



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos quatro dias do mês de fevereiro de 2022, às quatorze horas e trinta minutos (14h30min), em sessão pública na sala da plataforma virtual do Google Meet, na presença da Banca Examinadora do Instituto de Biodiversidade e Florestas da UFOPA, presidida pelo Professor Élcio Meira da Fonseca Júnior e composta pelos examinadores:

1. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira

2. Fabrizia Sayuri Otani, a aluna “Idelvina Souza da Silva” apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: “COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS EM FOLHAS DE CAMU-CAMU DA AMAZÔNIA” como requisito curricular indispensável para a integralização do Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Após reunião em sessão reservada, a Banca Examinadora deliberou e decidiu pela APROVAÇÃO do referido trabalho com a nota final 8,2, divulgando o resultado formalmente a aluna e demais presentes e eu, na qualidade de Presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais examinadores e pelo aluno.

Prof. Dr. Élcio Meira da Fonseca Júnior
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira
Examinador 1

Profa. Dra. Fabrizia Sayuri Otani
Examinador 2

Idelvina Souza da Silva
Aluna



FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DA BANCA EXAMINADORA DE TCC

Avaliação do TCC Escrito	
Apresentação do tema Título do trabalho adequado ao objetivo proposto	(até 0,5 ponto) 0,5
Introdução Referencial teórico (em caso de monografia) Apresenta e contextualiza o tema, apresenta os objetivos que foram traçados para desenvolver o TCC; apresentado os elementos teóricos de base da área do conhecimento investigada, bem como a definição dos termos, conceitos e estado da arte pertinentes ao referido campo do TCC.	(até 1,5 pontos) 1,0
Metodologia Descreve os procedimentos metodológicos; descreve com detalhes suficientes a proposta desenvolvida. Realiza avaliação condizente com os objetivos traçados para o trabalho.	(até 1,5 pontos) 1,25
Apresentação e discussão dos resultados Descreve com detalhes suficientes os resultados alcançados, discutindo com outros autores.	(até 2,5 pontos) 2,0
Conclusões ou Considerações finais Referências bibliográficas Apresenta sua síntese do trabalho, de modo a expressar a compreensão sobre o assunto que foi objeto desse TCC e a sua contribuição para o tema. O texto apresenta a totalidade das fontes de informação citadas. Literatura apresentada dentro das normas ABNT.	(até 1 ponto) 0,75
Nota final da avaliação do trabalho escrito (soma das notas, máximo 7 pontos)	5,50
Avaliação da apresentação oral e arguição	
Estruturação e ordenação do conteúdo da apresentação	(até 0,5 pontos) 0,5
Clareza e fluência na exposição das ideias	(até 0,5 pontos) 0,5
Domínio acerca do tema desenvolvido (embasamento teórico)	(até 1 pontos) 0,9
Qualidade dos slides e uso dos recursos audiovisuais (texto; figuras, tabelas, gráficos legíveis, etc.)	(até 1,0 pontos) 1,0
Nota final da apresentação oral (soma das notas, máximo 3 pontos)	2,9

Nome do avaliador: Fabrizia Sayuri Otani

Assinatura do Avaliador: _____

Fabrizia Otani



FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL DA BANCA EXAMINADORA DE TCC

Avaliação do TCC Escrito	
Apresentação do tema Título do trabalho adequado ao objetivo proposto	(até 0,5 ponto) 0,5
Introdução Referencial teórico (em caso de monografia) Apresenta e contextualiza o tema, apresenta os objetivos que foram traçados para desenvolver o TCC; apresentado os elementos teóricos de base da área do conhecimento investigada, bem como a definição dos termos, conceitos e estado da arte pertinentes ao referido campo do TCC.	(até 1,5 pontos) 1,0
Metodologia Descreve os procedimentos metodológicos; descreve com detalhes suficientes a proposta desenvolvida. Realiza avaliação condizente com os objetivos traçados para o trabalho.	(até 1,5 pontos) 1,5
Apresentação e discussão dos resultados Descreve com detalhes suficientes os resultados alcançados, discutindo com outros autores.	(até 2,5 pontos) 2,0
Conclusões ou Considerações finais Referências bibliográficas Apresenta sua síntese do trabalho, de modo a expressar a compreensão sobre o assunto que foi objeto desse TCC e a sua contribuição para o tema. O texto apresenta a totalidade das fontes de informação citadas. Literatura apresentada dentro das normas ABNT.	(até 1 ponto) 1
Nota final da avaliação do trabalho escrito (soma das notas, máximo 7 pontos)	6,0
Avaliação da apresentação oral e arguição	
Estruturação e ordenação do conteúdo da apresentação	(até 0,5 pontos)
Clareza e fluência na exposição das ideias	(até 0,5 pontos)
Domínio acerca do tema desenvolvido (embasamento teórico)	(até 1 pontos)
Qualidade dos slides e uso dos recursos audiovisuais (texto; figuras, tabelas, gráficos legíveis, etc.)	(até 1,0 pontos)
Nota final da apresentação oral (soma das notas, máximo 3 pontos)	2,0

Nome do avaliador: Elaine Cristina Pacheco de Oliveira

Assinatura do Avaliador:

Elaine Cristina Pacheco de Oliveira

Santarém, 04 de Fevereiro de 2022.



Portal do Discente

UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
SISTEMA INTEGRADO DE GESTÃO DE ATIVIDADES
ACADÊMICAS

EMITIDO EM 08/02/2022 16:57

SIBI/UFOPA**DECLARAÇÃO DE QUITAÇÃO**

MATRÍCULA: 201500871 (*identificador*)
USUÁRIO: Sr(a). IDELVINA SOUZA DA SILVA
VÍNCULO DO USUÁRIO: ALUNO DE GRADUAÇÃO
CENTRO: UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
CURSO: INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Declaramos, para os devidos fins, que em nome do usuário(a) supracitado(a), não existe débitos nas bibliotecas da UFOPA feitos com o vínculo ALUNO DE GRADUAÇÃO acima mostrado.

Esse vínculo foi quitado e não poderá mais ser usado para realizar empréstimos.

ATENÇÃO

Para verificar a autenticidade deste documento acesse <https://sigaa.ufopa.edu.br/sigaa/documentos/> informando o identificador, a data de emissão e o código de verificação **326ffb855c**

SIGAA | Copyright © 2006-2022 - Centro de Tecnologia da Informação e Comunicação - UFRN - (00) 0000-0000 - srvapp2.ufopa.edu.br/srv2sigaa



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
BACHARELADO INTERDISCIPLINAR EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

IDELVINA SOUZA DA SILVA

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PIGMENTOS
FOTOSSINTÉTICOS EM FOLHAS DE *Myrciaria dubia* DA AMAZÔNIA**

**SANTARÉM-PA
2022**

IDELVINA SOUZA DA SILVA

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PIGMENTOS
FOTOSSINTÉTICOS EM FOLHAS DE *Myrciaria dubia* DA AMAZÔNIA**

Trabalho de Conclusão de curso, apresentado ao Curso de Bacharelado Interdisciplinar em Ciências Agrária como requisito para obtenção do Grau de Bacharel em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.

Orientador: Dr. Élcio Meira da Fonseca Júnior

**SANTARÉM-PA
2022**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA

- S586c Silva, Idelvina Souza da
Comparação de métodos de extração de pigmentos fotossintéticos em folhas de *Myrciaria dubia* da Amazônia. / Idelvina Souza da Silva. – Santarém, 2022.
17 p.: il.
Inclui bibliografias.
- Orientador: Élcio Meira da Fonseca Júnior.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas, Curso Bacharelado em Ciências Agrárias.
1. Clorofilas. 2. Carotenoides. 3. Fisiologia vegetal. I. Fonseca Júnior, Élcio Meira da, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 571.2098115

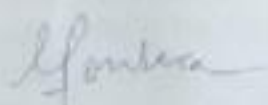
IDELVINA SOUZA DA SILVA

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE PIGMENTOS
FOTOSSINTÉTICOS EM FOLHAS DE CAMU-CAMU DA AMAZÔNIA

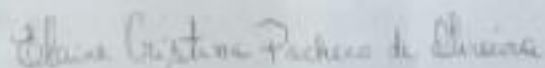
Trabalho de Conclusão de curso, apresentado ao
Curso de Bacharelado Interdisciplinar em
Ciências Agrárias como requisito para obtenção
do Grau de Bacharel em Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto
de Biodiversidade e Florestas

Conceito: 8,2

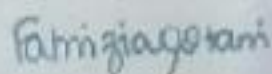
Data de Aprovação 04/02/22



Dr. Elcio Meira da Fonseca Júnior – Orientador
Universidade Federal do Oeste do Pará



Dra. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira
Universidade Federal do Oeste do Pará



Dra. Fabrizia Suyuri Otari
Universidade Federal do Oeste do Pará

RESUMO

O camu-camu, espécie da Amazônia, considerada superfruta, principalmente, pela elevada concentração de vitamina C. Para auxiliar na produção de mudas, domesticação e adaptação, métodos de análise de clorofilas são importantes, fornecem informações sobre comportamento e manejo adequado da planta em lugar diverso do seu ambiente natural. O estudo objetivou comparar três métodos de extração de pigmentos: dimetilsulfóxido (DMSO), etanol 90% e acetona 80%, selecionar um dos solventes para avaliar efeito do tempo e temperatura para determinar protocolo apropriado à espécie. Mudanças, obtidas de sementes, foram mantidas em viveiro a 50% de sombreamento, por 270 dias. Utilizados discos foliares, incubados em acetona, dimetilsulfóxido ou etanol, por 24 horas, a 65°C, ou para testar o efeito do tempo e temperatura em DMSO. Avaliou-se teores de pigmentos cloroplastídicos e índice de feofitinação. O delineamento, inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e 4 repetições para avaliação dos solventes, em esquema fatorial 2 x 3 (temperatura x tempo) x 4 repetições, para examinar resultado tempo e temperatura com dimetilsulfóxido. Entre os solventes testados, demonstrou maior eficiência, o DMSO. Os resultados indicaram influência significativa da temperatura de 25°C para clorofila *a* e, 65°C para clorofila *b*, e pouca interferência do tempo de incubação. O índice de feofitinação sugeriu degradação da clorofila *a* e estabilidade da clorofila *b* na temperatura de 65°C. As condições experimentais deste estudo recomendam o DMSO como solvente mais adequado no processo de extração de clorofilas nas folhas da *Myrciaria dubia*, utilizando baixas temperaturas e curto período de incubação (6 horas).

Palavras-Chave: Clorofilas. Carotenoides. Fisiologia Vegetal. Solventes Orgânicos.

ABSTRACT

Camu-camu, a species from the Amazon, considered a superfruit, mainly due to its high concentration of vitamin C. To assist in seedling production, domestication and adaptation, chlorophyll analysis methods are important, as they provide information on the behavior and proper management of the plant in place different from its natural environment. The study aimed to compare three methods of pigment extraction: dimethyl sulfoxide (DMSO), 90% ethanol and 80% acetone, select one of the solvents to evaluate the effect of time and temperature to determine an appropriate protocol for the species. Seedlings, obtained from seeds, were kept in a nursery at 50% shade for 270 days. Leaf discs were used, incubated in acetone, dimethylsulfoxide or ethanol, for 24 hours at 65°C, or to test the effect of time and temperature in DMSO. Contents of chloroplast pigments and pheophytinization index were evaluated. The design was completely randomized (DIC), with three treatments and 4 replications to evaluate the solvents, in a factorial scheme 2 x 3 (temperature x time) x 4 repetitions, to examine the time and temperature results with dimethylsulfoxide. Among the solvents tested, DMSO showed the highest efficiency. The results indicated a significant influence of the temperature of 25°C for chlorophyll *a* e, 65°C for chlorophyll *b*, and little interference of the incubation time. The pheophytinization index suggested chlorophyll *a* degradation and chlorophyll *b* stability at 65°C. The experimental conditions of this study recommend DMSO as the most suitable solvent in the process of extracting chlorophylls from *Myrciaria dubia* leaves, using low temperatures and a short incubation period (6 hours).

Keywords: Chlorophylls. Carotenoids. Plant physiology. Organic solvents.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	9
MATERIAL E MÉTODOS	10
Coleta dos frutos e obtenção das mudas.....	10
Coleta das amostras.....	10
Avaliação do método de extração.....	11
Avaliação do efeito tempo e da temperatura no teor de pigmentos fotossintéticos.....	11
Delineamento experimental e análise dos dados.....	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
Efeito do método de extração	12
Efeito do tempo e da temperatura de incubação no teor de pigmentos fotossintéticos....	14
CONCLUSÕES.....	16
AGRADECIMENTOS	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16

1 **Comparação de métodos de extração de pigmentos fotossintéticos em folhas**
 2 **de *Myrciaria dubia* da Amazônia¹**

4 **Comparison of methods for extracting photosynthetic pigments from leaves**
 5 **of *Myrciaria dubia* from the Amazon¹**

7 Idelvina Souza da Silva
 8 Universidade Federal do Oeste do Pará
 9 Idelvinasouza0975@gmail.com
 10 <https://orcid.org/0000-0001-8585-3739>

12 Prof^a. Dr^a. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira
 13 Universidade Federal do Oeste do Pará
 14 elaine.ibf@gmail.com
 15 <https://orcid.org/0000-0002-0740-2550>

17 Prof^a. Dr^a. Fabrizia Sayuri Otani
 18 Universidade Federal do Oeste do Pará
 19 Fabrizia_otani@yahoo.com.br
 20 <http://orcid.org/0000-0002-1676-2216>

22 Prof. Dr. Élcio Meira da Fonseca Júnior
 23 Universidade Federal do Oeste do Pará
 24 meirafonseca@yahoo.com.br
 25 <http://orcid.org/0000-0002-5025-7096>

27
 28 **RESUMO**

29 O camu-camu, espécie da Amazônia, considerada superfruta, principalmente, pela elevada concentração de vitamina C. Para
 30 auxiliar na produção de mudas, domesticação e adaptação, métodos de análise de clorofilas são importantes, fornecem
 31 informações sobre comportamento e manejo adequado da planta em lugar diverso do seu ambiente natural. O estudo
 32 objetivou comparar três métodos de extração de pigmentos: dimetilsulfóxido (DMSO), etanol 90% e acetona 80%, selecionar
 33 um dos solventes para avaliar efeito do tempo e temperatura para determinar protocolo apropriado à espécie. Mudas, obtidas
 34 de sementes, foram mantidas em viveiro a 50% de sombreamento, por 270 dias. Utilizados discos foliares, incubados em
 35 acetona, dimetilsulfóxido ou etanol, por 24 horas, a 65°C, ou para testar o efeito do tempo e temperatura em DMSO. Avaliou-
 36 se teores de pigmentos cloroplastídicos e índice de feofitinação. O delineamento, inteiramente casualizado (DIC), com três
 37 tratamentos e 4 repetições para avaliação dos solventes, em esquema fatorial 2 x 3(temperatura x tempo) x 4 repetições, para
 38 examinar resultado tempo e temperatura com dimetilsulfóxido. Entre os solventes testados, demonstrou maior eficiência, o
 39 DMSO. Os resultados indicaram influência significativa da temperatura de 25°C para clorofila *a* e, 65°C para clorofila *b*, e
 40 pouca interferência do tempo de incubação. O índice de feofitinação sugeriu degradação da clorofila *a* e estabilidade da
 41 clorofila *b* na temperatura de 65°C. As condições experimentais deste estudo recomendam o DMSO como solvente mais
 42 adequado no processo de extração de clorofilas nas folhas da *Myrciaria dubia*, utilizando baixas temperaturas e curto período
 43 de incubação (6 horas).

44 **Palavras-chave:** clorofilas; carotenoides; fisiologia vegetal; solventes orgânicos

45
 46 **ABSTRACT**

47 Camu-camu, a species from the Amazon, considered a superfruit, mainly due to its high concentration of vitamin C. To assist
 48 in seedling production, domestication and adaptation, chlorophyll analysis methods are important, as they provide
 49 information on the behavior and proper management of the plant in place different from its natural environment. The study
 50 aimed to compare three methods of pigment extraction: dimethyl sulfoxide (DMSO), 90% ethanol and 80% acetone, select
 51 one of the solvents to evaluate the effect of time and temperature to determine an appropriate protocol for the species.
 52 Seedlings, obtained from seeds, were kept in a nursery at 50% shade for 270 days. Leaf discs were used, incubated in

¹ O artigo apresentado foi redigido conforme as diretrizes de submissão da revista Journal of Biotechnology and Biodiversity. As normas indicadas para a redação de artigos pela revista estão disponíveis no link: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/JBB/about/submissions>

53 acetone, dimethylsulfoxide or ethanol, for 24 hours at 65°C, or to test the effect of time and temperature in DMSO. Contents
54 of chloroplast pigments and pheophytinization index were evaluated. The design was completely randomized (DIC), with
55 three treatments and 4 replications to evaluate the solvents, in a factorial scheme 2 x 3 (temperature x time) x 4 repetitions, to
56 examine the time and temperature results with dimethylsulfoxide. Among the solvents tested, DMSO showed the highest
57 efficiency. The results indicated a significant influence of the temperature of 25°C for chlorophyll *a*, 65°C for chlorophyll *b*,
58 and little interference of the incubation time. The pheophytinization index suggested chlorophyll *a* degradation and
59 chlorophyll *b* stability at 65°C. The experimental conditions of this study recommend DMSO as the most suitable solvent in
60 the process of extracting chlorophylls from *Myrciaria dubia* leaves, using low temperatures and a short incubation period (6
61 hours).

62 **Key-words:** chlorophylls; carotenoids; plant physiology; organic solvents

63 64 **INTRODUÇÃO**

65 O camu-camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh), Myrtaceae, é uma planta tropical nativa
66 da Amazônia ocorrendo nas margens de rios e lagos do Brasil, mas, também, em outros países
67 desta região como Colômbia, Peru e Venezuela (Silva, 2019). Dependendo da localização
68 geográfica no território nacional, recebe outras denominações populares como araçá, araçá-
69 d'água, araçá-do-lago, araçarana, araçazinho, caçari, crista-de-galo e socoró (Siviero et al.,
70 2012).

71 O camu-camu é um arbusto de aspecto lenhoso, podendo atingir de 3 a 6 m de altura (Silva,
72 2019). Suas folhas elípticas, com 6 a 10 cm de comprimento, e 1,5 a 3 cm de largura,
73 posicionam-se de forma opostas ao longo do caule, possui ápice acuminado e bordo
74 ligeiramente onduladas, brilhantes com cor variando de verde amarelado a verde escuro
75 (Delgado, 2010; Mendes e Junior, 2017). A aparência dos frutos exhibe formato de pequeno
76 globo com superfície lisa e brilhante, de cor vermelho escuro ou púrpura-negro quando
77 maduros, contendo entre 2 a 3 sementes, podendo alcançar diâmetro entre 2 e 4 cm, massa
78 média aproximada de 8,4 g (Mendes e Junior, 2017).

79 O fruto do camu-camu vem despertando o interesse de consumidores em outros países devido
80 o valor nutricional da sua polpa, que possui alto teor de vitamina C, aproximadamente 845 a
81 6.100 mg para cada 100 g de polpa integral (Yuyama et al., 2011). Outro grande potencial
82 econômico são os subprodutos da fruta (iogurte e aditivos alimentares), a casca e semente, por
83 exemplo, podem ser aproveitadas por conterem composição fenólica mais rica do que a
84 própria polpa correspondente, o que contribui à pretensão pela exploração da fruta inteira
85 (Conceição et al., 2019).

86 Segundo Ribeiro (2012), a maior atenção ao camu-camu se dá em razão da sua composição
87 bastante diversa, com absorção significativa em compostos bioativos como polifenóis
88 vitamina C e carotenóides, o que torna esse fruto, matéria-prima propícia à fabricação de
89 alimentos que têm resultados benéficos à saúde e, também, produtos fitoterápicos.
90 Ultimamente, no Brasil, a polpa congelada para exportação é uma realidade comercial,
91 também aplicada como matéria-prima para a indústria de cosméticos (Yuyama, 2011). Assim,
92 a espécie vem ganhando espaço por sua relevância econômica e nutricional, motivando
93 interesse na comunidade científica, em consumidores, agricultores, também da indústria
94 alimentar e farmacêutica (Cunha, 2018).

95 Tendo em vista o amplo potencial apresentado pelo camu-camu, estudos de sua fisiologia e
96 respostas a diferentes ambientes são essenciais para a produção de mudas em viveiro, além de
97 sua domesticação e cultivo em terra firme, métodos de análise de pigmentos fotossintéticos
98 são necessários, fornecem elementos sobre desempenho e manejo adequado da planta em
99 lugar diferente do seu ambiente natural (Nascimento e Carvalho, 2012). Neste sentido, a
100 determinação do teor de pigmentos fotossintéticos em folhas pode fornecer informações
101 importantes, uma vez que está diretamente relacionada com a resposta da planta ao ambiente,
102 estado nutricional e produtividade (Mesa, 2018).

103 Para quantificar o teor de pigmentos fotossintéticos nas folhas, há dois métodos: os
104 destrutivos e não destrutivos. Os métodos destrutivos, os mais habituais utilizam solventes de
105 origem orgânica como acetona, éter, dimetilsulfóxido e o metanol o uso de solventes

106 orgânicos funciona como um facilitador de substâncias e permite obter uma solução
107 homogênea (Sasidharan et al., 2011). Quanto aos métodos não destrutivos, utilizam-se de
108 aparelhos portáteis com sensores que determinam o teor de clorofila, como o SPAD-502
109 (“Soil Plant Analysis Development”) e o clorofilômetro (ClorofiLog-1030), sem destruir o
110 tecido foliar, minimizando custos, e obtendo-se resultados de forma simples e direta (Argenta
111 et al., 2001).

112 Conforme literatura consultada, este é o primeiro trabalho a avaliar o teor de pigmentos
113 fotossintético, em mudas de camu-camu. Assim como, comparar métodos de extração, tempo
114 e temperatura.

115 No entanto, há na literatura estudos com outras espécies, que compararam métodos para
116 extração de clorofilas e carotenóides, utilizando solventes orgânicos em diferentes
117 temperaturas e tempos que obtiveram resultados satisfatórios, embora distintos entre eles.
118 Pompeli et al. (2013) testou esses protocolos em cinco espécies de plantas e uma espécie de
119 líquens usando temperatura de 25°C e 65°C em períodos distintos entre 24 e 96 horas de
120 incubação e notou especificidades relacionadas à temperatura e tempo de incubação para cada
121 extrator avaliado. Outro estudo realizado em plântulas de hortelã-do-campo e de mangaba
122 utilizou as temperaturas 25°C e 65°C, incubados entre 4 e 48 horas em DMSO apontou maior
123 interferência térmica na extração de pigmentos para a primeira espécie (Rosa, 2011). Tais
124 resultados reforçam a ideia de que o melhor método pode variar de acordo com a espécie e
125 diferentes fatores (Pompeli et al., 2013).

126 O objetivo deste estudo foi comparar três métodos de extração de pigmentos: dimetilsulfóxido
127 (DMSO), etanol 90% e acetona 80%, selecionar o mais eficiente entre os solventes para
128 avaliar o efeito do tempo e temperatura para determinar protocolo mais apropriado a esta
129 espécie.

130

131 **MATERIAL E MÉTODOS**

132 **Coleta dos frutos e obtenção das mudas**

133 Os frutos de camu-camu foram coletados na região de Santarém-PA, às margens do Rio
134 Tapajós, entre as comunidades de Ponta de Pedras (S02°26'44.1" e O54°55'14.1") e do Tapari
135 (S02°26'0.2" e O54°53'23.8"). O clima nesta região é do tipo Ami, segundo a classificação de
136 Koppen, com temperatura anual média de 25,6°C, umidade relativa do ar de 86% e
137 precipitação pluviométrica de 2.000 mm.ano⁻¹ (Silva et al., 2013).

138 Após coleta, os frutos foram transportados para o Laboratório de Estudos de Ecossistemas
139 Amazônicos da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) e processados para
140 obtenção das sementes. Para tanto, os frutos foram inicialmente despulpados e, as sementes
141 obtidas, lavadas em água corrente e deionizada. Em seguida, foram desinfestadas com
142 hipoclorito de sódio a 1% de cloro ativo, por 5 minutos, e lavadas em água deionizada. As
143 sementes foram, então, colocadas para germinar em bandejas de isopor de 200 células
144 contendo substrato comercial Maxxi, Terra Nova.

145 As plântulas, contendo pelo menos duas folhas opostas expandidas, aproximadamente, 6 ± 1
146 cm de altura da base do solo, foram transferidas para sacolas pretas de polietileno (20 x 35
147 cm) de 2 kg, contendo também substrato comercial. As mudas foram mantidas em viveiro,
148 sombreamento a 50%, proporcionado por tela de poliolefina (sombrite) na cor preta.
149 Diariamente, pela manhã, as mudas foram irrigadas e, sempre que necessário, pulverizadas
150 com o inseticida biológico óleo de Neem, grupo Kelldrin, para evitar cochonilhas. As 24
151 mudas permaneceram nestas condições por 270 dias, alcançando altura média de 35 cm.
152 Então, o experimento foi encerrado e, realizadas as coletas das amostras foliares e as análises
153 em laboratório.

154 **Coleta das amostras**

155 Para as análises, foram coletadas cinco folhas simples opostas totalmente expandidas a partir
156 do ápice, pela manhã, entre 07h00min e 08h00min.

157 As folhas foram colocadas em sacos plásticos transparentes, acondicionadas em caixa de
158 isopor contendo gelo levadas para o laboratório e retirados discos foliares de 5,5 mm diâmetro
159 ($0,237 \text{ cm}^2$) com um furador cilíndrico manual, para as análises.

160 **Avaliação do método de extração**

161 Foram avaliados três solventes de extração: dimetilsulfóxido (DMSO), etanol 90% e acetona
162 80%. Cinco discos foliares, com área individual de $0,237 \text{ cm}^2$, foram obtidos com um furador
163 manual de 5,5 mm de diâmetro interno. Os discos foram transferidos para tubos de ensaio,
164 contendo 10 ml de acetona 80% (Silva, 2018), etanol 90% (Pompelli et al., 2013) e DMSO
165 saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3) (Ferreira, 2018), incubados a 65°C , por 24 horas.
166 Para proteger da luz, os tubos foram envolvidos com papel alumínio. Após o período de
167 incubação, realizou-se a leitura da absorbância das amostras a 663 nm, 645 nm e 470 nm para
168 acetona (Arnon, 1949), 664 nm; 649 nm e 470 nm para etanol (Lichtenthaler e Buschmann,
169 2001) e 665 nm, 649 nm e 480 nm para DMSO (Wellburn, 1994) utilizando
170 espectrofotômetro UV-Visível (Modelo UV-M51BEL). Então, foi estimado o teor de
171 pigmentos fotossintéticos utilizando as equações de Arnon (1949) e Lichtenthaler (1987) para
172 extração com acetona, Lichtenthaler e Buschmann (2001) para extração com etanol e
173 Wellburn (1994) para DMSO, descritas abaixo, ao final do experimento do efeito do tempo e
174 da temperatura. Também foi determinado o índice de feofinização pela razão da absorbância
175 $415/435 \text{ nm}$ (Ronen e Galun, 1984).

176 **Avaliação do efeito tempo e da temperatura no teor de pigmentos fotossintéticos**

177 Neste experimento, foram retirados cinco discos foliares com área individual de $0,237 \text{ cm}^2$,
178 com auxílio de um furador manual de 5,5 mm de diâmetro interno. Os discos foram
179 transferidos para tubos de ensaio, vedados hermeticamente e protegidos da luz, contendo 10
180 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) saturado com carbonato de cálcio (CaCO_3) (Santos, et al.,
181 2007).

182 Os tubos foram incubados em banho-maria, a temperaturas de 25°C e 65°C , por períodos de 6,
183 12 e 24 horas. Após cada período de incubação, realizou-se a leitura da absorbância das
184 amostras a 663 nm, 645 nm e 470 nm para acetona (Arnon, 1949), 664 nm; 649 nm e 470 nm
185 para etanol (Lichtenthaler e Buschmann, 2001) e 665 nm, 649 nm e 480 nm para DMSO
186 (Wellburn, 1994) em espectrofotômetro UV-Visível (Modelo UV-M51 BELL). Então,
187 determinou-se o teor de pigmentos fotossintéticos conforme equações descritas abaixo.

188 Para acetona, o teor de clorofila *a*, clorofila *b* e clorofila total foi estimado segundo Arnon
189 (1949) e carotenoides, de acordo com Lichtenthaler (1987):

$$190 \text{CL } a = ((12,7 * A_{663}) - (2,69 * A_{645}))$$

$$191 \text{CL } b = ((22,9 * A_{645}) - (4,68 * A_{663}))$$

$$192 \text{CL total} = ((20,2 * A_{645}) + (8,02 * A_{663}))$$

$$193 \text{Carotenoides} = ((1000 * A_{470}) - (1,82 * \text{CL } a) - (85,02 * \text{CL } b)) / 198$$

194 Para etanol 90%, estimaram-se os teores de pigmentos fotossintéticos seguindo-se as
195 equações propostas por Lichtenthaler e Buschmann (2001):

$$196 \text{Chl } a = 13,36A_{664} - 5,19A_{649}$$

$$197 \text{Chl } b = 27,43A_{649} - 8,12A_{664}$$

$$198 \text{Chl total} = \text{Chl } a + \text{Chl } b$$

$$199 \text{Carotenoides} = (1000A_{470} - 2,13\text{Chl } a - 97,64\text{Chl } b) / 209$$

200 Para dimetilsulfóxido (DMSO) estimaram-se os teores de pigmentos fotossintéticos seguindo-
201 se as equações propostas por Wellburn (1994):

$$202 \text{Chl } a = 12,47 A_{665} - 3,62 A_{649}$$

$$203 \text{Chl } b = 25,06 A_{649} - 6,50 A_{665}$$

$$204 \text{Chl total } (a+b) = 7,15 A_{665} + 18,71 A_{649}$$

205 Carotenoides = $(1000 A_{480} - 1,29 Chla - 53,78 Chlb)/220$
 206 Também foi determinado o índice de feofitinação pela razão da absorbância 415/435 nm
 207 (Ronen e Galun, 1984).

208 **Delineamento experimental e análise dos dados**

209 Para o experimento que comparou diferentes solventes extratores, o delineamento
 210 experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (acetona 80%, Etanol 90%,
 211 DMSO) e quatro repetições. Para o experimento com DMSO, avaliação do efeito do tempo e
 212 da temperatura, o delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 3
 213 (temperatura x tempo), com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de
 214 variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando o
 215 programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2019).

216

217 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

218 **Efeito do método de extração**

219 Os solventes de extração diferiram entre si ($p < 0,05$) para todos pigmentos fotossintéticos
 220 avaliados: clorofila *a* clorofila *b*, clorofila total ($a+b$), razão a/b . Para o índice de
 221 feofitinação, no entanto, não se observou diferença estatística significativa.

222 Notou-se para os teores de clorofila *a* diferença significativa entre os solventes utilizados,
 223 observando-se maiores médias, $7,98 \mu\text{g cm}^{-2}$, utilizando como extrator, etanol 90%, seguido
 224 de acetona 80%, $6,48 \mu\text{g cm}^{-2}$ e DMSO, $4,35 \mu\text{g cm}^{-2}$. Diferente dos resultados do presente
 225 estudo, Santos et al. (2011), utilizando pedaços de folhas, com aproximadamente de 0,2 cm e
 226 0,2 g, previamente incubados em acetona e etanol 80%, a 5°C , por 24 h, verificaram maiores
 227 teores de clorofila *a*. Esses resultados podem ter sido discordantes, provavelmente, em
 228 função da temperatura de incubação, 5°C pelos autores e, neste estudo com camu-camu,
 229 65°C , por o etanol ser mais eficiente em menores temperaturas e o mais polar entre os
 230 solventes orgânicos testados (Santos et al., 2011). Ainda, as moléculas de clorofilas são
 231 instáveis e possuem ligações muito frágeis com a membrana tilacóide, podendo sofrer efeito
 232 da temperatura tornando-a mais permeável e, também, ser rompida com facilidade para
 233 melhor extração dos pigmentos com o uso de solventes orgânicos como o etanol (Streit et al.,
 234 2005). Experimento similar, em folhas *Physalis angulata*, observou satisfatória rapidez para
 235 extração das clorofilas em etanol 95% e DMSO, ocorreu no tempo 24 horas de incubação,
 236 porém para acetona 80%, o tempo dobrou, no entanto, demonstrou ser suficiente para
 237 extração total dos pigmentos (Tanan, 2019).

238 Para os teores de clorofila *b*, dos solventes testados, o DMSO se destacou significativamente
 239 obtendo maior média, $10,13 \mu\text{gcm}^{-2}$, enquanto acetona 80% e etanol 90% não apresentaram
 240 diferença significativa, entre si, $3,04 \mu\text{g cm}^{-2}$ e $2,83 \mu\text{g cm}^{-2}$, respectivamente. Resultado
 241 corrobora com o estudo de Cruz et. al (2007), que relataram a alta eficiência do DMSO,
 242 quando comparados com outros métodos de extração que utilizaram solventes orgânicos,
 243 estudados em híbridos de *B. orellana*. O DMSO foi indicado, também, como o melhor
 244 extrator independentemente dos vegetais quando confrontado com etanol ou de acetona 80%
 245 (Pompelli et al.; 2013). A eficiência deste solvente está relacionada à sua elevada estabilidade
 246 e capacidade de difusão por meio de membranas semipermeáveis, além de reconhecida
 247 eficácia como transportador de proteínas (Ronen e Galun, 1984). Ainda, sua praticidade para
 248 obter rápido resultado, bastando breve imersão do material foliar em volume predeterminado
 249 do solvente em curto período de tempo (Kumari et al., 2018).

250 O DMSO, também extraiu maiores quantidades de Clorofila total ($a+b$), $14,47 \mu\text{g cm}^{-2}$,
 251 diferindo significativamente dos demais tratamentos. Enquanto para etanol 90% e acetona
 252 80%, a diferença se mostrou não significativa entre eles, demonstrando média de extração de
 253 $10,81 \mu\text{gcm}^{-2}$ e $9,52 \mu\text{gcm}^{-2}$, nessa ordem. Semelhante resultado, Santos et al. (2008)
 254 obtiveram para extração de pigmentos foliares em porta-enxertos de videira micropropagados,

destacando o DMSO como extrator mais eficiente, embora o período de 48 horas de incubação em temperatura ambiente, 25°C, tenha apresentado superioridade ao de 24 horas na mesma temperatura. Tanan (2019) constataram que a utilização do DMSO não demonstrou efeito significativo à temperatura 65°C, com 1 h ou 24 horas de incubação, comparado à temperatura ambiente, revelando que o processo de extração de pigmentos com esse tratamento não requer altas temperaturas para alcançar sua eficiência.

Os valores médios na razão clorofila *a/b*, não indicaram diferenciação significativa entre etanol 90%, com maior média 2,8 $\mu\text{g cm}^{-2}$, e acetona 80%, com média 2,24 $\mu\text{g cm}^{-2}$. Diferente, o resultado na extração com DMSO apresentou menor média verificada, 0,43 $\mu\text{g cm}^{-2}$, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Cruz et al. (2007) obtiveram resultado similar em que o método de extração da acetona 80% apresentou maior razão clorofila *a/b* em relação ao DMSO em híbridos de urucum (*Bixa orellana*).

Para os carotenóides, o DMSO apresentou maior média, 3,29 $\mu\text{g cm}^{-2}$, diferenciando-se significativamente dos demais métodos de extração. Acetona 80% e Etanol 90% não apresentaram diferença significativa, respectivamente, 1,98 $\mu\text{g cm}^{-2}$ e, 1,54 $\mu\text{g cm}^{-2}$, respectivamente. Resultado distinto do estudo de Santos et al. (2008) em plantas de *V. vinifera* climatizadas, apontou o método com acetona 80% mais eficiente na extração de carotenóides em relação a outros solventes. O resultado, neste estudo, assemelha-se ao de Tanan (2019) em plantas de *Physalis angulata*, embora, de acordo com a autora, o uso de temperatura ambiente foi considerado mais eficiente na extração de carotenóides do que em altas temperaturas (65°C), avaliada dispensável no processo de extração com DMSO.

As médias para o índice de feofitinação (IF) (Tabela 1) não mostraram diferença significativa, embora o etanol 90% tenha apresentado a maior média, 0,83 $\mu\text{g cm}^{-2}$, seguido pelo DMSO, 0,82 $\mu\text{g cm}^{-2}$ e, 0,72 $\mu\text{g cm}^{-2}$, para acetona 80%, os valores muito baixos demonstraram degradação expressiva das clorofilas. De acordo com Ronen e Galun (1984), os valores considerados ideais do índice de feofitinação, precisam estar próximos a 1,4, do contrário, quando acontece redução, indica degradação das clorofilas. Em experimento com hortelã-do-campo e de mangaba, Rosa (2011) observou que o tempo de incubação e temperatura exerceram influência nos resultados do IF, notadamente, diminuição discreta, \pm 5%, quando expostas em baixas temperaturas (25°C) e mais acentuadas em altas temperaturas (65°C), até 14%, variando conforme o período de incubação no solvente orgânico. O resultado observado por Rosa (2011) ajuda a explicar o comportamento do IF, neste estudo, em folhas de mudas de camu-camu que utilizou temperatura de 65°C e tempo 24 horas de incubação em solventes orgânicos.

De modo geral, os teores de clorofila *b*, clorofila total (*a+b*) e carotenóides foram superiores utilizando DMSO como solvente extrator, sugerindo maior eficiência na extração. Além disso, o DMSO apresenta vantagens ao proporcionar praticidade, agilidade no processo na extração de pigmentos e alta capacidade de estabilização dos extratos, visto que não precisa maceração, centrifugação ou filtração (Cruz et al., 2007; Pompelli et al., 2013; Kumari et al., 2018).

295

296 Tabela 1 – Efeito de diferentes extratores nos teores de clorofila *a* $\mu\text{g cm}^{-2}$, clorofila *b* $\mu\text{g cm}^{-2}$, clorofila total
297 (*a+b* $\mu\text{g cm}^{-2}$), razão clorofila *a/b* $\mu\text{g cm}^{-2}$ e carotenoide em folhas de camu-camu (*Myrciaria dubia*) e, índice de
298 feofitinação

Tratamento	Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	Clorofila <i>a+b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	Razão <i>a/b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	Carotenóides ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	Índice de Feofitinação
Acetona	6,48 \pm 0,30 B	3,04 \pm 0,82 B	9,52 \pm 0,74 B	2,24 \pm 0,56 A	1,98 \pm 0,77 B	0,72 \pm 0,11 A
DMSO	4,35 \pm 0,44 C	10,13 \pm 1,30 A	14,47 \pm 1,70 A	0,43 \pm 0,03 B	3,29 \pm 0,19 A	0,82 \pm 0,01 A
Etanol	7,98 \pm 1,09 A	2,83 \pm 0,56 B	10,81 \pm 1,63 B	2,85 \pm 0,26 A	1,54 \pm 0,32 B	0,83 \pm 0,04 A
CV (%)	11,23	17,76	12,31	19,63	21,71	9,06

299 Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de
300 probabilidade, pelo Teste de Tukey.

301 **Efeito do tempo e da temperatura de incubação no teor de pigmentos fotossintéticos**

302 Os resultados do efeito do tempo e da temperatura de incubação no teor de pigmentos
303 fotossintéticos e índice de feofitinação estão apresentados na Tabela 2.

304

305 Tabela 2 – Efeito do tempo e da temperatura de extração nos teores de pigmentos fotossintéticos e feofitinação
306 em folhas de camu-camu utilizando DMSO como solvente extrator.

Clorofila <i>a</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)				Clorofila <i>b</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)		
	6h	12h	24h	6h	12h	24h
25°C	9,17 Aa \pm 1,06	10,19 Aa \pm 0,63	9,30 Aa \pm 1,04	3,53 Ab \pm 0,47	3,87 Ab \pm 0,59	5,02 Ab \pm 1,51
65°C	5,06 Ab \pm 1,16	4,43 Ab \pm 0,31	3,82 Ab \pm 0,50	10,70 Aa \pm 0,89	10,95 Aa \pm 1,29	9,22 Aa \pm 1,06
CV (%)	12,16			14,43		
Clorofila total (<i>a</i> + <i>b</i>) ($\mu\text{g cm}^{-2}$)				Carotenóides ($\mu\text{g cm}^{-2}$)		
	6h	12h	24h	6h	12h	24h
25°C	12,70 Ab \pm 0,97	14,06 Aa \pm 0,87	14,32 Aa \pm 1,60	2,85 Aa \pm 0,49	3,89 Aa \pm 0,91	3,35 Aa \pm 0,47
65°C	15,76 Aa \pm 0,86	15,38 Aa \pm 1,16	13,04 Ba \pm 1,05	3,31 Aa \pm 0,69	3,28 Aa \pm 0,34	2,98 Aa \pm 0,36
CV (%)	7,88			17,79		
Índice de Feofitinação				Razão <i>cla/clb</i> ($\mu\text{g cm}^{-2}$)		
	6h	12h	24h	6h	12h	24h
25°C	1,26 Aa \pm 0,06	1,26 Aa \pm 0,03	1,14 Ba \pm 0,08	2,64 Aa \pm 0,55	2,67 Aa \pm 0,44	1,98 Aa \pm 0,62
65°C	0,90 Ab \pm 0,02	0,88 Ab \pm 0,08	0,92 Ab \pm 0,01	0,47 Ab \pm 0,13	0,41 Ab \pm 0,07	0,42 Ab \pm 0,07
CV (%)	5,43			27,28		

307 Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas (tempo) e mesmas letras minúsculas nas colunas
308 (temperatura) não diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade, pelo Teste de Tukey.

309

310

311 Houve interação das temperaturas de incubação (25°C e 65°C) em todos os tempos avaliados
312 (6, 12, 24 horas), na extração de clorofila *a*, clorofila *b*, razão de clorofila *a/b* e também índice
313 de feofitinação (Tabela 2). Para clorofila total, verificou-se efeito das temperaturas testadas
314 somente no tempo 6h de incubação, não se observando diferença significativa para os demais
315 tempos. Já para carotenoides, a temperatura de incubação não apresentou diferença
316 significativa em nenhum dos tempos avaliados (Tabela 2). Quanto ao fator tempo, não
317 representou influência significativa na determinação de extração do teor de clorofila *a*,
318 clorofila *b*, razão de clorofila *a/b* e carotenoides nas duas temperaturas testadas, exceto para
319 clorofila total e índice de feofitinação no tempo 24 horas em temperatura 65°C e 25°C,
320 respectivamente.

321 Para clorofila *a*, não se verificou influência do fator tempo, porém diferenças significativas
322 foram verificadas em relação à temperatura (Tabela 2). Verificou-se maior média de extração
323 de clorofila *a* na temperatura de 25°C e menor média, para temperatura 65°C, para todos os
324 tempos, apresentando diferenças significativas (Tabela 2). A temperatura de 65°C, em folhas
325 de camu-camu, resultou em redução no teor de clorofila *a* sugerindo que temperaturas
326 elevadas, utilizando DMSO, promovem sua degradação. Conforme observado por Tanan
327 (2019), em período de 1 h ou 24 h de incubação, a utilização de temperaturas elevadas de
328 65°C são dispensáveis no processo de extração de clorofila *a* em folhas *Physalis angulata*,
329 por provocarem deterioração significativa desse pigmento quando utilizado DMSO.
330 Semelhante ao presente estudo, Rosa (2011), em plântulas de hortelã do campo, também
331 observaram maior média nos teores de clorofila *a* na temperatura de 25°C em relação à de
332 65°C em tempos de incubação entre 24 e 48 horas.

333 Similar ao verificado para clorofila *a*, o tempo de incubação não influenciou no teor de
334 clorofila *b* (Tabela 2). Porém, diferente da clorofila *a*, os teores de clorofila *b* foram
335 superiores a 65°C com menores médias a 25°C (Tabela 2). Cruz et al. (2007) em folhas de
336 urucum (*Bixa orellana*), cultivadas *in vitro*, diferente deste estudo, verificou teores mais
337 elevados de *clb* em temperatura ambiente que a 65°C utilizando DMSO, porém, dos tempos
338 utilizados (24, 48 e 72 horas) mostrarem-se satisfatórios, o que obteve melhor resultado foi o
339 de 48h de incubação. No entanto, os resultados deste estudo estão de acordo com os de Rosa

340 (2011), em plântulas de hortelã do campo, que também observaram maior média nos teores de
341 *clb* na temperatura de 65°C, estando divergente conforme o tempo de incubação (4, 8, 12, 24
342 e 48 horas) que demonstrou acréscimos nos teores deste pigmento com aumento do tempo de
343 exposição ao DMSO.

344 Com relação ao teor de clorofila total (*a+b*) verificou-se influência do tempo e da temperatura
345 (Tabela 2). Em relação ao tempo, o teor de clorofila total, a 65°C, apresentou menores teores
346 em 24h (13,04 $\mu\text{g cm}^{-2}$), diferindo significativamente em 12 h (15,38 $\mu\text{g cm}^{-2}$) e 6 h (15,76 μg
347 cm^{-2}) de incubação. Quanto à temperatura, verificou-se diferenças significativas, com maiores
348 médias observadas a 65°C e menores a 25°C (Tabela 2). Divergindo do resultado obtido por
349 Rosa (2011), o qual verificou maior extração de clorofilas total (*a+b*) em hortelã do campo na
350 temperatura 25°C. Segundo Barbieri Junior et al. (2010) em folhas do capim-Tifton 85 o
351 período 48 horas de incubação em DMSO demonstrou estabilidade de valores indicando
352 efetiva extração e maior eficiência na quantificação dos pigmentos em temperatura 25°C.

353 Na extração de carotenoides, nem o tempo nem a temperatura apresentaram diferenças
354 significativas (Tabela 2). Estes resultados sugerem que, a extração de carotenoides,
355 independente da temperatura e do tempo apresentam valores estáveis. Diferente deste estudo,
356 Tanan (2019) verificaram a temperatura de 65°C não apresentou eficácia para o processo de
357 extração de carotenóides, apontando que a temperatura ambiente é mais eficiente em folhas
358 *Physalis angulata* utilizando DMSO como solvente extrator. Rosa (2011) observou em
359 plântulas de hortelã-do-campo melhores resultados na extração de carotenóides na
360 temperatura 25°C em comparação a de 65°C, embora, no mesmo estudo, a extração de
361 carotenóides em plântulas de mangaba tenha demonstrado não sofrer influência significativa
362 da temperatura nem do tempo de incubação.

363 Semelhante ao verificado para clorofila *a*, à razão clorofila *a/b* apresentou maiores médias
364 para a temperatura de 25°C com redução significativa para todos os tempos avaliados, na
365 temperatura de 65°C (Tabela 2). Diferente deste estudo, Silva (2019) verificou maior razão
366 clorofila *a/b*, em folhas de brócolis, na temperatura 65°C, mostrando maior eficiência em
367 temperaturas mais altas.

368 Em função do tempo de incubação observou-se diminuição no índice de feofitinação para o
369 tempo de 24 h que diferenciou de 6 h e 12 h, em temperatura de 25°C (Tabela 2). Para
370 temperatura, verificaram-se maiores médias, 1,26, em temperatura de 25°C e redução, menor
371 média 0,88, na temperatura de 65°C. Os valores considerados adequados para o índice de
372 feofitinação devem estar próximos a 1,4, abaixo disso, havendo redução, sugere à
373 degradação das clorofilas, principalmente clorofila *a*, e aumento da feofitina (Ronen e Galun,
374 1984). O estudo em grãos de soja secos pós-colheita em alta temperatura (60°C), feito por
375 Borrmann (2009), demonstrou a sensibilidade da clorofila, tender a ser convertida em
376 feofitina, reduzindo de forma mais acentuada o teor desses pigmentos, especialmente clorofila
377 *a*, atribuída principalmente ao processo de feofitinação. Resultado similar, com plântulas de
378 hortelã-do-campo e mangaba, Rosa (2011) observou significativa influência da temperatura e
379 tempo de incubação nos resultados do índice de feofitinação, especialmente, mais
380 acentuadas quando em altas temperaturas (65°C), até 14%, e diminuição discreta, $\pm 5\%$,
381 quando expostas em baixas temperaturas (25°C), variando conforme o período de incubação
382 em solvente orgânico. O comportamento dos valores do índice de feofitinação, em folhas de
383 mudas de camu-camu, pode ser explicado, neste estudo, por não se distanciar dos resultados
384 obtidos nas pesquisas ante apresentadas.

385 De modo geral, os resultados obtidos para extração de pigmentos cloroplastídicos dos tecidos
386 foliares de camu-camu indicaram que a temperatura exerceu influência acentuada enquanto
387 que o tempo de incubação, foi mínima. A temperatura de 25°C se mostrou mais eficiente
388 relação à temperatura de 65°C para a extração de pigmentos fotossintéticos. Apesar de o teor
389 de clorofila *b* ter sido maior na temperatura de 65°C, o mesmo não foi verificado para

390 clorofila *a* que sofreu degradação e redução em seus teores. O índice de feofitinação reforça
391 a ideia de degradação da clorofila *a* e maior estabilidade da clorofila *b* na temperatura de
392 65°C. Utilizando DMSO como solvente extrator, nas condições experimentais deste estudo,
393 sugere-se ser mais adequada a temperatura de 25 °C e o menor tempo de incubação (6 h) para
394 extração de pigmentos fotossintéticos em folhas de camu-camu.

395

396 CONCLUSÕES

397 Os resultados deste estudo subsidiam as seguintes afirmações para comparação entre métodos
398 de extração de pigmentos fotossintéticos em folhas de camu-camu (*Myrciaria dubia*):
399 Dimetilsulfóxido (DMSO) demonstra ser mais eficiente na extração de pigmentos
400 fotossintéticos em relação ao etanol e acetona.

401 A temperatura de incubação exerce influência na extração de pigmentos fotossintéticos
402 enquanto que o tempo de incubação não foi estatisticamente significativo.

403 A temperatura de 25°C é mais eficiente em relação à de 65°C para a extração de clorofilas, e
404 demonstra haver interação significativa.

405

406 AGRADECIMENTOS

407 À FAPESPA pelo apoio financeiro ao projeto em rede “Várzeas e Ribeiras do Baixo
408 Amazonas”, subprojeto 9 – Estudos de germinação, crescimento e composição química de
409 espécies frutíferas com potencial antioxidante. E, em especial, ao prof. Dr. Domingos Luis
410 Wanderley Picanço Dinis (in memoriam), coordenador da rede, pelo convite para integrarmos
411 essa pesquisa, nossa homenagem.

412

413 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

414

415 Arnon, DI. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*.
416 **Revista Plant Physiology**, v.24, n. 1, p.1-15, 1949.<https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>

417

418 Argenta G, Silva PRF, Bortolini CG, Forsthofer EL, Strieder ML. Relação da leitura do
419 clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista**
420 **Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

421

422 Borrmann D. Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na
423 degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabolito incolor. Ano de obtenção:
424 2009. 107 p. Tese (Doutorado em Ciência dos alimentos) Universidade de São Paulo, São
425 Paulo.

426

427 Barbieri Junior E, Rossiello R, Morenz M, Ribeiro R. Comparação de métodos diretos de
428 extração e quantificação dos teores de clorofilas em folhas do capim-Tifton 85. **Revista**
429 **Ciência Rural**, v.40, n. 3, p. 633-636, 2010. [https://doi.org/10.1590/S0103-](https://doi.org/10.1590/S0103-84782010000300022)
430 [84782010000300022](https://doi.org/10.1590/S0103-84782010000300022)

431

432 Conceição N, Albuquerque B, Pereira C, Corrêa R, Lopes C, Calhêla R et al. By- Products
433 of Camu-Camu [*Myrciaria dubia* (kunth) Mcvaugh] as Promising Sources of Bioactive High
434 Added-value food Ingredients: Functionalization of yogurts. **Revista MDPI- Publisher of**
435 **Open Access Journals**, v.25, n. 70, p. 2-17, dez. 2019. [https://doi.org/10.3390/](https://doi.org/10.3390/molecules25010070)
436 [molecules](https://doi.org/10.3390/molecules25010070)
437 [25010070](https://doi.org/10.3390/molecules25010070)

- 438 Cunha E. E. Avaliação e caracterização dos compostos bioativos do camu-camu (*Myrciaria*
439 *dubia* (H.B.K) Mc Vaugh). Ano de obtenção: 2018. 128 p. Tese (Doutorado) –Universidade
440 Estadual de Campinas, São Paulo.
- 441
442 Cruz ACF, Santos RP, Iarema L, Fernandes KRG, Kukis KN, Araújo RF et al. Métodos
443 Comparativos na Extração de Pigmentos Foliaves de Três Híbridos de *Bixa orellana* L.
444 **Revista Brasileira de biociência**. v. 5, n. 52, p. 777-779, 2007.
- 445
446 Delgado, J.P. M. Efeito da adubação e da poda na arquitetura de mudas de camu-camu. Ano
447 de obtenção: 2010. 32 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura) - Instituto Nacional de
448 Pesquisa da Amazônia. Manaus.
- 449
450 Ferreira, R. F. Extração de pigmentos cloroplastídicos em tomateiro: ajuste de metodologia.
451 Ano de obtenção: 2018.19 p. Conclusão (Bacharelado em Agronomia)
452 Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos.
- 453
454 Ferreira DF. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs.
455 **Revista brasileira de biometria**, v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. ISSN 1983-0823.
456 <https://doi.org/10.28951/rbb.v37i4.450>.
- 457
458 Kumari R, Ashraf S, Bagri GK, Khatik SK, Bagri DK, Bagdi DL. Extração e estimativa do
459 teor de clorofila da cultura de lentilha tratada com sementes usando DMSO e acetona.
460 **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**. v. 7, n. 3, p. 249-250, 2018.
- 461
462 Lichtenthaler HK. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes.
463 **Revista Methods in Enzymology**, v. 148, p. 350-382, 1987. [https://doi.org/10.1016/0076-](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
464 [6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1).
- 465
466 Lichtenthaler HK, Buschmann C. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and
467 characterization by UV-VIS spectroscopy. **Revista Current Protocols in Food Analytical**
468 **Chemistry**. 2001. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- 469
470 Mendes AMS, Lima Junior MJV. camu-camu *Myrciaria dubia*(kunth) Mc Vaugh: associação
471 Brasileira de Tecnologia de sementes ABRATES. Manaus: CTSV, 5 p. 2017.
- 472
473 Mesa, N. F. O. Avaliação do teor de clorofila em mudas de cana-de-açúcar por meio de
474 imagens espectrais. Ano de obtenção: 2018.144 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia
475 Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas. São Paulo.
- 476
477 Nascimento WMO, Carvalho JEU. A cultura do camu-camu. Brasília: Embrapa, 81p. 2012.
- 478
479 Pompelli MF, França SC, Tigre RC, Oliveira MT, Sacilot M, Pereira EC. Spectrophotometric
480 determinations of chloroplastidic pigments in acetone, ethanol and dimethylsulphoxide.
481 **Revista Brasileira de Biociência**, v. 11, n.1, p.52-58, jan/mar. 2013.
- 482
483 Rosa, M. Metodologia para avaliação da eficiência fotossintética in vitro de plantas do
484 cerrado. Ano de obtenção: 2011. 101 p. Dissertação (Mestrado em ciências Agrárias) –
485 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde.
- 486

- 487 Ribeiro, P. F. Composto Bioativos de camu-camu (*Myrciaria dubia*) em função do ambiente
488 de cultivo e do estadio de maturação. Ano de obtenção: 2012. 128 p. Tese (Doutorado em
489 ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais.
490
- 491 Ronen R, Galun M. Pigment extraction from liquens with dimethylsulfoxide (DMSO) and
492 estimation of chlorophyll degradation. **Revista Environmental and Experimental Botany**,
493 v. 24, p. 239-245. 1984. [http://dx.doi.org/10.1016/0098-8472\(84\)90004-2](http://dx.doi.org/10.1016/0098-8472(84)90004-2).
494
- 495 Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Yoga LL. Extraction, isolation and
496 characterization of bioactive compounds from plants extracts. **African Journal of Traditional,**
497 **Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n 1, p. 1-10, 2011.
498
- 499 Santos RP, Cruz FAC, Iarema L, Kuki KN, Otoni WC. Protocolo para extração de pigmentos
500 foliares em porta-enxertos de videira micropropagados. **Revista Ceres**, v. 55, n. 4, p. 356-
501 364, 2008.
502
- 503 Santos RP, Cruz ACF, Iarema L, Fernandes KRG, Kuki KN, Otoni WC. Avaliação da
504 Eficiência do Dimetilsulfóxido na extração de pigmentos foliares *Vitis vinifera x V.*
505 *rotundifolia e V. riparia* Propagadas *in vitro*. **Revista Brasileira de Biociência**, v.5, n. 2, p.
506 888-890, 2007.
507
- 508 Santos MJ, Neto EB, Barreto LP. Teor de clorofila em folhas de pau-brasil utilizando
509 diferentes técnicas de extração e solventes. XI Jornada de ensino, pesquisa e extensão-
510 JEPEX. Recife: UFRPE, 2011,
511
- 512 Silva, N. C. da. Uso de metodologias alternativas na secagem de diferentes materiais visando
513 a preservação de compostos bioativos. Ano de obtenção: 2019. 209 p. Tese (Doutorado em
514 Engenharia Química) Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.
515
- 516 Silva, RC. Ajuste de metodologia para extração de pigmentos em folhas de repolho e brócolis.
517 Ano de obtenção: 2019. 29 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia)
518 – Instituto Federal Goiano, Campus Morrinhos.
519
- 520 Silva FRN, Souza GAR, Ferreira TR, Costa RJ, Correia LZ, Neto BC et al. Caracterização
521 anatômica e pigmentos fotossintéticos de folhas de mudas de cacauero submetidas ao
522 alagamento. XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica Júnior da Univap 2018.
523
- 524 Silva AA, Santos MKV, Gama JRV, Noce R, Leão S. Potencial do Extrativismo da castanha-
525 do-Pará na geração de renda em comunidades da mesorregião Baixo Amazonas, Pará, Brazil.
526 **Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 4, p. 500–509, 2013. [http://dx.doi.org/10.4322/floram.2013.](http://dx.doi.org/10.4322/floram.2013.046)
527 046
528
- 529 Siviero A, Oliveira LC, Pereira AA, Mendonça AS, Nascimento FSS, Yuyama K. Introdução
530 e avaliação de camu-camu (*Myrciaria dubia*). Congresso brasileiro de recursos genéticos.
531 Anais eletrônicos. Brasília: Embrapa Acre, 2012.
532
- 533 Streit NM, Canterle LP, Canto MW, Helena LHH. As clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n. 3, p.
534 748-755, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000300043>
535

- 536 Tanan, TT. Absorção, assimilação e transporte de nitrogênio em plantas de *physalis angulata*.
537 Ano de obtenção: 2019. 130 p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais.) -
538 Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia.
539 .
- 540 Wellburn AR. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids,
541 using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant**
542 **Physiology**, v. 144, p.307-313, 1994. [http://dx.doi.org/ 10.1016/S0176-1617\(11\)81119-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81119-2).
543
- 544 Yuyama K. A cultura de camu-camu no brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n.
545 2, p.335-690, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000200001>
546
- 547 Yuyama K, Mendes NB, Valente JP. Longevidade de sementes de camu-camu submetidas a
548 diferentes ambientes e forma de conservação. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 2,
549 p.601-607, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000067>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
REITORIA
SISTEMA INTEGRADO DE BIBLIOTECAS

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

1. Identificação do autor

Nome completo: Idelvina Souza da Silva

CPF: 404.147.792-15

RG: 3024350

Telefone: (93) 9904-0800

E-mail: idelvinasouza0975@gmail.com

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página de rosto?

(X) Sim () Não

2. Identificação da obra

() Monografia () TCC () Dissertação () Tese (X) Artigo científico () Outros: _____

Título da obra: Comparação de Métodos de Extração de Pigmentos Fotossintéticos em Folhas de *Myrciaria Dubia* da Amazônia

Programa/Curso de pós-graduação: Bacharelado Interdisciplinar em Ciências Agrárias

Data da conclusão: 04/02/2022

Agência de fomento (quando houver):

Orientador: Prof. Dr. Elcio Meira da Fonseca Júnior

Email: meirafonseca@yahoo.com.br

Coorientador: _____

Examinadores: Prof^o. Dr^a. Elaine Cristina Pacheco de Oliveira; Prof^o. Dr^a. Fabrizia Sayuri Otani

3. Informação de disponibilização do documento:

O documento está sujeito a patentes? () Sim (X) Não

Restrição para publicação: () Total () Parcial (X) Sem restrição

Justificativa de restrição total*: _____

4. Termo de autorização

Autorizo a Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) a incluir o documento de minha autoria, acima identificado, em acesso aberto, no Portal da instituição, no Repositório Institucional da Ufopa, bem como em outros sistemas de disseminação da informação e do conhecimento, permitindo a utilização, direta ou indireta, e a sua reprodução integral ou parcial, desde que citado o autor original, nos termos do artigo 29 da Lei nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, e da lei 12.527 de novembro de 2011, que trata da Lei de Acesso à Informação. Essa autorização é uma licença não exclusiva, concedida à Ufopa a título gratuito, por prazo indeterminado, válida para a obra em seu formato original.

Declaro possuir a titularidade dos direitos autorais sobre a obra e assumo total responsabilidade civil e penal quanto ao conteúdo, citações, referências e outros elementos que fazem parte da obra. Estou ciente de que todos os que de alguma forma colaboram com a elaboração das partes ou da obra como um todo tiveram seus nomes devidamente citados e/ou referenciados, e que não há nenhum impedimento, restrição ou limitação para a plena validade, vigência e eficácia da autorização concedida.

Santarém, 08/02/2022.

Idelvina Souza da Silva

Assinatura do autor

5. Tramitação no curso

Secretaria / Coordenação de curso

Recebido em ____/____/____.

Responsável: _____

Siape/Carimbo