

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Antônio Clemente de Oliveira Neto

Análise Proteômica de Extratos de Arilos de *Strelitzia reginae*.

**Juiz de Fora
2025**

Antônio Clemente de Oliveira Neto

Análise Proteômica de Extratos de Arilos de *Strelitzia reginae*.

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Juiz de Fora como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Orientador(a): Prof. Dra. Priscila de Faria Pinto

Juiz de Fora

2025

Clemente, Antônio.

Análise Proteômica de Extratos de Arilos de *Strelitzia reginae*. /
Antônio Clemente. -- 2025.

32 p. : il.

Orientadora: Priscila Faria

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, 2025.

1. Proteômica Vegetal. 2. Análise de pigmentos naturais. 3.
Bilirrubina em plantas. 4. Aplicações biotecnológicas de compostos
vegetais. 5. Morfologia e histologia vegetal. I. Faria, Priscila , orient.
II. Título.

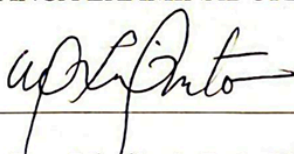
Antônio Clemente de Oliveira Neto

Análise Proteômica de Extratos de Arilos de *Strelitzia reginae*.

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Juiz de Fora como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

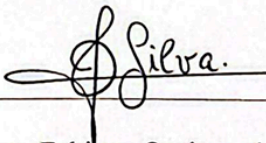
Aprovado em 18 de agosto de 2025

BANCA EXAMINADORA



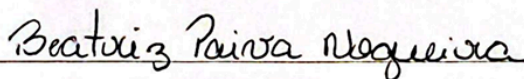
Prof. Dra. Priscila de Faria Pinto -

Orientador Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dra. Fabiana Ourique da Silva

Universidade Federal de Juiz de Fora



Beatriz Paiva Nogueira

Universidade Federal de Juiz de Fora

Este trabalho é dedicado à minha avó, à minha mãe, ao meu pai e ao meu irmão, que estão comigo todos os dias, apoiando-me e me dando forças. Sem eles, nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço à Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Instituto de Ciências Biológicas pela excelente infraestrutura e condições proporcionadas para minha formação como biólogo. Hoje, a sociedade brasileira deve reconhecer e valorizar a importância das instituições públicas consolidadas em nosso país. Essa trajetória tem sido extremamente gratificante e fundamental para minha formação.

À minha orientadora, Priscila Faria, agradeço profundamente por todo o conhecimento compartilhado comigo e com os demais alunos do Laboratório de Estrutura e Função de Proteínas. Sou grato pelo tempo dedicado ao meu aprendizado, pelo apoio constante diante dos resultados, sejam eles positivos ou desafiadores, e pelo reconhecimento e inspiração que impulsionaram meu crescimento na pesquisa.

À minha mãe, Érica, por sempre me oferecer o melhor de si e cuidar com tanto carinho de nossa casa. Ela é minha maior inspiração, a pessoa de coração mais bondoso que conheço. Como já disse, sem ela eu não seria nada. Foi ela quem me deu a educação e as condições para chegar até aqui. Tento expressar minha gratidão em palavras, mas sei que elas são apenas simbólicas diante de tudo o que ela representa para mim. A verdade é que não encontro formas suficientes para agradecer tudo o que ela é.

À minha avó, Therezinha, que, mesmo sem estar lúcida para compreender tudo, sabe o quanto sua presença é essencial na minha vida, seja quando eu era pequeno e ela me levava à escola, seja agora, quando está repousando em sua cama, irradiando as energias mais puras e bonitas que existem.

Ao meu irmão, Ercole, que é minha referência pessoal e profissional. Em todos os caminhos que trilha, busco fazer escolhas que o deixem orgulhoso de mim. Ele é o irmão que me apoia em tudo o que preciso, sem nenhuma exceção.

Ao meu pai, Wilson, que, também, nunca deixou faltar nada para nós. Mesmo estando longe, em outro estado, nunca deixou de estar presente em meu coração e na minha vida. Meu pai é o exemplo de pessoa que desejo ser no meu amanhã: humilde, honesto e plenamente consciente dos verdadeiros valores da vida.

Aos meus tios, tanto da família da minha mãe quanto da do meu pai, que sempre estiveram presentes em meu caminho. Agradeço por todo carinho e companheirismo ao longo dessa jornada. Em especial, ao tio Rômulo, à tia Itália e

ao tio Enrico, meus tios mais próximos, que nunca deixam de me apoiar. Vocês também são grandes inspirações para mim. Muito obrigado pela união de vocês com minha mãe e pela construção dessa família tão linda.

À Beatriz Borges, minha amiga e namorada, que, do dia a noite, me incentiva a ser uma pessoa melhor. É uma imensa felicidade crescer ao seu lado e compartilhar com você minhas conquistas como Biólogo. Meu sincero agradecimento por tudo que você representa para mim.

Aos todos amigos que essa trajetória me fez conhecer. Todos vocês fazem parte das minhas melhores memórias dentro da UFJF. Em especial, agradeço ao Enzo Alonso, Enzo Ferro, Gabriel Oliveira, Gabriella Januzzi, Julio César, Leandro Faria, Maria Clara e Thais Pereira.

Aos colegas de trabalho, Beatriz Paiva, Geise Oliveira, Jadhe Sotero, João, Júlio César, Marcos Quimas, Orbino e Raissa Meinel, por contribuírem com conhecimentos valiosos para a minha formação.

Agradeço profundamente a todos os professores que, com dedicação e sabedoria, contribuíram para minha formação e inspiraram meu crescimento acadêmico e pessoal.

“Sabedoria é aprender a valorizar e agradecer por tudo que a vida nos dá”

RESUMO

Strelitzia reginae é uma espécie ornamental conhecida como ave-do-paraíso, cujas sementes apresentam arilos alaranjados compostos por filamentos longos e densos. Essas estruturas chamam atenção pela coloração vibrante, associada à presença de bilirrubina, e por seu potencial como fonte de compostos bioativos. A análise morfoanatômica mostrou sementes ovais e pretas, com arilos organizados radialmente a partir de um ponto de inserção. Histologicamente, as células exibiram paredes bem definidas e intensa marcação pelo corante Sudan III, confirmando alto teor lipídico no tecido. A microscopia eletrônica de varredura revelou fibras achatadas, lisas e entrelaçadas, com base espessa e compacta. A análise elementar por EDS indicou predominância de carbono (69,23% em peso) e oxigênio (30,77%), compatível com estruturas celulósicas/lipídicas, sem detecção de nitrogênio. O extrato obtido com SDS apresentou coloração laranja intensa e picos de absorbância em 300 nm e entre 400–500 nm, sugerindo a presença de proteínas e pigmentos. A quantificação proteica revelou 2322,12 µg/mL no extrato bruto e 839 µg/mL no precipitado, correspondendo a 36,1% de recuperação. Na SDS-PAGE, todas as amostras exibiram uma única banda proteica (~11,74 kDa), sugerindo alto grau de pureza. A análise para bilirrubina mostrou picos em ~270 e ~450 nm, confirmados por cromatografia em camada delgada ($R_f = 0,7333$). Conclui-se que os arilos de *S. reginae* combinam pigmentos (bilirrubina) e proteínas de baixo peso molecular associados a alta concentração lipídica, características que sustentam seu potencial para aplicações nas indústrias cosmética, alimentícia e farmacêutica.

Palavras-chave: *Strelitzia reginae*, arilo, bilirrubina, perfil proteico.

ABSTRACT

Strelitzia reginae is an ornamental species known as the bird-of-paradise, whose seeds bear orange arils composed of long and dense filaments. These structures are notable for their vibrant coloration, associated with the presence of bilirubin, and for their potential as a source of bioactive compounds. Morpho-anatomical analysis showed oval black seeds with arils arranged radially from a point of insertion. Histologically, the cells exhibited well-defined walls and intense staining with Sudan III, confirming a high lipid content in the tissue. Scanning electron microscopy revealed flat, smooth, and intertwined fibers with a thicker and more compact base. Elemental analysis by EDS indicated a predominance of carbon (69.23% by weight) and oxygen (30.77%), consistent with cellulosic/lipidic structures, with no nitrogen detected. The extract obtained with SDS displayed an intense orange coloration and absorbance peaks at 300 nm and between 400–500 nm, suggesting the presence of proteins and pigments. Protein quantification revealed 2322.12 µg/mL in the crude extract and 839 µg/mL in the precipitate, corresponding to 36.1% recovery. In SDS-PAGE, all samples exhibited a single protein band (~11.74 kDa), suggesting high purity. Bilirubin analysis showed peaks at ~270 and ~450 nm, confirmed by thin-layer chromatography ($R_f = 0.7333$). It is concluded that the arils of *S. reginae* combine pigments (bilirubin) and low molecular weight proteins associated with high lipid concentration, features that support their potential for applications in the cosmetic, food, and pharmaceutical industries.

Keywords: *Strelitzia reginae*, aril, bilirubin, protein profile.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Coleta do Material Vegetal.....	13
3.2 Análise do Material Vegetal por Microscopia de Luz.....	14
3.3 Análise do Material Vegetal por Microscopia Eletrônica de Varredura.....	14
3.4 Obtenção do Extrato Vegetal dos Arilos.....	14
3.5 Obtenção do Extrato Proteico dos Arilos.....	15
3.6 Dosagem de Proteínas.....	15
3.7 Eletroforese do Conteúdo Proteico.....	15
3.8 Identificação de Bilirrubina Presente nos Arilos.....	16
3.9 Tratamento dos Dados.....	17
4. RESULTADOS.....	17
4.1 Caracterização Morfoanatômica e Histológica dos Arilos e Sementes.....	17
4.2 Avaliação dos Extratos Vegetais.....	21
4.3 Perfil de Migração Eletroforética das Proteínas Extraídas.....	23
4.4 Análise da Presença de Bilirrubina nos Arilos.....	24
5. DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÃO.....	29
7. REFERÊNCIAS.....	29

Análise proteômica de extratos de arilos de *Strelitzia reginae*.

1. INTRODUÇÃO

Strelitziaceae é um grupo taxonômico tradicionalmente tratado dentro de *Musaceae*, mas a partir de estudos filogenéticos baseados em caracteres moleculares foi reconhecida como uma família a parte, permanecendo na ordem *Zingiberales* (Andersson, 1998). Possui distribuição separada entre África e América do Sul, não sendo endêmica do Brasil, e é constituída por 3 gêneros e 7 espécies (Kress, 1990; Kress *et al.*, 1993). A família compreende monocotiledôneas tropicais amplamente reconhecidas por suas inflorescências vistosas com brácteas coloridas e frutos capsulares lenhosos que abrigam sementes envoltas por arilos de coloração vibrante (Dwarka, 2017). Devido ao potencial ornamental da família, representantes dos gêneros *Ravenala* e *Strelitzia* são amplamente cultivados no Brasil, conhecidos como Árvore-do-Viajante e Ave-do-Paraíso, respectivamente (Jardim Botânico Do Rio De Janeiro, 2020; Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025). Dentro do gênero *Strelitzia* destacam-se *Strelitzia nicolai* (ave-do-paraíso branca) e *Strelitzia reginae* (ave-do-paraíso), cujas sementes apresentam arilos intensamente alaranjados, pigmentação que tem sido associada à presença de bilirrubina (Pirone, 2010).

A bilirrubina é um pigmento tetrapirrólico resultante da degradação do grupo heme em animais (Pirone, 2009), tradicionalmente considerada exclusiva do reino animal. No entanto, estudos recentes confirmam sua ocorrência em estruturas vegetais, como nos arilos das espécies de *Strelitzia* (Dwarka, 2017). A sua descoberta representou um marco, revelando que esse composto também pode ser biossintetizado também por vegetais. Foi confirmado que esse pigmento alaranjado corresponde à bilirrubina-IX α , a qual é quimicamente idêntica à encontrada em mamíferos. Ao contrário de outros pigmentos vegetais que se degradam com a morte celular, a bilirrubina nos arilos de *Strelitzia* permanece estável por décadas, funcionando como pigmento funcional para atração de animais, por exemplo. Isso levanta a hipótese sobre o papel funcional da bilirrubina nos vegetais inclusive quanto a possíveis aplicações terapêuticas, propriedades antioxidantes e citoprotetoras (Dwarka, 2017).

As proteínas são fundamentais nas vias de sinalização e processos bioquímicos das plantas, por isso os estudos em nível proteico são essenciais para entender seu desenvolvimento e interações com o ambiente. Apesar da

complexidade do proteoma vegetal, as tecnologias atuais já permitem análises avançadas e em grande escala, indo além da simples identificação das proteínas para explorar suas funções (Chen *Dr*; Harmon, 2006). Além de seu papel nutricional, as proteínas vegetais apresentam propriedades funcionais importantes, como solubilidade, emulsificação, gelificação e formação de espumas, que são exploradas em diversas aplicações alimentares. São também fontes de peptídeos bioativos com potenciais efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antimicrobianos e antidiabéticos, conforme evidenciado por estudos *in vitro* e *in vivo* (Tan *et al.*, 2021).

A cor é um dos principais fatores que atrai os consumidores, especialmente no contexto de cosméticos (particularmente em cosméticos coloridos), alimentos e têxteis. O desenvolvimento de produtos coloridos usando agentes de coloração botânicos no mundo de hoje pode aumentar o interesse do consumidor em uma extensão ainda maior. Corantes derivados de plantas são considerados mais benéficos para a saúde humana e o meio ambiente e são percebidos como não apresentando efeitos colaterais quando comparados aos artificiais (Brudzynska, 2021).

Compostos bioativos de origem vegetal têm despertado grande interesse nas indústrias farmacêutica, cosmética e agroalimentar, em razão de suas propriedades funcionais e aplicações potenciais (Chopra, 2021; Katz, 2016). Pesquisas pré-clínicas e clínicas mostram que compostos naturais, especialmente os vindos de plantas, têm diversos efeitos benéficos à saúde. Muitos desses compostos já eram usados na medicina tradicional (etnomedicina). Por isso, empresas farmacêuticas estão retomando o interesse em estudar produtos naturais, buscando novas moléculas para criar medicamentos (Suntar, 2020). Entre esses compostos, destacam-se as proteínas, que desempenham papéis fundamentais na fisiologia vegetal e apresentam elevado potencial para aplicações biotecnológicas (Liu, 2019).

As patentes são um instrumento chave de transferência de conhecimento da universidade para a sociedade. Ao proteger resultados de pesquisa, criam segurança jurídica para licenciamento, parcerias e startups, viabilizando que o conhecimento se converta em produtos, processos e serviços com utilidade pública. Essa proteção incentiva investimentos em desenvolvimento e escala, e os royalties retornam à instituição e aos inventores, retroalimentando a pesquisa e ampliando o impacto social. Apesar das limitações da legislação brasileira, é possível patentear processos de extração, formulações e usos terapêuticos de derivados vegetais.

Contudo, a maioria das patentes sobre plantas brasileiras é detida por estrangeiros, revelando a necessidade de fortalecer a cultura de propriedade intelectual no país. Para isso, recomenda-se a criação de núcleos especializados, o incentivo à cooperação universidade-empresa e a valorização das patentes como indicador de produtividade científica (Moreira *et al.*, 2006).

Neste contexto, o presente estudo tem a função de investigar a composição proteica dos extratos de arilos de *Strelitzia reginae* com foco na identificação de proteínas e suas funções biológicas. Particular atenção será dada ao papel dessas proteínas na contribuição para a coloração do extrato, visando o desenvolvimento de novos produtos de interesse biotecnológico.

2. OBJETIVO GERAL

Caracterizar morfologicamente os arilos de *Strelitzia reginae* investigar seu perfil proteico por meio de eletroforese, com o intuito de explorar potenciais aplicações biotecnológicas associadas à pigmentação e à presença de proteínas bioativas.

2.1. Objetivos Específicos

2.1.1. Descrever as características morfológicas dos arilos de *Strelitzia reginae*, com ênfase na coloração e estrutura externa associadas à presença de pigmentos;

2.1.2. Realizar a separação das proteínas presentes nos extratos de arilos por meio de eletroforese, visando identificar padrões de expressão relacionados a possíveis propriedades pigmentantes;

2.1.3. Identificar a presença de bilirrubina nos arilos por meio de cromatografia, relacionando-a à coloração alaranjada do tecido.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Coleta do Material Vegetal

Todo o material vegetal utilizado neste estudo foi coletado no campus da Universidade Federal de Juiz de Fora, localizado em Minas Gerais, Brasil. A planta foi devidamente identificada como *Strelitzia reginae* e encontra-se tombada no

Herbário Leopoldo Krieger da UFJF, localizado no Departamento de Botânica, sob o número de tombo CESJ 83877.

3.2. Análise do Material Vegetal por Microscopia de Luz

O material vegetal analisado foi processado em parceria com o Laboratório de Anatomia Vegetal, vinculado ao Departamento de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (ICB/UFJF) e sob a supervisão da professora Nádia Silvia Somavilla. Inicialmente, as estruturas macroscópicas dos arilos e das sementes de *Strelitzia reginae* foram examinadas por meio de uma lupa estereoscópica, o que permitiu a descrição detalhada de suas características externas, como forma, coloração e inserção do arilo na semente. Em seguida, realizaram-se cortes sagitais nas sementes, com o intuito de possibilitar a visualização das estruturas internas. Toda a superfície externa das sementes também foi documentada por meio de fotografias em diferentes ângulos, auxiliando na caracterização morfológica. Para as análises histológicas, empregou-se um microscópio de luz óptica, utilizando aumentos de 20x e 40x, visando a observação do tecido presente nos arilos. A fim de identificar a presença de substâncias lipídicas, foi realizada a coloração com o corante Sudan III, que marca seletivamente regiões ricas em lipídios, permitindo a confirmação da natureza química do tecido.

3.3. Análise do Material Vegetal por Microscopia Eletrônica de Varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) analisou a morfologia e a composição química dos arilos laranjas. Fibras dos arilos aderidas às sementes foram examinadas. As sementes foram observadas diretamente, sem preparação. As análises foram realizadas utilizando um MEV de bancada Hitachi TM3030 com o módulo SwiftED3000 para Espectroscopia por Dispersão de Energia (do inglês, EDS), operando a 15 e 5 kV no CentralBio - Laboratório Multiusuário de Bioprodutos e Bioprocessos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

3.4. Obtenção do Extrato Vegetal dos Arilos

Um total de 0,3 grama do tecido dos arilos foi submetido à maceração manual, utilizando gral e pistilo, em temperatura ambiente, na presença de uma solução contendo dodecil sulfato de sódio (SDS) a 2% . Após a obtenção de um

material mais homogêneo, a mistura contendo o material vegetal foi colocada em um agitador magnético por 24 horas, visando maior eficiência no processo de extração. Em seguida, esse conteúdo foi centrifugado a 4500 rotações por minuto (RPM) durante 15 minutos. O sobrenadante foi separado do material vegetal precipitado e, nele, verificou-se a possível presença de compostos orgânicos com o auxílio de um espectrofotômetro na função de varredura, utilizando espectros de 250 a 650 nanômetros.

3.5. Obtenção do Extrato Proteico dos Arilos

Para a obtenção do precipitado de proteínas, utilizou-se 100 µL de ácido tricloroacético (TCA) em 900 µL do extrato previamente obtido com SDS a 2%, totalizando 1 mL por amostra. A solução foi então centrifugada a 8000 rpm durante 10 minutos e, após isso, o sobrenadante foi descartado. Em seguida, foram adicionados mais 100 µL de TCA e 900 µL de água destilada; a solução foi novamente centrifugada a 8000 rpm por 10 minutos, e o sobrenadante removido. Esse processo foi repetido mais duas vezes. Para a lavagem, realizaram-se dois ciclos com 1000 µL de água destilada, centrifugando-se a 8000 rpm por 15 minutos em cada ciclo. Com o intuito de armazenar o conteúdo proteico, os sobrenadantes finais foram descartados, e o precipitado foi ressuspenso em 200 µL de tampão Tris-Sacarose contendo inibidor de protease. A amostra foi armazenada em freezer a -20 °C.

3.6. Dosagem de Proteínas

A dosagem de proteínas foi realizada conforme o protocolo descrito no Kit Pierce MICRO BCA da Thermo Scientific. As amostras analisadas foram derivadas do extrato vegetal e do material precipitado obtido pelo ensaio de precipitação proteica (grupo com SDS a 2%). Todo o ensaio foi conduzido em triplicata, tanto para a curva padrão do kit quanto para as amostras utilizadas. Após os resultados obtidos no espectrofotômetro, os dados foram plotados em uma planilha do Excel para a realização dos cálculos referentes à quantidade de proteínas presentes nas amostras.

3.7. Eletroforese do Conteúdo Proteico

Para a corrida de eletroforese, foram utilizadas as amostras derivadas da precipitação de proteínas mencionadas anteriormente. Essas amostras foram preparadas juntamente com tampão de amostra 2X, o qual foi preparado para SDS-PAGE, contendo 15% glicerol, 5% 2-mercaptoetanol, 3% SDS, 0,01% azul de bromofenol em Tris-HCl 0,2 M (pH 6,8), na proporção 1:1 com volume final de 30 µL e levadas ao banho seco por 5 minutos a 100°C. Foi preparado um tampão de corrida contendo 7,5 g de Tris base, 36 g de glicina e 2,5 g de dodecil sulfato de sódio (SDS), dissolvidos em 500 mL de água destilada. O pH foi ajustado para 8,3 com HCl ou NaOH. A separação proteica foi realizada em sistema vertical de eletroforese Mini-PROTEAN® Tetra (Mini-PROTEAN® Tetra Vertical Electrophoresis Cell for Mini Precast Gels, 2-gel, #1658005), acoplado a uma fonte de alimentação (Bio-Rad, PowerPac High-Voltage Power Supply, #164-5056). A corrida foi iniciada com 60 volts durante os primeiros 30 minutos e, para garantir a migração completa das proteínas, a voltagem foi aumentada para 100 volts até o final da separação. Foram utilizados géis de poliacrilamida pré-moldados (precast) com gradiente de 8–16%, dimensões de 8,6 × 6,7 cm (L × A), espessura de 1,0 mm e 12 poços, compatíveis com o sistema Mini-PROTEAN® (Bio-Rad). Com o intuito de visualizar as bandas proteicas, os géis foram corados utilizando o método de coloração por prata.

3.8. Identificação de Bilirrubina Presente nos Arilos

Para a obtenção do extrato contendo bilirrubina, 0,3 g de arilo foi submetido à maceração manual em gral com pistilo, visando facilitar a extração dos compostos. A amostra triturada foi transferida para um tubo contendo 20 mL de clorofórmio e mantida sob agitação por 10 minutos. Em seguida, observando-se a formação de coloração amarelada/esverdeada, o sobrenadante foi filtrado em papel filtro, e o filtrado foi deixado em repouso, protegido da luz, até a completa evaporação do solvente. O resíduo seco obtido foi ressuscitado em dimetilsulfóxido (DMSO) concentrado. Antes da cromatografia, a amostra ressuscitada foi submetida à análise espectrofotométrica em modo varredura, no intervalo de 250 a 650 nm, com o objetivo de verificar a presença de absorbância característica da bilirrubina. O espectro obtido foi comparado com o perfil de absorbância conhecido para esse pigmento. A análise cromatográfica foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando como fase móvel a mistura clorofórmio/metanol (98:2, v/v).

O padrão de bilirrubina pura foi obtido por meio de kit comercial (Labtest) e ressuspenso conforme instruções do fabricante. Tanto a amostra quanto o padrão foram diluídos em clorofórmio na proporção 3:12 (v/v), em microtubos de 1,5 mL. A aplicação na placa cromatográfica foi realizada com capilares de vidro, e os resultados foram avaliados sob luz ultravioleta (UV) e o fator de retenção (do inglês, Retention factor - Rf) foi calculado.

3.9 Tratamento Dos Dados

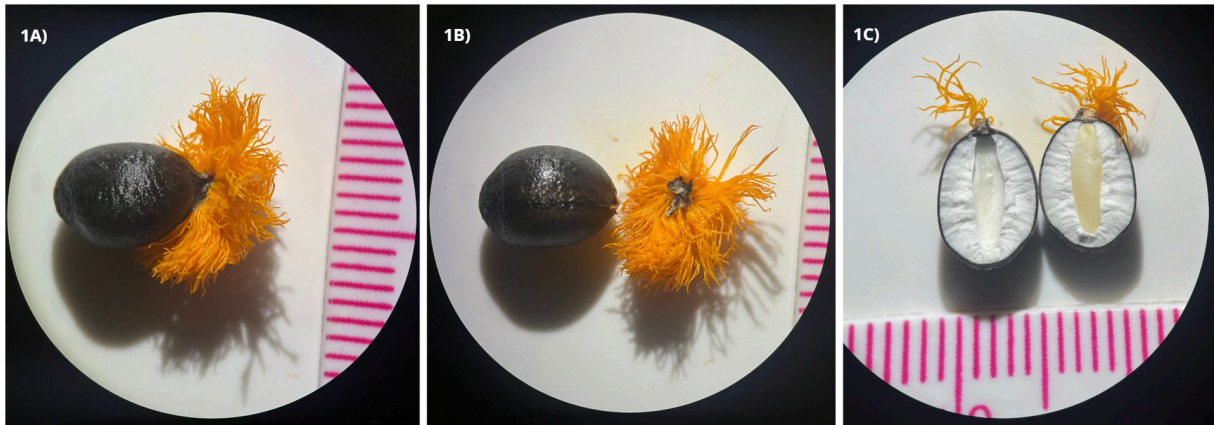
Todas as análises gráficas e estatísticas foram realizadas utilizando os softwares GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA) e Microsoft Excel 2019. Os dados foram organizados em planilhas e representados graficamente de acordo com a natureza dos experimentos.

4. RESULTADOS

4.1. Caracterização Morfoanatômica e Histológica dos Arilos e Sementes de *Strelitzia reginae*

Inicialmente, observou-se a semente com o arilo aderido a uma de suas extremidades (Figura 1A). A semente apresenta forma oval e coloração preta, enquanto o arilo exibe coloração laranja intensa e é composto por numerosos filamentos finos e longos, organizados ao redor do ponto de inserção. Em seguida, a Figura 1B mostra a semente com o arilo removido, permitindo observar de forma isolada a estrutura do arilo e a inserção central evidente. A secção longitudinal das sementes revelou um tegumento externo espesso e escuro, seguido por tecido branco, o endosperma, é uma região central compacta e esbranquiçada correspondente ao embrião (Figura 1C). Na análise histológica, realizada por microscopia de luz sem coloração específica, observaram-se células organizadas em fileiras, com paredes celulares bem definidas e conteúdo pouco corado (Figura 2A). Em maior aumento, identificaram-se estruturas compostas por células relativamente uniformes (Figura 2B). A aplicação do corante Sudan III permitiu a detecção de substâncias lipídicas nos tecidos do arilo, revelando áreas intensamente coradas em tons alaranjados, especialmente em regiões mais espessas do tecido, o que confirma a natureza lipídica dessas estruturas (Figura 2C).

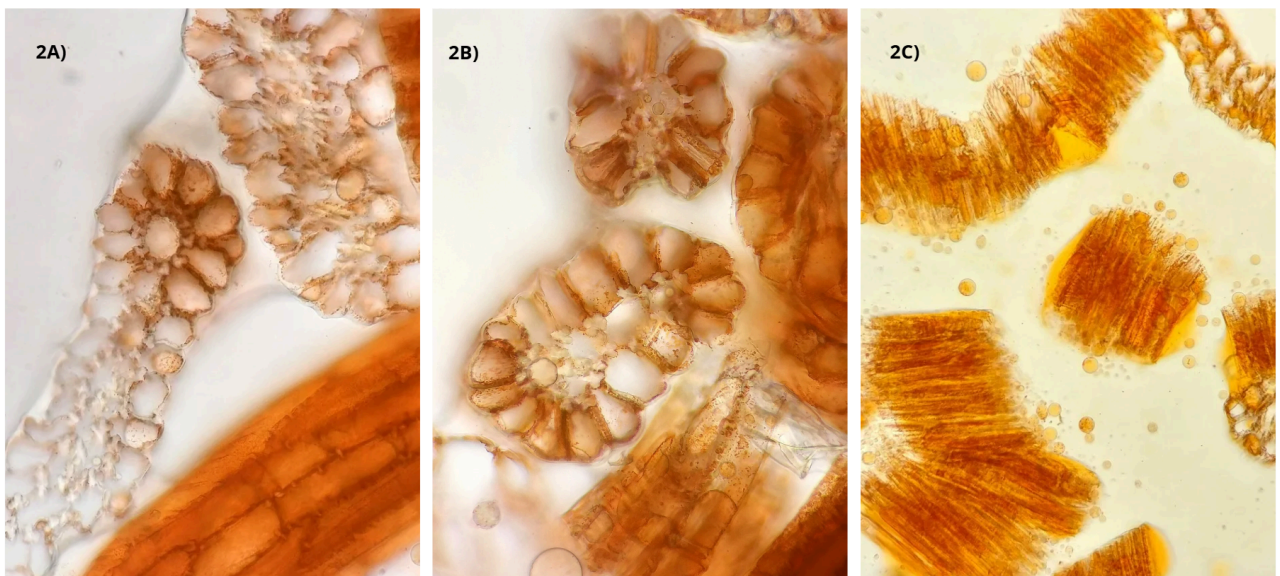
Figura 1 – Aspectos morfológicos das sementes de *Strelitzia reginae*.



Fonte: Material vegetal processado em parceria com o Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (ICB/UFJF).

Legenda: (A) Semente íntegra com arilo aderido, evidenciando coloração, forma e inserção. (B) Semente com arilo destacado, permitindo a visualização isolada da estrutura e do ponto de inserção. (C) Semente seccionada longitudinalmente, mostrando o tegumento externo escuro, o endosperma branco e o embrião central esbranquiçado.

Figura 2 – Análise histológica do arilo de *Strelitzia reginae*.

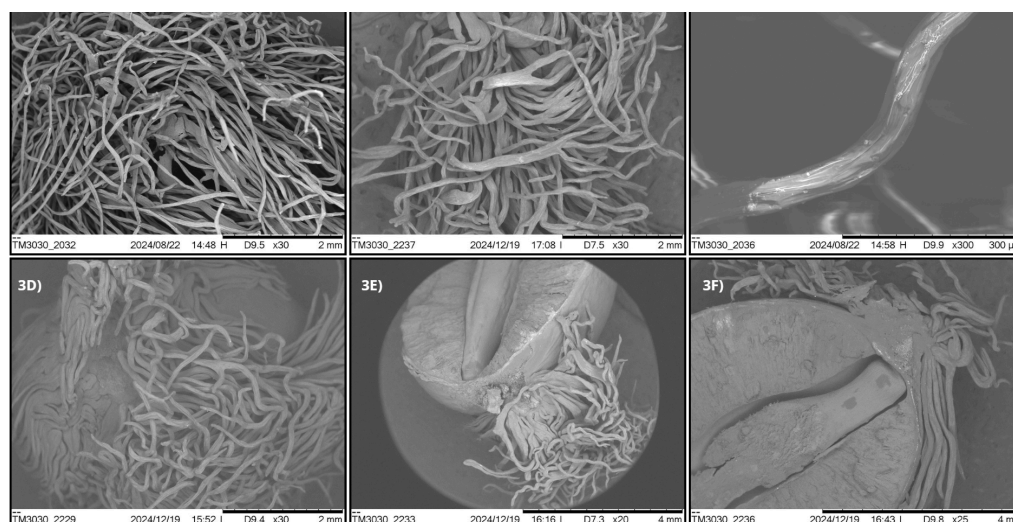


Fonte: Material vegetal processado em parceria com o Laboratório de Anatomia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora (ICB/UFJF).

Legenda: (A) Corte transversal sem coloração, em aumento de 40x com auxílio de zoom digital, evidenciando células organizadas em fileiras concêntricas com paredes bem definidas. (B) Detalhe ampliado do tecido, mostrando arranjo celular lobulado e padrão radial. (C) Corte corado com Sudan III (20x), revelando áreas intensamente coradas em tons alaranjados, indicativas da presença de substâncias lipídicas.

No exame por microscopia eletrônica de varredura, foi possível observar que os filamentos que formam o arilo se distribuem de maneira bastante densa e entrelaçada sobre a semente (Figura 3A). Esses filamentos têm formato alongado e achatado, partindo de um ponto central de inserção e se espalhando ao redor, que se parecem com fios finos dispostos em várias direções (Figura 3B). Quando vistos em maior aumento, cada filamento isolado apresenta superfície relativamente lisa e pequenas linhas que acompanham seu comprimento, aspectos que conferem aparência de fibra (Figura 3C). Ainda, observa-se a visão geral da superfície externa, em que os filamentos do arilo se originam de uma área central bem definida, formando um feixe denso que se espalha ao redor da semente (Figura 3D). A Figura 3E apresenta uma perspectiva lateral, evidenciando com clareza o ponto de inserção, onde essas fibras se prendem firmemente ao tecido da semente. A região de contato é visualizada em corte longitudinal, revelando que a base do arilo tem aspecto mais espesso e compacto em comparação às extremidades filamentosas (Figura 3F).

Figura 3 – Estruturas filamentosas do arilo de *Strelitzia reginae* observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

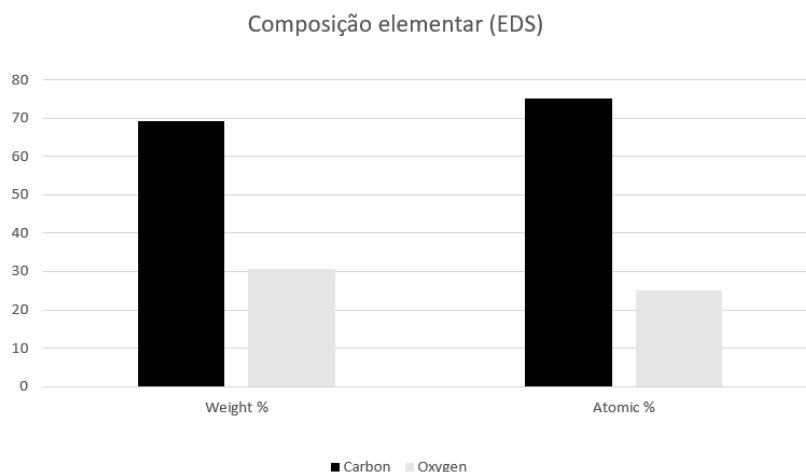


Fonte: imagem obtida pelo autor.

Legenda: Diferentes aspectos morfológicos dos filamentos que compõem o arilo. Observa-se, inicialmente, a organização entrelaçada e densa dessas estruturas sobre a superfície da semente (a), com disposição radial a partir da região de inserção, morfologia achatada e presença de dobras longitudinais (b). Um filamento isolado (c) exibe superfície lisa e alongada, marcada por estrias longitudinais. Adicionalmente, visualiza-se o agrupamento compacto e entrelaçado das fibras com superfície relativamente uniforme (d), enquanto uma vista geral da semente parcialmente seccionada mostra os filamentos aderidos à região basal e projetando-se livremente para o exterior, com continuidade entre o tecido da semente e o ponto de origem das fibras (e). Por fim, observa-se a base de inserção das fibras, evidenciando sua fixação em uma região rebaixada e rugosa da semente, com orientação radial bem definida (f). As ampliações variam entre 20× e 300×, com barras de escala de 2 mm a 4 mm conforme indicado nas imagens.

A análise espectrométrica por EDS revelou que os principais elementos presentes nas fibras do arilo de *Strelitzia reginae* são o carbono (C) e o oxigênio (O). Em termos de proporção em peso, o carbono correspondeu a aproximadamente 69,23%, enquanto o oxigênio representou cerca de 30,77%. Quando considerada a proporção atômica, o carbono foi ainda mais predominante, totalizando 74,98% dos átomos detectados, frente a 25,02% de oxigênio. Esses resultados indicam uma composição altamente carbonácea das estruturas analisadas, compatível com materiais de origem lipídica ou celulósica, frequentemente encontrados em tecidos vegetais com função de reserva ou proteção (Figura 4).

Figura 4 – Composição elementar de fibras do arilo de *Strelitzia reginae* analisadas por espectroscopia de dispersão de energia (EDS), acoplada à microscopia eletrônica de varredura (MEV).



Legenda: Os elementos identificados foram carbono (C) e oxigênio (O), com suas respectivas proporções em peso (%) e atômica (%), evidenciando a predominância de carbono na estrutura analisada.

4.2. Avaliação dos Extratos Vegetais

Durante o processo de obtenção do extrato derivado dos arilos de *Strelitzia reginae*, foi observada uma coloração alaranjada intensa (Figura 5). A análise por espectrofotometria do extrato vegetal revelou picos de absorbância em 300 nm, além de uma faixa significativa entre 400 e 500 nm (Figura 6A). Adicionalmente, o conteúdo proteico do extrato vegetal e do precipitado de proteínas foi quantificado, resultando em uma concentração de 2322,12 µg/mL e 839 µg/mL, respectivamente (Figura 6B).

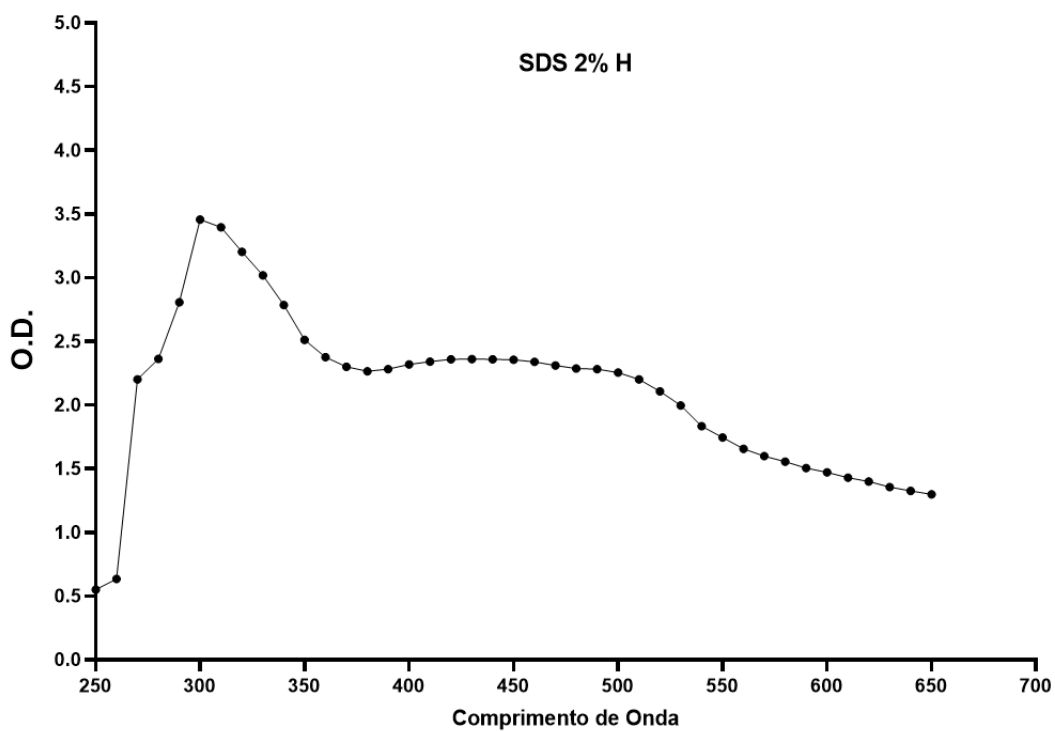
Figura 5 – Etapas do preparo das amostras derivadas dos arilos de *Strelitzia reginae*.



Fonte: imagem obtida pelo autor.

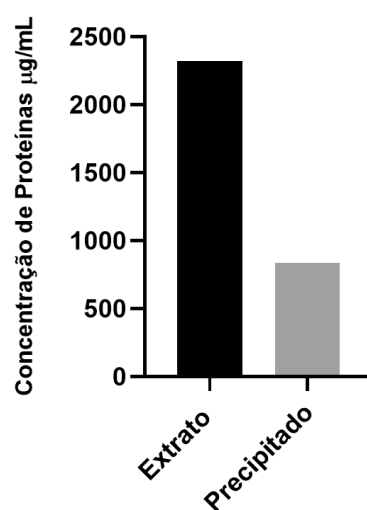
Legenda: Em (A), está evidenciado o extrato vegetal obtido após maceração e posterior agitação do material em solução com SDS a 2%, com coloração alaranjada intensa, e, em (B), o precipitado proteico obtido do mesmo extrato vegetal após o processo de precipitação com TCA e centrifugação.

Figura 6A – Espectro de varredura do extrato obtido com SDS a 2%.



Legenda: O gráfico mostra os valores de absorbância (O.D.) do extrato obtido com SDS a 2% em função do comprimento de onda (250 a 650 nm).

Figura 6B – Concentração de proteínas ($\mu\text{g/mL}$) determinada nas amostras do extrato bruto e do material precipitado com TCA.



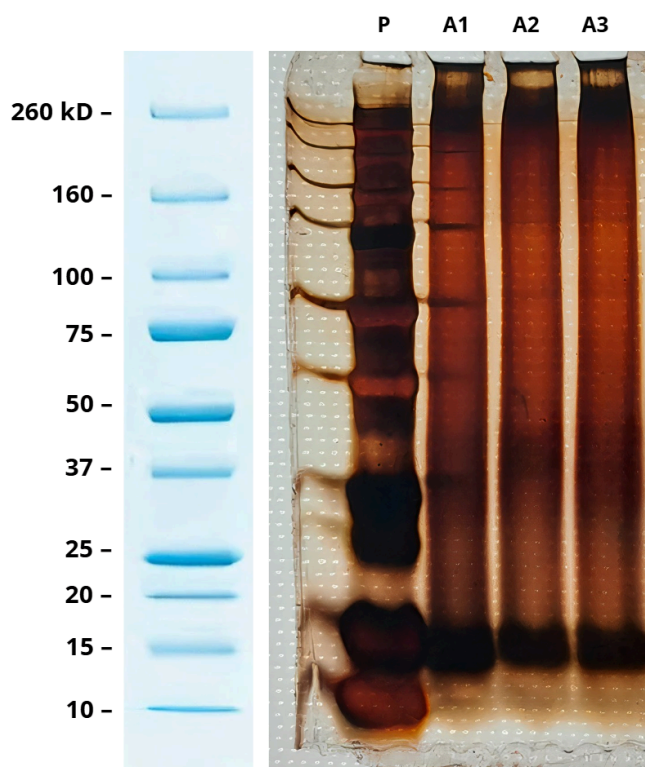
Legenda: A dosagem de proteínas, realizada por meio do kit Pierce MICRO BCA, demonstrou uma concentração de aproximadamente 2280 $\mu\text{g/mL}$ no extrato bruto obtido

com SDS a 2%. Após o processo de precipitação com TCA e lavagem, o conteúdo proteico final do precipitado foi de 839 µg/mL.

4.3. Perfil de migração eletroforética das proteínas extraídas

Todas as três amostras analisadas (A1, A2 e A3), triplicatas, apresentaram um perfil proteico idêntico, evidenciado por uma única banda de coloração intensa. Essa banda foi comparada com os marcadores de peso molecular, e sua mobilidade relativa ($R_f = 0,88$) foi utilizada para o cálculo do peso molecular com base na equação da reta obtida pela curva padrão dos marcadores $\log(M_r) \times$ mobilidade relativa (R_m). A equação gerada permitiu estimar o peso molecular da banda principal em aproximadamente 11,74 kDa, sugerindo um alto grau de pureza da proteína presente nas amostras analisadas (Figura 7).

Figura 7 – Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) corada por prata.



Fonte: imagem obtida pelo autor.

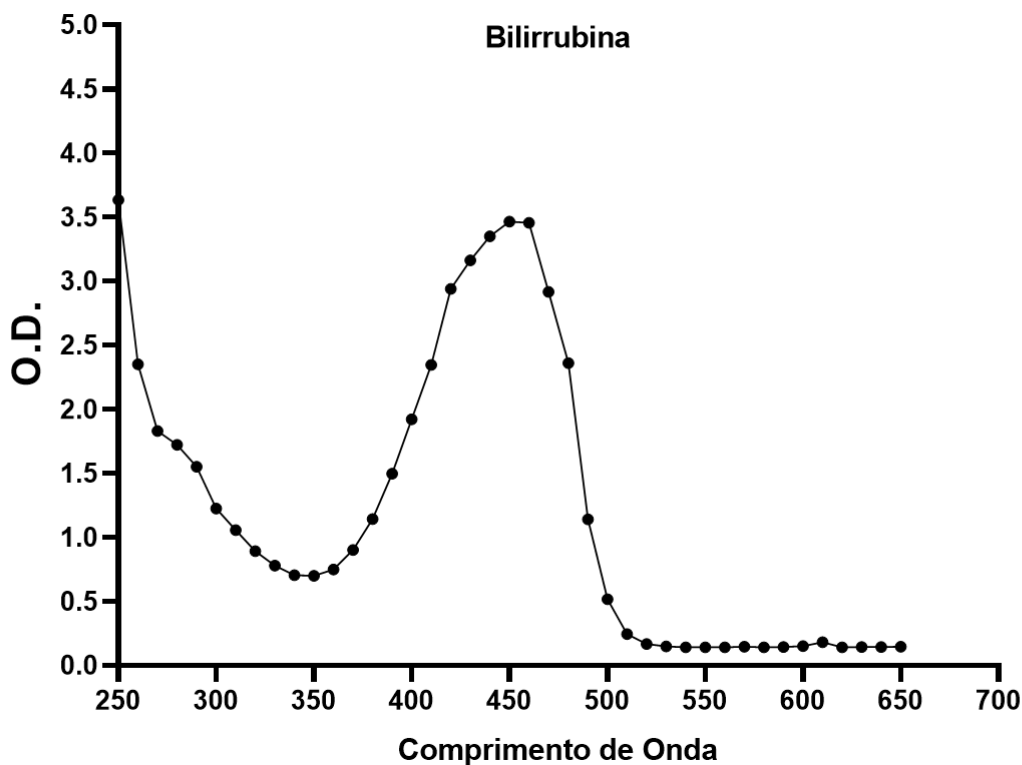
Legenda: À esquerda, marcador de peso molecular (P), com faixas de referência variando de 10 a 260 kDa. As demais faixas correspondem às amostras analisadas (A1, A2 e A3),

que apresentaram uma única banda proteica com mobilidade idêntica, sugerindo alto grau de pureza e mesma identidade molecular entre as amostras. $R^2 = 0,9521$.

4.4 Análise da presença de bilirrubina nos arilos de *Strelitzia reginae*

Após as leituras espectrofotométricas dos resíduos ressuspensos em DMSO concentrado, foi observado a presença de compostos com perfil de absorbância compatível com a bilirrubina. O espectro gerado revelou dois picos de absorção distintos, um na região do ultravioleta, com máximo em aproximadamente 270 nm, e o outro na região do visível, com pico acentuado em torno de 450 nm (Figura 8).

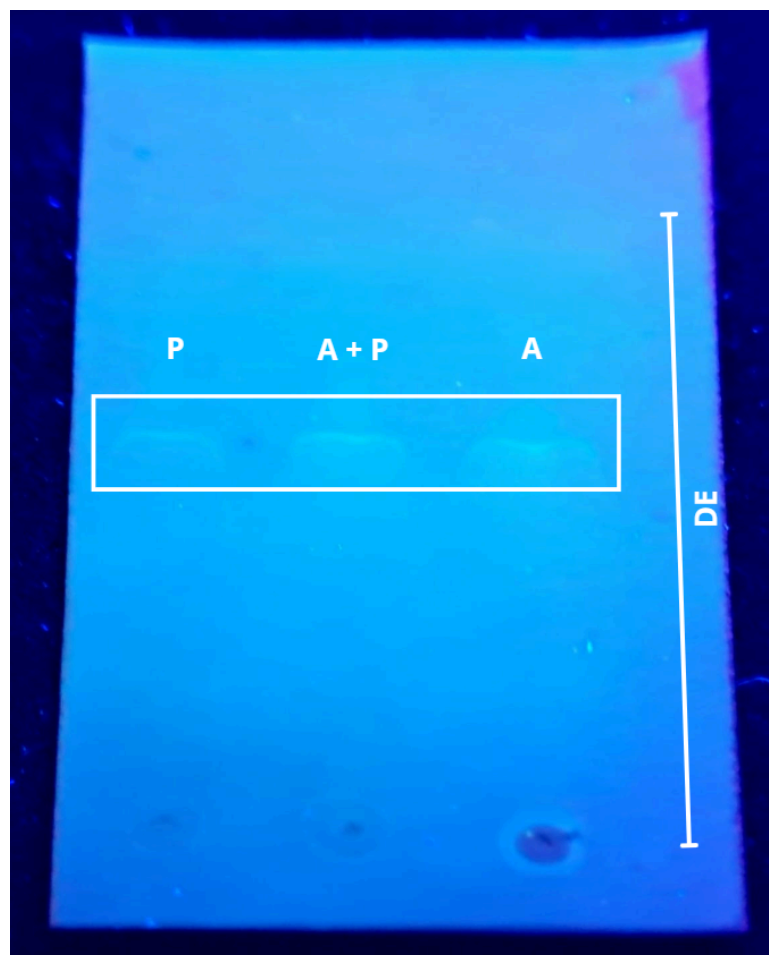
Figura 8 – Espectro de varredura do extrato obtido com DMSO.



Legenda: O gráfico mostra os valores de absorbância (O.D.) do extrato obtido com clorofórmio em DMSO em função do comprimento de onda (250 a 650 nm).

Além disso, o resultado obtido por cromatografia em camada delgada revelou que as amostras analisadas apresentaram o mesmo fator de retenção ($R_f = 0,7333$) que o padrão de bilirrubina pura, indicando a possível presença desse composto nas amostras de interesse (Figura 9).

Figura 9 – Cromatografia em camada delgada (CCD) sob luz UV.



Fonte: imagem obtida pelo autor.

Legenda: Observa-se a separação dos compostos nos três canais: padrão (P), mistura da amostra com o padrão (A+P) e amostra (A). As manchas fluorescentes, alinhadas na mesma altura nos três canais, indicam a presença de um mesmo composto nas amostras e no padrão.

5. DISCUSSÃO

Como retratado na Figura 1 e Figura 2, os arilos de *Strelitzia reginae*, e suas células, apresentam uma intensa coloração laranja. Essa estrutura colorida fixada à semente frequentemente está associada à sinalização das plantas, como, por exemplo, para atrair agentes dispersores (Ramirez *et al.*, 2021). Já se sabe que a

pigmentação desse órgão vegetal é devida à presença de bilirrubina (Pirone, 2010), entretanto muitas proteínas também estão envolvidas em diversos aspectos da pigmentação vegetal. Elas podem atuar como enzimas nas vias biossintéticas de pigmentos como clorofilas, carotenoides e flavonoides, além de participar do transporte, estabilização e armazenamento desses compostos (Młodzińska, 2009). Algumas proteínas formam complexos com pigmentos, intensificando suas cores, enquanto outras podem regular a expressão gênica em resposta a estímulos ambientais (Młodzińska, 2009). Adicionalmente, a aplicação do corante Sudan III permitiu a detecção de substâncias lipídicas nos tecidos do arilo, revelando áreas intensamente coradas em tons alaranjados, especialmente em regiões mais espessas do tecido, o que confirma a natureza lipídica dessas estruturas. Esse padrão está em concordância com estudos que demonstram a elevada composição lipídica em arilos de diferentes espécies, como *Taxus baccata*, ricos em ácidos graxos poli-insaturados (Tabaszewska *et al.*, 2021), *Euonymus spp.*, cujos arilos concentram quase todo o óleo de reserva do fruto na forma de triacilgliceróis (Sidorov *et al.*, 2014), e *Copaifera langsdorffii*, cujos óleos essenciais do arilo contêm altos teores de sesquiterpenos não oxigenados com possível função protetora sobre lipídios (Portella *et al.*, 2015). Dessa forma, a coloração intensa dos arilos não é apenas resultado dos pigmentos, mas também possivelmente influenciada pela presença e atividade das proteínas, bem como pela elevada concentração de lipídios presentes em sua matriz, o que reforça a importância de investigar de forma integrada o conteúdo proteico e lipídico dessa estrutura.

A análise da composição elementar, realizada com o objetivo de detectar a presença de nitrogênio, constituinte das proteínas, nas fibras dos arilos, não conseguiu evidenciar esse elemento. A maior parte do conteúdo encontrado foi de carbono e oxigênio, os quais podem ser relacionados com o componente mais abundante das paredes celulares, a celulose. Esse polissacarídeo consiste em cadeias lineares de $\beta(1,4)$ - glucano, as quais, basicamente, são formadas por átomos de carbono e oxigênio. Além disso, há também a presença de uma matriz de polímeros de glicose bastante extensa contendo hemicelulose e pectinas. Essas moléculas são formadas principalmente por xiloglucanas, xilanas e mananas, carboidratos, que, assim como a celulose, possuem majoritariamente em sua constituição os elementos encontrados pela técnica de EDS (Verbančič *et al.*, 2018). Como resultado, considerando que a análise elementar indicou maior presença de

carbono e oxigênio, e a amostra não foi lisada, torna-se necessário recorrer a técnicas complementares, como a maceração ou até mesmo a liofilização, para detectar proteínas e confirmar a sua presença nos arilos.

Após a obtenção do extrato vegetal em SDS, um dos reagentes de laboratório mais populares usados para extração de amostras biológicas (Zhou, 2012), as leituras espectrofotométricas mostraram picos de absorbância no espectro de luz UV, 300 nm, e também no visível, entre 400 e 500 nm. As proteínas possuem forte absorção em comprimentos de onda mais altos da região UV-B. Essa característica é devida à presença de aminoácidos aromáticos fenilalanina, triptofano e tirosina, assim como histidina, cisteína e cistina (Hollósy, 2002). Essas moléculas são essenciais para a síntese de proteínas nas plantas (Tzin, 2010), o que pode destacar presença do conteúdo proteico nos arilos. Quanto à absorção de luz visível, existem proteínas que atuam nesse comprimento de onda, mas estão associadas ao aparato fotorreceptor (Battle *et al.*, 2020), e não há registros na literatura de que arilos realizem fotossíntese. Além disso, outros pigmentos característicos dessa faixa espectral, como flavonoides e carotenoides, apresentam forte absorção na região azul do espectro (400–500 nm) (Wessler *et al.*, 2025). Assim, a combinação dos picos de absorção observados no UV e na região visível sugere a presença de proteínas e pigmentos que justificam a coloração dos arilos, apontando para a relevância de análises eletroforéticas para identificar essas biomoléculas.

Com o intuito de descobrir o perfil das possíveis proteínas presentes nos arilos de *Strelitzia reginae*, o precipitado foi utilizado para análise do perfil proteico, mas, após a verificação do conteúdo total de peptídeos tanto no extrato quanto no precipitado, foi analisado que o quantitativo encontrado no segundo (839 µg/mL) representou aproximadamente 36,1% do conteúdo proteico presente no extrato inicial (2322,12 µg/mL). Esse valor, calculado segundo a fórmula de recuperação proposta por Reichelt *et al.* (2016), demonstra que, o resultado obtido poderia ter sido melhor aproveitado (Reichelt *et al.*, 2016). Para isso, após a corrida do gel SDS-PAGE, a coloração de prata foi empregada no gel, visto que é um método muito sensível para detectar pequenas quantidades de proteínas em géis de poliácridamida (Farrell, 2010). Portanto, apesar da recuperação parcial do conteúdo proteico durante a precipitação, a utilização da coloração de prata no SDS-PAGE possibilitou a detecção sensível das proteínas presentes, contribuindo para a caracterização do perfil proteico dos arilos de *Strelitzia reginae*.

Conforme evidenciado pelo resultado obtido após a revelação do gel (Figura 6), os arilos apresentaram um perfil proteico restrito, exibindo apenas uma única banda correspondente a um peptídeo com massa molecular aproximada de 12 kDa, caracterizando-se como uma proteína de baixo peso molecular. Proteínas vegetais nessa faixa de massa são raramente descritas na literatura, sendo citadas em alguns casos específicos, como as proteínas do complexo P dos ribossomos eucarióticos (Szick, 1998). Outras proteínas conhecidas com massas próximas incluem a ubiquitina (~8,5 kDa) e a SUMO (~11 kDa), ambas associadas a funções regulatórias específicas e pouco universais nas plantas (Ruszczyńska; Sytykiewicz, 2024). Além disso, pequenas proteínas de choque térmico (sHSPs), com massa variando entre 12 e 40 kDa, também podem ocorrer em tecidos vegetais e atuam como chaperonas moleculares, prevenindo agregação e estabilizando proteínas desnaturadas sob condições de estresse (Sadura; Janeczko, 2024). Certos membros da família LEA (*Late Embryogenesis Abundant*), como as proteínas dehydrins, também podem apresentar massas nessa faixa e estão relacionados à tolerância a seca, frio e salinidade (Shao *et al.*, 2005). Até onde foi possível verificar, não existem relatos prévios sobre proteínas com massa molecular similar isoladas de *Strelitzia reginae*. Esse resultado aponta para a possibilidade de que o presente achado represente uma característica inédita dessa espécie. Assim, são necessários outros ensaios visando a purificação e identificação dessa proteína, de modo a elucidar sua natureza e possível função biológica.

A presença de bilirrubina nas amostras derivadas dos arilos foi verificada pela detecção de um pico de absorção acentuado em torno de 450 nm, observado quando os resíduos ressuspensos em DMSO concentrado foram submetidos a análises espectrofotométricas. Esses resultados são consistentes com os descritos por Pirone *et al.* (2010), que também observaram um pico intenso no espectro visível da bilirrubina-IX α , localizado em 458 nm quando dissolvida em dimetilsulfóxido. Por fim, a cromatografia em camada delgada (CCD) confirmou os resultados da amostra, uma vez que o fator de retenção do padrão apresentou valor semelhante ao da própria amostra. A análise foi realizada sob iluminação ultravioleta, evidenciando, na região correspondente ao padrão, uma fluorescência característica compatível com a bilirrubina, a qual também foi observada na mancha proveniente da amostra dos arilos. Essa coincidência tanto na mobilidade cromatográfica quanto no comportamento de fluorescência sob UV reforça a identificação da bilirrubina no

material analisado (Kearse, 2022). Dessa forma, os dados obtidos sustentam de maneira consistente a presença de bilirrubina nos arilos de *Strelitzia reginae*.

6. CONCLUSÃO

Nossos achados evidenciam que os arilos de *Strelitzia reginae* apresentam coloração alaranjada intensa associada à presença de bilirrubina, confirmada por espectrofotometria e cromatografia em camada delgada. A análise proteica revelou um perfil simples, composto por uma única proteína de aproximadamente 12 kDa, sem registros prévios para a espécie, o que sugere um potencial inédito para futuras investigações sobre sua natureza e função biológica. A ocorrência simultânea de pigmentos e proteínas aponta para possíveis aplicações biotecnológicas, especialmente nas indústrias cosmética, alimentícia e farmacêutica. Apesar de ser uma planta amplamente utilizada como ornamental, há poucos estudos sobre seu potencial bioquímico, o que abre espaço para a prospecção tecnológica e o desenvolvimento de patentes relacionadas à extração, formulação e uso de seus compostos bioativos e pigmentos naturais. Novos ensaios são necessários para uma segunda validação dos resultados aqui obtidos, incluindo espectrometria de massas e cromatografia líquida de alta afinidade (do inglês, HPLC) para identificação precisa das biomoléculas, ensaios citotóxicos visando a aplicação segura de compostos em produtos relacionados à pigmentação laranja, e testes antimicrobianos para avaliar potenciais atividades contra microrganismos. Essas análises adicionais poderão elucidar não apenas a identidade e função da proteína detectada, mas também o espectro de aplicações funcionais e tecnológicas da *Strelitzia reginae*. Assim, este trabalho contribui significativamente para o conhecimento sobre a composição bioquímica dos arilos dessa espécie, reforçando seu valor científico e seu potencial como fonte de compostos inovadores para o desenvolvimento de produtos.

7. REFERÊNCIAS

ANDERSSON, L. Strelitziaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). *Flowering Plants IV: Monocotyledons – Alismatales to Commelinanae (except Gramineae)*. Berlin; Heidelberg: **Springer**, 1998. p. 451-455.

BATTLE, Martin W. *et al.* Shades of green: untying the knots of green photoperception. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 19, p. 5764–5770, 7 out. 2020.

BRUDZYŃSKA, Patrycja; SIONKOWSKA, Alina; GRISEL, Michel. Plant-derived colorants for food, cosmetic and textile industries: a review. **Materials**, v. 14, n. 13, art. 3484, 23 jun. 2021.

CHEN, Sixue; HARMON, Alice C. Advances in plant proteomics. **Proteomics**, v. 6, n. 20, p. 5504–5516, out. 2006.

CHOPRA, Bhawna; DHINGRA, Ashwani Kumar. Natural products: a lead for drug discovery and development. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 9, p. 4660–4702, 13 abr. 2021.

DWARKA, Depika *et al.* Preparation techniques of *Strelitzia nicolai* aril tissue for scanning electron microscopy. **Journal of Advanced Microscopy Research**, v. 12, p. 1–7, 2017.

DWARKA, Depika *et al.* New insights into the presence of bilirubin in a plant species *Strelitzia nicolai* (Strelitziaceae). **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 14, n. 2, p. 253-262, 13 jan. 2017.

FARRELL JR., Robert E. Electrophoresis of RNA. In: **RNA Methodologies**. 4. ed. San Diego: Academic Press, 2010. Cap. 9.

HOLLÓSY, F. Effects of ultraviolet radiation on plant cells. **Micron**, v. 33, n. 2, p. 179-197, 2002.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora do Brasil 2020**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2021. Disponível em: <https://dspace.jbrj.gov.br/jspui/bitstream/doc/118/5/Flora%202020%20digital.pdf>.

JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. Strelitziaceae Hutch. – **Flora e Funga do Brasil**. Reflora. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora>.

KATZ, Leonard; BALTZ, Richard H. Natural product discovery: past, present, and future. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 43, n. 2-3, p. 155-176, 1 mar. 2016.

KEARSE, Kelly P. Ultraviolet fluorescent detection of elevated bilirubin in dried blood serum. **Journal of Forensic Science Research**, v. 6, p. 49-52, set. 2022.

KRESS, J. A diversidade e distribuição de *Heliconia* (Heliconiaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v. 4, n. 1, p. 159-167, 1990.

KRESS, W. J.; STONE, D. E. Morphology and floral biology of *Phenakospermum* (Strelitziaceae), an arborescent herb of the Neotropics. **Biotropica**, p. 290-300, 1993.

LIU, Yahui *et al.* Proteomics: a powerful tool to study plant responses to biotic stress. **Plant Methods**, v. 15, art. 135, 18 nov. 2019.

MŁODZIŃSKA, Ewa. Survey of plant pigments: molecular and environmental determinants of plant colors. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica**, v. 51, n. 1, p. 7–16, 2009.

MOREIRA, Adriana Campos; MÜLLER, Ana Cristina Almeida; PEREIRA JR., Nei; ANTUNES, Adelaide Maria de Souza. Pharmaceutical patents on plant derived materials in Brazil: policy, law and statistics. **World Patent Information**, v. 28, n. 1, p. 34-42, mar. 2006.

PIRONE, Cary L. Bilirubin: an animal pigment in the Zingiberales and diverse angiosperm orders. 2010. **Dissertação** (Mestrado em Biologia) – Florida International University, Miami, 2010.

PIRONE, Cary *et al.* Animal pigment bilirubin discovered in plants. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 8, p. 2830-2830, 25 fev. 2009.

PORTELLA, Roberto de Oliveira *et al.* Chemical composition of essential oils from the vegetative and reproductive structures of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Natural Product Research**, v. 29, n. 9, p. 874-878, 2015.

RAMÍREZ, Nelson; BARRIOS, Yeni; BRICEÑO, Herbert. Correlations between morphological fruit types, fruit and seed colors, and functional groups. **Biota Neotropica**, v. 21, n. 4, 2021.

REICHELT, Wieland N. *et al.* Bioprocess monitoring: minimizing sample matrix effects for total protein quantification with bicinchoninic acid assay. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, v. 43, p. 1271–1280, 17 jun. 2016.

RUSZCZYŃSKA, Magdalena; SYTYKIEWICZ, Hubert. New insights into involvement of low molecular weight proteins in complex defense mechanisms in higher plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 15, art. 8531, 2024.

SADURA, Iwona; JANECKO, Anna. Are heat shock proteins important in low-temperature-stressed plants? A minireview. **Agronomy**, v. 14, n. 6, art. 1296, 15 jun. 2024.

SHAO, Hong-Bo; ZONG-SUO, Liang; SHAO, Ming-An. LEA proteins in higher plants: structure, function, gene expression and regulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 45, n. 3–4, p. 131-135, 10 nov. 2005.

SIDOROV, Roman A. *et al.* Positional-species composition of triacylglycerols from the arils of mature *Euonymus* fruits. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 91, p. 2053-2063, 2014.

SZICK, Kathleen; SPRINGER, Mark; BAILEY-SERRES, Julia. Evolutionary analyses of the 12-kDa acidic ribosomal P-proteins reveal a distinct protein of higher plant ribosomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, n. 5, p. 2378–2383, 3 mar. 1998.

SÜNTAR, Ipek. Importance of ethnopharmacological studies in drug discovery: role of medicinal plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 1199–1209, 2020.

TABASZEWSKA, Małgorzata *et al.* Red arils of *Taxus baccata* L.—A new source of valuable fatty acids and nutrients. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 723, 2021.

TAN, Melvin; NAWAZ, Malik Adil; BUCKOW, Roman. Functional and food application of plant proteins – a review. **Food Reviews International**, v. 39, n. 5, p. 2428–2456, 19 ago. 2021.

TZIN, Vered; GALILI, Gad. New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. **Molecular Plant**, v. 3, n. 6, p. 956–972, nov. 2010.

VERBANČIČ, Jana; LUNN, John Edward; STITT, Mark; PERSSON, Staffan. Carbon supply and the regulation of cell wall synthesis. **Molecular Plant**, v. 11, n. 1, p. 75–94, 8 jan. 2018.

WESSLER, Caspar-Friedrich *et al.* The effect of supplemental LED lighting in the range of UV, blue, and red wavelengths at different ratios on the accumulation of phenolic compounds in pak choi and swiss chard. **Food Research International**, v. 200, art. 115438, jan. 2025.

ZHOU, Jian-Ying *et al.* A simple sodium dodecyl sulfate-assisted sample preparation method for LC-MS-based proteomics applications. **Analytical Chemistry**, v. 84, n. 6, p. 2862–2867, 2 mar. 2012.