UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

RELATÓRIO FINAL PIBIC/PAIC 2015-2016

UFAM

FORMULÁRIO PARA RELATÓRIO FINAL

1. **Identificação do Projeto**

Título do Projeto PIBIC/PAIC

Radiação gama e integridade química de preparos de *Mansoa alliaceae.*

Orientador

Geone Maia Corrêa

Aluno

João Pedro Coelho Gomes

2. **Informações de Acesso ao Documento**

2.1 Este documento é confidencial?

[ ] **SIM** [X] **NÃO**

2.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

[ ] **SIM** [X] **NÃO**

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

[ ] **SIM** [X] **NÃO**

2.4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados? Especifique.

3. Introdução

Os ecossistemas tropicais têm sido intensamente explorados nas últimas décadas, em especial a floresta amazônica. Contudo a importância da conservação deste ecossistema tem sido ressaltada em várias situações, o que justifica não apenas em decorrência de questões idealistas, mas, especialmente, em razão de aspectos econômicos e sociais concretos, tais como: conservação da diversidade existente para o uso futuro (especialmente na indústria farmacêutica) e exploração imediata dos recursos florestais múltiplos como plantas medicinais através de um manejo sustentado.[1]

A família Bignoniaceae é representada por aproximadamente 800 espécies em 110 gêneros. São plantas lenhosas, com folhas opostas compostas e são predominantemente lianas.[2] Grande parte das espécies de Bignoniaceae tem uso na medicina popular com destaque para espécies do gênero *Mansoa*. Estudos com a espécie *Mansoa hirsuta* revelou atividade antioxidante e potente agente vasodilator, [3] outra espécie a ser destacada é a espécie *Mansoa alliacea*.

Estudos realizados com espécies do gênero *Mansoa* descrevem a presença de óleos essenciais e substâncias triterpênicas com esqueletos ursano e oleano, além de flavonoides, naftoquinonas, aminoácidos e sulfetos, há também citação de estudo evidenciando a atividade inibidora do crescimento dos fungos *Microsporum gyseum* e *Tricophyton mentagrophytes*.[4] Devido a grande aplicação terapêutica na medicina popular da Região Amazônica e a escassez de estudos e informações científicas seguras quanto ao uso deste vegetal, faz-se necessário o estudo químico e biológico da espécie *Mansoa alliaceae*.

Ao contrário dos métodos químicos, o processo de irradiação gama até uma determinada dosagem, não deixa nenhum resíduo tóxico que possa causar dano à saúde. Estudos sugerem que para que ocorra a descontaminação de produtos derivados de vegetais, a radiação gama do ^{60}Co é a alternativa mais eficiente. Entretanto, de acordo com a legislação brasileira, a utilização de métodos para eliminar contaminantes deve ser estudada quanto à possibilidade e eventuais alterações da matéria-prima. Isso se deve ao fato de que junto com o controle da qualidade microbiológica por meio da irradiação, algumas outras substâncias químicas e/ou biológicas presentes nos vegetais também podem ser afetadas, causando a diminuição dos seus teores nos vegetais, o que não é do interesse na maioria dos estudos[5-8].

Justificativa

O tratamento de produtos de ervas medicinais por radiação gama proporciona uma alternativa eficaz para reduzir ou eliminar a contaminação microbiana,[9] além de ser um processo físico tecnicamente viável, econômico, seguro e não deixa resíduos tóxicos.[10]A dose média global máxima absorvida e aplicável em ervas aromáticas secas, especiarias e condimentos vegetais para esterilização é de 10 kGy, de acordo com o Codex Alimentarius Norma Geral para a radiação.[11] Os raios gama de radionuclídeos Co-60 e Cs-137 são utilizados na radiação de alimentos [12] para a descontaminação de ervas com doses variando de 3 a 10 kGy, mostrando-se uma alternativa bastante adequada em relação a fumigação ou vapor.[9] A radiação gama a uma dose de 7,5 kGy para materiais vegetais resulta na esterilização total de bactérias aeróbias, fungos e coliformes abaixo dos níveis detectáveis.[13] Porém, estudos sugerem que o tratamento de tecidos de plantas com raios gama está sujeito a uma condição de tensão, devido à formação de radicais oxidativos intracelulares. Estes radicais originam-se durante a radiólise da água presente no material.[13] Os radicais formados podem reagir com os componentes celulares para provocar a peroxidação dos lipídeos da membrana.[14]

Considerando a riqueza da flora amazônica, torna-se premente a investigação de novas drogas a partir do estudo fitoquímico de espécies vegetais encontradas na região. Neste trabalho será realizado o estudo químico e biológico de *Mansoa alliacea* (Bignoniaceae), uma espécie vegetal bastante utilizada na medicina tradicional da Região Amazônica. Dessa forma, este projeto tem grande relevância, uma vez que, seu direcionamento é avaliar a composição química presente no óleo essencial e nas folhas desta espécie vegetal. Além disso, realizar-se-á avaliação biológica de citotoxicidade frente ao microcustaceo *Artemia salina*. Os estudos de avaliação com o microcrustáceo *Artemia salina* é considerado também bastante relevante para os projetos de estudos fitoquímicos, pois estes ensaios irão contribuir com informações valiosas a respeito de possíveis correlações farmacológicas das amostras que serão avaliadas. Aliado a estes estudos, verificar o efeito da radiação gama em preparos de *Mansoa Alliaceae* contribuirá para conhecimento sobre doses de radiação que não altere a composição química das amostras avaliadas.

4. Objetivos

4.1 Objetivos gerais

Avaliar a integridade química de preparos obtidos de *Mansoa alliaceae* após uso da radiação gama.

5. METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

6.1 Coleta do Vegetal-Extração de óleo essencial

Foram coletadas as folhas, de *Mansoa alliaceae (cipó-alho)* no mês de agosto para extração de óleo essencial.

6.2 Coleta do Vegetal- Preparação do Extrato

As folhas e galhos de *Mansoa alliaceae* foram coletados na região urbana de Itacoatiara. Após a coleta, o material vegetal foi armazenado em estufa com circulação de ar a 60ºC para secagem. Em seguida, o material vegetal foi triturado em moinho de facas e armazenado em sacolas de papel. Posteriormente, deu-se início ao preparo do extrato através do método de maceração.

6.3 Extração dos óleos essenciais

O óleo essencial de *Mansoa alliaceae*, foi obtido por hidrodestilação das folhas, em aparelho de Clevenger durante seis horas de extração. Em seguida, o óleo obtido foi centrifugado por 10 minutos a 3500 rpm para separação e retirada da água. O óleo obtido de *Mansoa alliaceae* foi mantido em frasco âmbar, tampado e sob refrigeração para análises químicas posteriores.

6.4Preparo e fracionamento do extrato

Inicialmente 593 g do material seco e triturado foram transferidos para um funil de separação, seguido de extração por um período de 24 horas por três vezes com cada solvente. Utilizando os solventes hexano, clorofórmio, metanol, acetato de etila e solução hidroalcoolica separadamente.

6.5 Análise em CG-EM

O óleo extraídos foi submetidos à análise em CG-EM em equipamento SHIMADZU acoplado a espectrômetro de massas SHIMADZU QP2010. Para cromatografia dos componentes foi empregada coluna DB-5MS, com 30 m x 0,25mm, espessura do filme interno de 0,25µm. A identificação dos constituintes foi feita por interpretação de seus respectivos espectros de massas e índice de retenção linear (Índice de Kovat's), além de comparação com dados da literatura. Essas análises foram realizadas em parceria com a Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP.

6.7 Prospecção fitoquímica

A prospecção fitoquímica foi realizada para caracterização dos metabólitos secundários presentes no extrato bruto e frações. Foram feitos os seguintes testes de detecção: fenóis, taninos, flavonoides, catequinas, flavonas, alcaloides, terpenos e saponinas. O extrato bruto e frações foram analisados através do ensaio em tubos segundo a metodologia descrita por Matos (2009)[14].

Inicialmente pesou-se 150 mg de extrato bruto seco (ExCA) e realizou-se 3 extrações com 10 mL de clorofórmio. Ao resíduo insolúvel acrescentou-se 50 mL de metanol (70%). Em seguida, transferiu-se a solução para um balão volumétrico de 100 ml e o volume foi completado com metanol a 70%. Esta amostra foi utilizada como solução estoque. Para as frações de acetato (FACA), butanol (FBCA) e hidroalcóolica (FHACA) pesou-se 30 mg e solubilizaram-se em 50 mL de metanol (70%), transferiu-se para um balão de 100 mL e em seguida seus volumes foram completados com metanol (70%), ajustando o pH para 4. Numerou-se 12 tubos de ensaio de 1 a 6 em duplicata e um tubo com a solução padrão para posterior comparação.

6.7 Teste para fenóis e taninos

Colocou-se 3 mL de solução estoque dentro do tubo 1. Em seguida, foram adicionadas três gotas de $FeCl_3$. Foram feitas observações e comparações com a amostra em branco.

6.8 Teste para flavonoides

Nos tubos 2, 3 e 4 foram acrescentados 3 mL de solução estoque. Posteriormente, no tubo 2 ajustou-se o pH para 3 com HCl , no tubo 4 ajustou-se o pH para 8,5 com NaOH e no tubo 4 ajustou-se o pH para 11. Observando qualquer mudança na coloração da solução.

6.9 Teste para catequinas e flavonas

Nos tubos 5 e 6 foram acrescentados 3mL de solução estoque. No tubo 5 ajustou-se o pH para 3 com HCl, no tubo 6 ajustou-se o pH para 11 com NaOH. Os tubos 5 e 6 foram aquecidos na chama do bico de Bunsen por três minutos, e então, foram comparados com o tubo contendo a solução padrão.

6.8 Teste para alcaloides

Este teste foi realizado segundo a metodologia de Matos (2009)[14]. Utilizou-se o clorofórmio como solvente. Foram solubilizados 25mg de extrato bruto seco (ExCA) e suas respectivas frações: Acetato de etila (FACA), Butanol (FBCA) e Hidroalcóolica (FHACA) em HCl 5%. Por filtração simples, separou-se quatro porções de 1 mL em tubos de ensaio e adicionaram-se gotas de reagente de Mayer e Dragendorff.

6.9 Teste para terpenos (Lieberman-Burchard)

Foi realizado segundo metodologia de Matos (2009)[15]. A solução clorofórmica preparada anteriormente de ExCA (extrato bruto) foi filtrada em funil simples sendo utilizado o Na_2SO_4 anidro para retirada de água. Foram acrescentados 1 ml de anidrido acético seguido de agitação suave. Posteriormente, acrescentaram-se três gotas de H_2SO_4. Para as frações hexano (FHCA) e clorofórmio (FCCA) pesou-se 30 mg. Em seguida, foram acrescentados 5 mL de clorofórmio seguido de agitação observando-se mudança na coloração.

6.10 Teste para saponinas

O ensaio foi realizado segundo metodologia de Matos (2009)[14]. 300mg do ExCA (extrato bruto) foi extraído com 5 mL de clorofórmio. Para as frações de acetato (FACA), butanol (FBCA) e hidroalcóolica (FHACA) pesou-se 30 mg das frações. Em seguida, o resíduo foi solubilizado em 10 mL de água destilada e filtrado com auxilio de um funil para um tubo de ensaio. Após agitação por 2 minutos observou formação de espuma abundante e persistente.

6.11 Teste confirmatório para saponinas

Foram adicionados 2 mL de HCl concentrado ao conteúdo do tubo preparado no teste anterior. Posteriormente, as amostras foram mantidas por aproximadamente 1 hora e 30 minutos imerso em banho-maria. Após esfriar a amostra foi neutralizada com auxilio de uma solução de NaOH, e em seguida, agitou-se vigorosamente durante 2 minutos.

6.11 Avaliação em placas cromatográficas

Para realização de ensaio em placas cromatográficas primeiramente foram preparadas as soluções estoque, solubilizando 10 mg do extrato bruto seco (EXCA) e das frações Hexano (FHCA), Clorofórmio (FCCA), Acetato (FACA), Metanol (FMCA) e Hidroalcóolica (FHACA) em 1 mL de metanol. Para eluição das placas cromatográficas foram utilizados os seguintes sistemas: butanol, água e ácido acético (BAW) na proporção (4:5:1); Hexano:Acetato de etila (7:3). Os reveladores utilizados foram NP/PEG e Valinina.

6.12 Teste de citoxicidade em *Artemia salina*

Cistos de *A. salina* foram incubados em solução salina (10 mg de cistos/100 mL de solução). Após 24 h sob iluminação artificial a 28 ºC, os náuplios de *A. salina* (primeiro estágio larval) foram transferidos para outro aquário contendo solução salina e mantidos em nova incubação por mais 24 h sob iluminação artificial a 28 ºC, obtendo-se apenas metanáuplios de *Artemia salina* denominados de cultura pura [16].

O óleo essencial obtido foi diluído em DMSO nas concentrações de 500 µg/mL. Em seguida, as amostras previamente diluídas, adicionadas em alíquotas de 5,0 mL de solução salina (solução 37% de sal marinho) e, posteriormente, a solução foi acrescida de 10 larvas de *A. salina* por tubo de ensaio. Os testes serão realizados em triplicata. As culturas de *A. salina* foram incubadas a 28 ºC. Após 24 h os microcrustáceos imóveis ou depositados no fundo do tubo de ensaio foram considerados como mortos[16].

6.13 *Irradiação*

A irradiação das amostras foram realizadas no Laboratório de Irradiação Gama (Comissão Nacional de Energia Nuclear do CDTN em Belo Horizonte MG), sob orientação do Dr. Márcio Tadeu Teixeira. A irradiação foi realizada em aparelho de Gama – Cell com fonte de ^{60}Co a doses variáveis de 1, 5, 10 e 20 kGy.

6. RESULTADOS E DISCURSSÃO

Entre os produtos naturais se destacam os óleos essenciais produzidos pelas plantas e armazenados em estruturas anatômicas altamente especializadas, como tricomas glandulares, células oleliferas, cavidades secretoras, ductos e laticíferos [17]. Os óleos podem ser misturas complexas, contendo cem ou mais compostos orgânicos, normalmente voláteis aromáticos, que conferem odor característico à planta [18].

Tabela 1: Rendimento do óleo

Mês	Massa do Material Vegetal (g)	Volume (µL)	Rendimento (%)
Agosto	398,65	80	20,06

A composição dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos [19-20]. No entanto fatores ambientais, como a sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação, nutrientes, altitude entre outros podem causar variações significativas na composição química dos óleos essenciais [21].

7.1 Análise do cromatrograma do óleo essencial de *Mansoa alliacea*

Na análise do óleo essencial foi constatado a presença de compostos sulfurados. Trabalhos com os extratos etéreos de destilados de vapor de folhas frescas do cipó-alho utilizando a técnica de

cromatrografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS), revelaram a presenca do disulfeto de dialila, trisulfeto de dialila, e tetrasulfeto de dialila como principais constituintes[21].Não surpreendentemente, estes também estão entre os principais constituintes no alho [23].

Após a análise do cromatrograma, identificaram-se os seguintes constituentes quimicos na composição do oléo essencial de *Mansoa alliaceae*: 1-octen-3-ol (1,67%), dissulfeto de alila (57,17%), trissulfeto de alila (37,58%) e tetrassulfeto de alila (3,65%). A identificação dos constituintes foi feita por interpretação de seus respectivos espectros de massas e índice de retenção linear (Índice de Kovat's), com a comparação na literatura [24].

7.2 Teste para grupos fenólicos

Para detecção de grupos fenólicos foi utilizado como reagente solução de cloreto férrico e diferentes valores de pH. Para o extrato bruto (EXCA) e as frações de acetato (FACA), butanol(FBCA) e hidroalcóolica (FHACA) as análises não indicaram a presença de constituintes fenólicos.

Num estudo realizado por Oliveira (2013)[24] com cinco espécies de plantas medicinais usadas na Amazônia não foi detectada a presença de grupos da classe dos flavonoides para a espécie *Mansoa alliaceae* durante o ensaio de prospecção fitoquímica dos extratos dessa espécie.

7.3 **Testes de alcaloides**

Segundo Simões (2007)[20] o aparecimento de precipitado e presença de coloração alaranjada, indica presença de alcaloides.

No ensaio realizado em tubos de ensaio o resultado mostrou-se negativo para a presença de alcaloides, não ocorrendo aparecimento de precipitado e coloração alaranjada com o extrato bruto e com as frações testadas. Estudos realizados anteriormente com essa espécie também não revelaram relatos dessa classe de compostos [24]

7.4 Teste terpenos (Lieberman-Burchard)

Para este ensaio com EXCA, FHCA e FCCA foi observado uma mudança de coloração para o verde permanente, indicando a presença de esteroides livres (Matos, 2009)[15].

A presença de esteroides e triterpenoides foram confirmadas no estudo realizado com cinco espécies de plantas medicinais usadas na Amazônia dentre elas a espécie *Mansoa alliaceae* [24].

7.5 Testes para saponinas

As amostras EXCA, FBCA e FHACA apresentaram espuma permanente. Em seguida foi realizado o teste confirmatório para saponinas através da reação de hidrolise ácida. Contudo, não ocorreu à formação de precipitado indicando a ausência de saponinas (Matos, 2009)[15]. No entanto, há relatos na literatura da presença de heterosídeos saponínicos na espécie *Mansoa alliaceae* [24].

7.6 Avaliações em placas cromatográficas

As **Figuras 7a, 7b, 8a** utilizando eluente BAW como fase móvel mostra o perfil dos constituintes fenólicos revelados com NP/PEG. Os resultados revelaram manchas amarelas e verdes tanto para a amostra não irradiada quanto para as amostras que receberão doses de radiação gama . Quando as placas cromatográficas foram expostas em câmera de ultravioleta, não foi observado nenhum efeito da radiação nas amostras, pois foi verificado o mesmo perfil químico para as análises efetuadas.

As **Figuras 8b e 9a** mostra o perfil do extrato e frações revelados com vanilina sulfúrica às amostras FHCA, FCCA. Apresentam perfis semelhantes. As manchas nas amostras FHCA, FCCA revelaram-se com maior intensidade, todas apresentaram uma mancha roxa mais intensa (Rf = 0,7) seguida de outras manchas com coloração menos intensa. Essas manchas são indicativas da presença de terpenoides[19]. Esses ensaios confirmam os estudos realizados anteriormente, uma vez que no ensaio farmacognostico foi detectado essa classe de compostos. Para essas frações não foi percebido efeito da radiação gama uma vez que tanto as amostras que foram irradiadas quanto as amostras não receberam dose de radiação apresentaram perfis químico similares.

Diversos estudos como os de Mechi et al. (2005) e Brigide; Canniatti-Brazaca (2006)[25-26] apresentam o processo da irradiação gama interagindo em materiais crus ou cozidos de vegetais com percentuais consideráveis de umidade, o que favorece a predominância do efeito indireto da radiação. Porém, no presente estudo, foram utilizados extratos vegetais folhas, sendo, portanto, predominante à interação da radiação gama a partir do efeito direto.

7.7 Teste de citoxicidade em *Artemia salina*

Ensaio de atividade citotóxica do óleo essencial

As concentrações utilizadas para o ensaio foram na faixa de 2-20µg/mL, sendo que a partir da concentração 8µg/mL o óleo essencial apresentou atividade citotóxica frente *Artemia salina*.

Ensaio de atividade citotóxica extrato e frações

As concentrações utilizadas para o ensaio foram na faixa de 500-1000 µg/mL tanto para extrato e frações, no entanto não apresentou atividade citotóxica. Uma vez que a literatura afirma que os extratos são considerados tóxicos para *A. salina* em concentração menores que 1000 µg/ml

7. Referências

1. REIS, M.S. dos. **Manejo sustentado de plantas medicinais em ecossistemas tropicais**. In: DI STASI, L.C. (ed), Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: UNESP, 1996. Cap.14, p.199-215.
2. Ribeiro, J.E.L.S.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D.; Martins, L.H.P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E. DA C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R.; Procópio, L.C. 1999. **Flora da Reserva Ducke Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central**. DFID (Department for International Development), Manaus - AM. INPA. 816 p il.
3. Campana P. R.V., Braga, F.C., Cortes S.F. **Endothelium-dependent vasorelaxation in rat thoracic aorta by *Mansoa hirsuta*** D.C. Phytomedicine 16 (2009) 456–461.
4. Zoghbi, M D B., Andrade E H A., Maia JGS. **Volatile constituents from *Adenocalymma alliaceum* Miers and *Petiveria alliacea* L., two medicinal herbs of the Amazon**. Flavour and fragrance journal .*Flavour Fragr. J.* 2002.
5. BÖGL, K.W. Identification of Irradiated Foods-Methods, Development and Concepts. **Applied Radiation and Isotopes,** v. 40, n. 10-12, p. 1203-1210, 1989.
6. IAEA- TECDOC-642. Harmonization of regulations on food irradiation in the Americas. **FAO, IAEA, WHO.** Orlando, Florida, USA, 1992.
7. OWCZARCZYK, H. B.; MIGDAL, W.; KADZIA, B. The pharmacological activity of medical herbs after microbiological decontamination by irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, Poland, v.57, p.331-335, 2000.
8. OLIVEIRA, L.C. Present situation of food irradiation in South America and the regulatory perspectives for Brazil. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 57, p. 249-252, 2000.
9. Farkas J 1998. **Irradiation as method for decontaminating food**: a review. *Int. J. Food Microbiol 44*: 189–204.

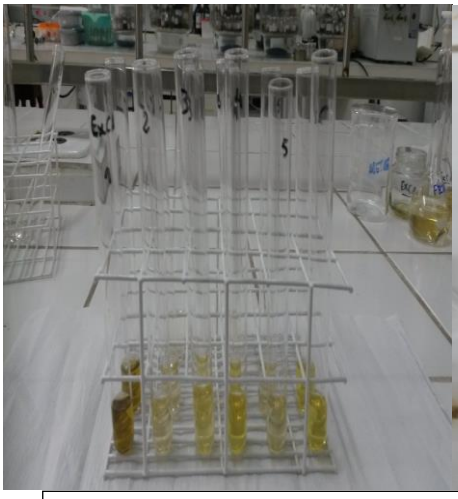
10. Diehl JF (1995). **The safety of irradiated food. 2nd edition. Marcel Dekker**, N.Y. and Basel
11. Polovka M, Suhaj M 2010. **Detection of caraway and bay leaves irradiation based on their extracts antioxidant properties evaluation.** *Food Chem 119*: 391–401.
12. Kovács E, Keresztes A 2002. **Effect on gamma and UV-B/C radiation on plants cells.** *Micron 33*: 199-210
13. Byun MW, Yook HS, Kang IJ, Chung CK, Kwon JH, Choi KJ 1998. **Comparative effects of gamma irradiation and ozone treatment on hygienic quality of Korean red ginseng powder**. *Rad Phys Chem 52*: 95–99
14. Schaich KM, Pryor WA 1980. **Free radical initiation in proteins and amino acids by ionizing and ultraviolet radiations and lipid oxidation** — part I: Ionizing radiation *Rev. Fd. Sci. Nutr.* 13,89-129.
15. Matos, F.T. 2009. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. 3. Ed . UFC, Fortaleza, 2009.
16. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, Mclaughlin JL 1982. Brine Shrimp: **a convenient general bioassay for activity plant constituents. Planta Med** *45*: 31-34.
17. Buchanan, B. B; Gruissen, W; Jones, R. l. **Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville American SocietyofPlantPhysiologists**, 2000. 1367.p.
18. Waterman, P. G. **The chemistry of volatile oils** In: HAY, R. K. M; Waterman, P. G. Volatile oil crops: **Their biology, biochemistry and production**. Harlow: LongmanScientific, 1993.
19. Corrêa, M. P. **Dicionarios das plantas úteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas**. Rio de janeiro. Imprensa Nacional, 1926 a 1978. v.l.p.356
20. Simões, C. M; Spitzer, V. **Farmacognosia – daplanta ao medicamento**. Rio Grande do Sul: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul 1999. 821.p.
21. Gobbo-Netto, L; Lopes, N. P. **Plantas medicinais: fatores de influencia no conteúdo de metabólitos secudarios**. Quim. Nova, v. 30 p. 374 – 381.
22. Apparao, M.; Kjaer, A.; Madsenx, J. 0.; Rao, **E. V. Phytochemistry 1978, 17, 1660**
23. Oaks, D. M.; Hartman, H.; Dimick, K. P. **Anal. Chem. 1964,36,1560.**

24. Oliveira, D.M.C. **Triagem de cinco espécies de plantas medicinais usadas na Amazônia através da análise de secreção de histamina**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Pará, p.58, Bélem, 2013.
25. MACHI, S. Prospects for the Application of Radiation Processing and the Activities of the IAEA. **Radition Physics and Chemistry**, v. 52, n. I 6. pp. 591 597. 1998.
26. BRIGIDE, P.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Antinutrients and "in vitro" availability of iron in irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris*). **Food Chemistry**, v. 98, p. 85-89. 2006.

9. FIGURAS

Figura 1.a Arbusto *de Mansoa alliaceae*	1.b Folhas e Flores de *Mansoa alliaceae*

Figura 2.a. Material vegetal submetido a hidrodestilação.	2.b. Óleo essencial extraído da planta em estudo.



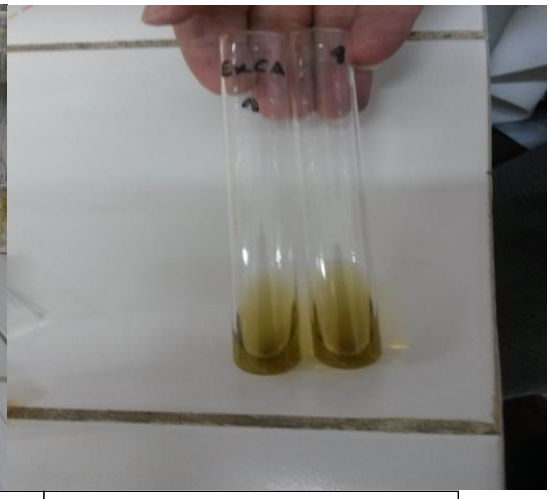


Figura 3.a Teste para fenóis e taninos,flavonoides, catequinas e flavonas.	3.b Teste para grupos fenólicos

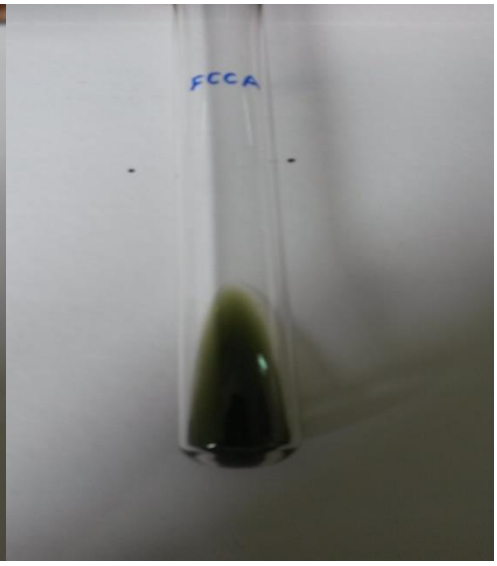


Figura 4.a Teste para terpenos (Lieberman-Burchard)	4.b Teste para terpenos (Lieberman-Burchard**)**

Figura 5.a Teste para saponinas (ExCA)	5.b Teste confirmatório para saponinas (ExCA)

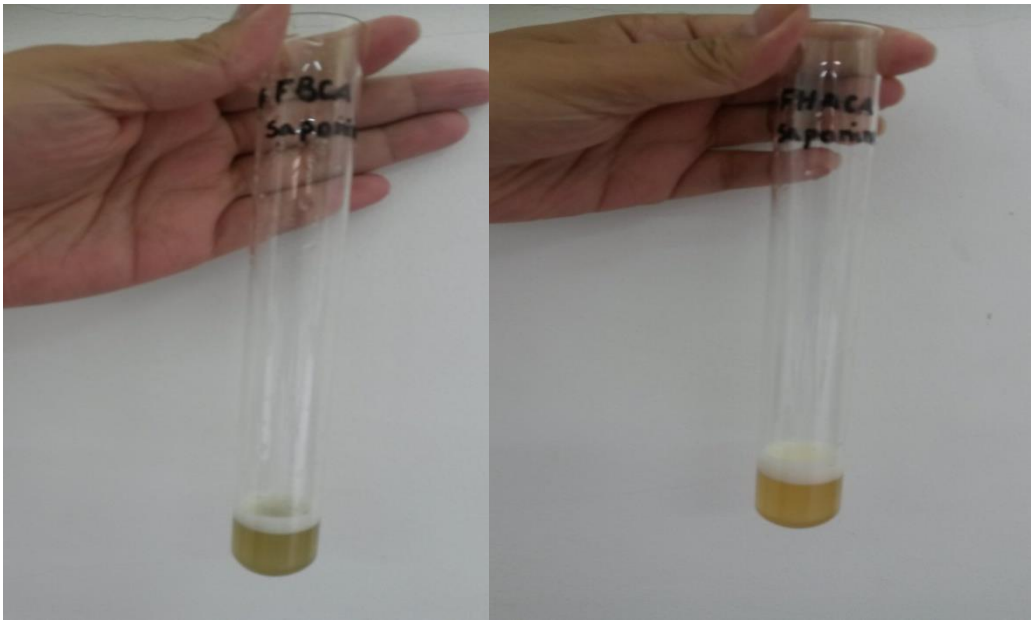


Figura 6.b Teste para saponinas (FBCA)	Figura 6.b Teste para saponinas (FHACA)

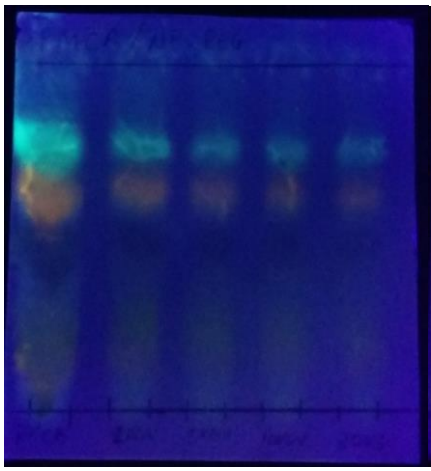


Figura 7a: FMCA irradiada

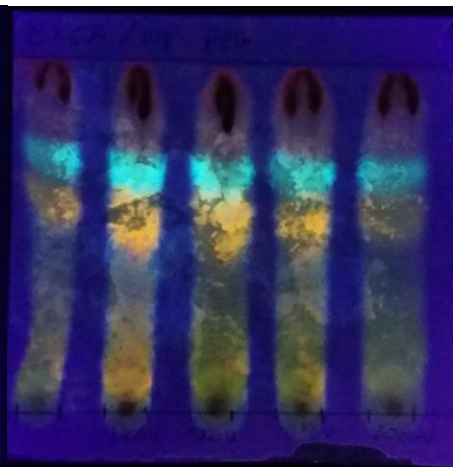


Figura 7b : ExCA irradiada

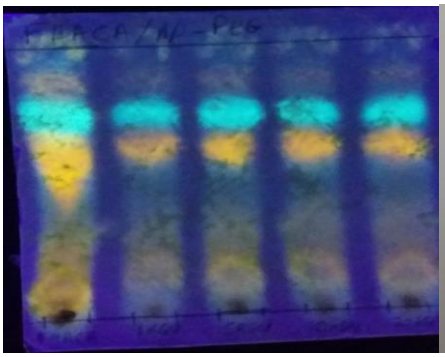


Figura 8 a: FHACA irradiada

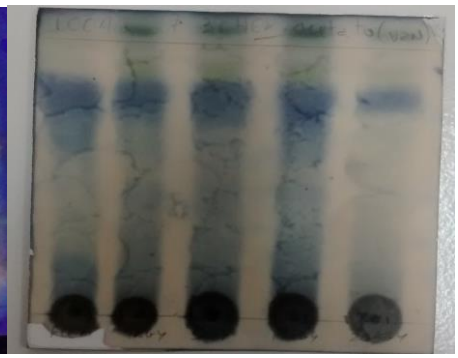


Figura 8 b : FCCA irradiada

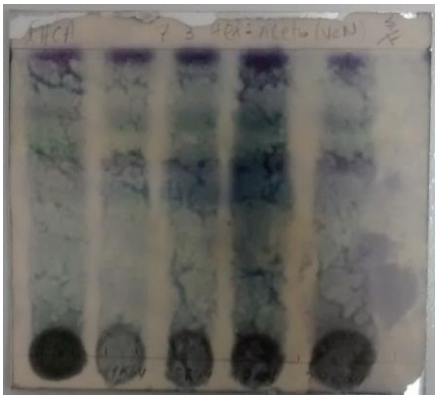


Figura 9 a : FHCA irradiada

27. **Cronograma de Atividades**

Nº	Descrição	Ago 2015	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2016	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Levantamento bibliográfico	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	**x**	
2	Preparação de exsicata		**x**										
3	Coleta do material	**x**											
4	Extração de óleos	**x**											
5	Tratamento dos dados		**x**							**x**	**x**	**x**	**x**
6	Preparação do extrato bruto	**x**	**x**										
7	Fracionamento do extrato bruto			**x**	**x**								
8	Ensaios químicos					**x**	**x**	**x**					
9	Radiação dos materiais		**x**			**x**							
10	Artenia salina						**x**	**x**					
11	- Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória) - Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória)						**x**						**x**