de corantes naturais por algumas comunidades indígenas brasileiras: uma possibilidade para o ensino de química articulado com a Lei 11. 645/2008. **Revista Debates Em Ensino De Química-Redequim**, v. 7, n. 2, p. 54-74, 2018.
- VEGA-ARROY DJ, *et al*: Efeito de solventes e métodos de extração em antocianinas totais, compostos fenólicos e capacidade antioxidante da casca de *Renealmia alpinia* (Rottb.) Maas. **Czech J. Food Sci.**, 35: 456-465, 2017.
- WAGNER, H. e Bladt, S. Plant Drugs Analysis, uma cromatografia em camada fina. 2ª Edição, Springer-Verlag Berlim, Heidelberg, Nova York, 2001.
- WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2. ed. Berlin: Springer, 2009.
- WIBOWO, S. *et al*. Alterações de cor e carotenoides em suco de laranja pasteurizado durante o armazenamento. **Química Alimentar**, v. 171, pág. 330-340, 2015.
- WONG, F.C., Yong, A.L., Peir, E., Ting, S., Khoo, S.-C., Ong, H.-C., & Chai, T.-T. Antioxidant, Metal Chelating, Anti-glucosidase Activities and Phytochemical Analysis of Selected Tropical Medicinal Plants. In **Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services Iranian Journal of Pharmaceutical Research** (Vol. 13, Issue 4). 2014.

XIMENES, S. F. Obtenção de extrato aquoso rico em Betalaínas a partir da beterraba (*Beta Vulgaris* L.) com o uso associado de microfiltração tangencial e concentração à vácuo. 2017.

YUSUF, M., SHABBIR, M., MOHAMMAD, F. Corantes naturais: Perspectivas históricas, de processamento e sustentáveis. **Produtos naturais e bioprospecção**, v. 7, p. 123-145, 2017.

ZHAO, Y. *et al.* Unraveling the complexity of complex mixtures by combining high-resolution pharmacological, **analytical and spectroscopic techniques: antidiabetic constituents in Chinese medicinal plants**. *Faraday Discuss*, v.218, p.202-218, 2019.