UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS
CAMPUS OESTE – SÃO LUÍS DE MONTES BELOS
PÓS GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL E FORRAGICULTURA

GABRIEL FERREIRA DE OLIVEIRA

UTILIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI COMO AGENTE ANTIOXIDANTE DE SÊMEN BOVINO

SÃO LUÍS DE MONTES BELOS

2025

GABRIEL FERREIRA DE OLIVEIRA

UTILIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI COMO AGENTE ANTIOXIDANTE DE SÊMEN BOVINO

Dissertação apresentada como exigência para obtenção do título de mestre em Produção Animal e Forragicultura, pela Universidade Estadual de Goiás, sob a orientação do Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos

SÃO LUÍS DE MONTES BELOS – GO

2025

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F048u Ferreira de Oliveira, Gabriel
UTILIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI COMO AGENTE ANTIOXIDANTE DE SEMÊN BOVINO / Gabriel Ferreira de Oliveira; orientador Klayto José Gonçalves dos Santos. -- São Luís de Montes Belos, 2025.
41 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Produção Animal e Forragicultura) -- Câmpus Oeste - Sede: São Luís de Montes Belos, Universidade Estadual de Goiás, 2025.

1. Criopreservação. 2. Espermatozoide. 3. Reprodução. 4. Conservação espermática . I. José Gonçalves dos Santos, Klayto , orient. II. Título.

GABRIEL FERREIRA DE OLIVEIRA

UTILIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI COMO AGENTE ANTIOXIDANTE DE SÊMEN BOVINO

Aprovada em 05 de setembro de 2025, pela Banca Examinadora constituídas pelos professores:

Dissertação apresentada como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Produção Animal e Forragicultura, pela Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Oeste - Sede São Luís de Montes Belos, sob orientação do professor Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Klayto José Gonçalves dos Santos – UEG
Orientador

Profa. Dra. Renata Vaz Ribeiro – UEG
Membro

Profa. Dra. Sâmara Cristine Costa Pinto – FAPEG
Membro

SÃO LUÍS DE MONTES BELOS - GO

2025

Digitalizado com CamScanner

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por orientar meus caminhos e me dar forças todos os dias. Aos meus pais Divino Antônio Ferreira Pontes e Delice de Oliveira Jacinto e minha namorada Carla Maria Oliveira Gonzaga pelo amor, incentivo e apoio em todos os âmbitos sempre me incentivando a fazer o meu melhor. Ao meu orientador Prof. Dr. Klayto José que sempre me incentivou e apoiou do início ao fim desse trabalho e sempre ter um comprometimento comigo, suporte e inspiração.

Agradeço também a Prof. Dra Joelma Paula e aos seus alunos do mestrado de farmácia da UEG campus sede, em Anápolis, pelo apoio e por produzir os insumos utilizados durante a realização do experimento. Agradeço também a Prof. Dra Sâmara por emprestar seu conhecimento e experiencia auxiliando no desenvolvimento do trabalho e também a todos os colaboradores do Biotec por se comprometerem a ajudar no que fosse possível para que tudo desse certo.

Agradeço aos meus colegas de classe e a todas as pessoas que contribuíram para o meu crescimento tanto pessoal quanto profissional.

Enfim, agradeço a todos.

“As pessoas costumam dizer que a motivação não dura sempre. Bem, nem o efeito do banho, por isso recomenda-se diariamente”

ZIG ZIGLAR

RESUMO

O Brasil vem se destacando nas tecnologias de reprodução como a inseminação artificial e o congelamento de sêmen. O objetivo do trabalho foi fazer uma abordagem acerca dos efeitos deletérios dos agentes oxidativos sobre os espermatozoides e buscar sobre as atividades antioxidativas presentes no pequi que podem auxiliar como antioxidante na congelação de sêmen bovino. Os frutos do pequi foram coletados no mês de novembro de 2023, no município de Faina, localizado na região noroeste do estado de Goiás. As amostras foram levadas ao laboratório de farmácia da UEG campus Anápolis, onde foram processadas pelo método de Hidrodestilação de Clevenger e renderam 2,983 gramas de óleo essencial. Os testes foram realizados no laboratório do Biotec utilizando 4 touros da raça Girolando identificados como: Touro 1, Touro 2, Touro 3 e Touro 4. Os touros eram coletados e tinham os parâmetros de turbilhonamento, motilidade e vigor avaliados inicialmente e o volume posteriormente, na câmara de Neubauer. O óleo essencial foi utilizado inicialmente adicionado ao diluente do sêmen a fresco em tratamentos com doses de 25µ, 50µ e 100µ e posteriormente reduzido para tratamentos de 2µ, 5µ e 10µ. Os testes foram realizados avaliando os tratamentos em função do tempo em que o sêmen ficava em contato com o óleo, sendo 10 minutos, 30 minutos, 01 hora, 02 horas e 03 horas. O tratamento mais eficaz, de 2µ, foi submetido ao teste de resfriamento até 5°C. Foi utilizada a análise estatística descritiva. Em todos os tratamentos a qualidade espermática reduzia drasticamente à medida que o tempo aumentava, sendo que o tratamento 2µ também não resistiu ao resfriamento. Com o trabalho, chegou-se à conclusão que nessas condições experimentais realizadas, o óleo essencial do pequi não apresentou a capacidade antioxidante esperada.

Palavras–chave: criopreservação; espermatozoide; reprodução; conservação espermática.

ABSTRACT

Brazil has been excelling in reproductive technologies such as artificial insemination and semen freezing. The objective of this study was to examine the deleterious effects of oxidative agents on sperm and to investigate the antioxidant activities present in pequi, which may be useful in bovine semen freezing. Pequi fruits were collected in November 2023, in the municipality of Faina, located in the northwestern region of the state of Goiás. The samples were taken to the pharmacy laboratory of the UEG Anápolis campus, where they were processed using the Clevenger hydrodistillation method, yielding 2.983 grams of essential oil. The tests were performed in the Biotec laboratory using four Girolando bulls identified as Bull 1, Bull 2, Bull 3, and Bull 4. The bulls were collected and had their turbulence, motility, and vigor parameters initially assessed, followed by their volume in a Neubauer chamber. The essential oil was initially added to the fresh semen diluent in treatments with doses of 25µ, 50µ, and 100µ, and later reduced to 2µ, 5µ, and 10µ. Tests were conducted by evaluating the treatments based on the time the semen was in contact with the oil: 10 minutes, 30 minutes, 1 hour, 2 hours, and 3 hours. The most effective treatment, 2µ, was subjected to the cooling test to 5°C. Descriptive statistical analysis was used. In all treatments, sperm quality decreased drastically as time increased, and the 2µ treatment also did not withstand cooling. The study concluded that under these experimental conditions, pequi essential oil did not exhibit the expected antioxidant capacity.

Keywords: cryopreservation; sperm; reproduction; sperm conservation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Representação geográfica do município de Faina – GO	19
Figura 2.	Preparaçao da polpa para ir pro Clevenger	21
Figura 3.	Processo de Hidrodestilação	22
Figura 4	Desenho experimental dos tratamentos utilizando óleo essencial do pequi	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Rendimento das extrações do óleo essencial do pequi	22
Tabela 2.	Constituintes químicos identificados no óleo essencial da polpa dos frutos de *Caryocar brasiliense Cambess*.....	27
Tabela 3.	Avaliação de turbilhão e motilidade dos touros	28
Tabela 4.	Análises morfológicas dos touros	29
Tabela 5.	Resultados do exame andrológico do Touro 2	29
Tabela 6.	Sêmen a fresco do Touro 2 após teste com os Tratamentos	30
Tabela 7.	Sêmen a fresco do Touro 1 após teste com os novos tratamentos	31
Tabela 8.	Sêmen a fresco do Touro 4 após teste com os novos tratamentos	32
Tabela 9.	Sêmen a fresco do touro 3 após teste com os novos tratamentos	32
Tabela 10.	Resultados do resfriamento do sêmen do touro 4 em relação ao tratamento de 2 µl	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Percentual
µl	Microlitros
°C	Graus Celsius
ADP	Adenosina Difosfato
ATP	Adenosina Trifosfato
Biotec	Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal
CAT	Catalase
Cu^{+}	Cobre
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
Fe^{++}	Ferro
GPx	Glutationa Peroxidase
H_2O	Molécula de Água
H_2O_2	Peróxido de Hidrogênio
O_2	Oxigênio
$O_2^{o"""""}$	Ânion superóxido
OH	Hidroxila
SOD	Superóxido Dismutase
UEG	Universidade Estadual de Goiás

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 11
2 REVISÃO DA LITERATURA 12
2.1 SÊMEN BOVINO 12
2.2 CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN 12
2.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO 13
2.3 DANOS ESPERMÁTICOS CAUSADOS PELA OXIDAÇÃO 14
2.4 ANTIOXIDANTES 15
2.4.1 **Antioxidantes enzimáticos** 15
2.4.2 **Antioxidantes não enzimáticos** 16
2.5 ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI COMO AGENTE ANTIOXIDANTE 16
2.6 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI 18
3 METODOLOGIA 19
3.1 ORIGEM E COLETA 19
3.2 PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO 19
3.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL 20
3.4 PREPARAÇÃO DOS TOUROS 23
3.5 APLICAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL NO SÊMEN 25
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 27
CONCLUSÃO 35
REFERÊNCIAS 36

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil é um país que vem se destacando no mundo da bovinocultura, na área de tecnologias tanto para reprodução quanto para a produção de animais, levando a uma constante evolução dos produtos brasileiros (ROSIN et al., 2020).

Amplamente relacionado à evolução da qualidade da produção da bovinocultura brasileira, está a utilização da criopreservação devido aos benefícios acerca do melhoramento genético dos rebanhos, favorecendo assim a maximização da criação e a utilização da inseminação artificial para melhor aproveitamento dos machos, além de agir como forma de conservação de material genético de animais de grande interesse zootécnico que venham a falecer, mantendo o sêmen desses animais armazenados por prazo indefinido desde que realizado da maneira correta, por meio da congelação que irá impedir os processos de metabolismo espermático (MORRELL e MAYER, 2017).

Contudo, a presença de oxigênio no sêmen pode ser extremamente prejudicial para a sobrevivência dos espermatozoides, devido as suas reações químicas que permite o surgimento das Espécies Reativas de Oxigênio (EROs). O acúmulo dessas EROs nas células proporciona o estresse oxidativo, característico por um distúrbio entre os sistemas antioxidantes e pro-oxidantes das células, e dependendo da severidade do processo pode ser letal para as mesmas (LUZ et al., 2011). Com base nesses efeitos negativos da oxidação sobre a qualidade dos espermatozoides, tornando-se necessário a investigação sobre a utilização dos agentes antioxidantes.

Esses agentes antioxidantes são definidos como qualquer substância que em baixas concentrações quando relacionadas ao substrato oxidativo, inibe ou reduz a oxidação deste substrato efetivamente (SIES; STAHL, 1995). Ou seja, os antioxidantes são responsáveis pelo bloqueio ou diminuição de lesões provocadas pelos radicais livres nas células (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

Objetivou-se através desse trabalho uma abordagem acerca dos efeitos deletérios dos agentes oxidativos sobre as células vivas e buscar sobre as atividades antioxidantes presentes no pequi que podem auxiliar a criopreservação impedindo a oxidação das células espermáticas durante o processo de congelação de sêmen.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 SÊMEN BOVINO

O sêmen bovino é composto por duas partes destintas, sendo os espermatozoides representando menos de 1% do volume total e o plasma seminal, que é um composto de secreções do epidídimo, das glândulas anexas do trato reprodutivo e também das glândulas vesiculares que secretam de 30 a 60% desse líquido (BARTH e OKO, 1989).

O líquido secretado pelas glândulas vesiculares possui cor amarelado, composto de prostaglandinas, citratos, aminoácidos, proteínas e possui cerca de 70% de frutose, sendo o principal componente responsável por fornecer energia aos espermatozoides (GARTNER, 2007).

O espermatozoide bovino tem como principal característica da cabeça, o núcleo oval de forma achatada com alta compactação de cromatina, que quando condensada compreende um complexo de DNA com as protominas que são uma classe especial de proteínas. O acrossoma que recobre a extremidade anterior do núcleo, é formado por uma camada de membranas duplas que envolvem proximamente o núcleo durante as últimas fases da formação do espermatozóide. Essa estrutura possui enzimas hidrolíticas que incluem a pró-acrosina, esterases, hialuronidase e hidrolases ácidas, que participam do processo de fecundação. As principais atribuições das enzimas acrossomais compreendem a dispersão das células do *cumulus oophorus* (conjunto de células somáticas que circundam o oócito) e a lise da zona pelúcida. A introdução nessa zona e fusão com o oolema são situações mediadas por receptores que se aderem aos alvos nos oócitos através de áreas especificas na cabeça do espermatozoide (HAFEZ, 1995).

As partes fundamentais que formam a cauda do espermatozoide são o colo, a peça intermediária, peça principal e peça terminal, onde a parte da cauda entre o colo e annulus recebe a denominação de peça intermediaria, onde a parte central dessa peça forma o axonema. O axonema possui nove pares de microtúbulos periféricos em sua composição, onde a proteína dineína transforma a energia química em mecânica, promovendo a energia necessária para a motilidade espermática (HAFEZ, 1995).

2.2 CRIOPRESERVAÇÃO DE SÊMEN

Nos dias atuais, os proprietários de fazendas estão cada vez mais preocupados em facilitar o manejo nas propriedades e ao mesmo tempo buscando uma maneira de estocar o material genético de seus reprodutores de alto valor zootécnico para utilização em estações

de monta e por isso estão recorrendo ao método de congelamento de sêmen (ABUD et al., 2014).

O pós-descongelamento pode comprometer a capacidade de fecundação da célula espermática, entretanto para evitar isso, a criopreservação tem o intuito de manter as características da célula de forma idônea na descongelação, garantido segurança durante o transporte do material genético, o que leva ao prolongamento da vida útil do mesmo elevando a utilização e aprimoramento das biotecnologias reprodutivas (HOLT, 2000).

A falta de adaptação das células espermáticas em relação as variações de temperatura que podem ocorrer ao realizar o processo de criopreservação são capazes de resultar em alterações que comprometam sua viabilidade, e podem ocorrer simultaneamente durante todas as etapas da congelação ou descongelação, afetando a motilidade e estrutura dos espermatozoides. O processo no resfriamento que mais causa danos espermáticos é conhecido como choque frio e ocorre entre 30°C e 0°C, fase que induz ao estresse e pode ser letal para as células, ocorrendo de maneira mais severa entre 12°C a 2°C (WATSON, 2000).

Outro fator que pode afetar a qualidade espermática, são as chamadas EROs - Espécies Reativas de Oxigênio, que podem ocorrer quando o sêmen é manipulado em condições desafiadoras ou condições não adequadas, causando nos espermatozoides uma redução expressiva de qualidade, comprometendo todo o sêmen como um todo (SOTO-HERAS e PARAMIO, 2020).

2.2 ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

As espécies reativas de oxigênio (EROs) ou também radicais livres de oxigênio compreendem quaisquer compostos que possuam um ou mais elétrons que não estejam emparelhados, sendo altamente reativos e instáveis, possuindo capacidade de reagir com um grande número de compostos em proximidade, gerando inúmeras de reações. Esses compostos podem desempenhar função de agentes antioxidantes agindo como receptores de agentes redutores ou elétrons, sendo doadores desses elétrons, onde os tipos superóxido (O_2), peroxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidroxila (OH) são os três principais tipos de EROs (SIKKA, 2001; AGARWAL, 2005).

Apesar da importância e constante utilização do sêmen congelado, não é tão simples realizar o processo de criopreservação do sêmen, pois durante a realização do processo ocorre a produção excessiva e contínua das EROs, que causam efeitos deletérios aos espermatozoides induzindo a apoptose, lipoperoxidação e danos ao DNA, provocando a

redução da qualidade espermática, devido as altas concentrações de lipídios e proteínas que possuem grande sensibilidade as EROS (ANSARI et al., 2017).

Entender como é o funcionamento do transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa é de suma importância para compreender o metabolismo celular e a forma de ocorrência dos radicais livres, uma vez que a energia gerada promovida da síntese de ATP a partir do disfosfaro de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico é obtida a partir da degradação de moléculas ricas em energia que convergem para esse estágio final de respiração celular (NELSON, 2014).

O ânion superóxido ($O_2^{o""}$) é um radical livre que age apenas onde é produzido, pois é pouco reativo e sem habilidade de penetrar nas membranas lipídicas. Tem sua formação a partir do oxigênio molecular através da adição de um elétron, sendo gerado espontaneamente na membrana mitocondrial, por meio da cadeia respiratória e também por ciclogenases, lipoxigenases e flavoenzimas (COSTA e STREIT, 2019).

O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) não é considerado um radical livre e sim um metabolito de oxigênio muito deletério por participar como intermediário na reação que produz o radical OH^o. O peróxido é produzido a partir da dismutação enzimática do ânion O_2 através da atuação da superóxido dismutase (SOD). Em seguida, o peróxido de hidrogênio pode ser convertido em radical OH^o por meio de uma reação catalisada por metais, especialmente o Fe^{++} ou o Cu^+ cujo se denomina reação de Fenton, onde o OH^o reage rapidamente com biomoléculas, sendo o radical mais reativo em sistemas biológicos (SIKKA, 1996; NORDBERG e ARGNÉR, 2001).

2.3 DANOS ESPERMÁTICOS CAUSADOS PELA OXIDAÇÃO

Todos os seres aeróbicos necessitam de oxigênio para sobreviver, entretanto, apesar do oxigênio ser um elemento fundamental, os metabólitos gerados por suas reações, como o O_2, H_2O_2 e OH tem capacidade de modificar o funcionamento celular de maneira irregular, o que leva ao comprometimento de mecanismos normais das células levando a lipoperoxidação e arriscando a sobrevivência das células, implicando na viabilidade das células espermáticas dos machos (DONNELLY et al., 1999). O surgimento da lipoperoxidação leva a alterações nas propriedades físicas e químicas das membranas celulares, o que ocasiona o comprometimento da seletividade nas trocas iônicas, alterações de permeabilidade, formação de produtos citotóxicos como por exemplo o malondialdeído, extravasamento de liquido intracelular e risco de morte celular por liberação de conteúdo das organelas (BOKOV et al., 2004).

O estresse oxidativo pode ocorrer durante a criopreservação das células espermáticas, em decorrência das EROs, cuja característica se apresenta por meio de um distúrbio entre os sistemas pro-oxidantes e antioxidantes, que prejudica o sistema de defesa antioxidante da célula, acarretando em mudanças químicas e físicas na membrana acrossomal e plasmática (AGARWAL et al., 2005).

Em circunstâncias em que ocorre uma maior aparição de eventos oxidativos, o sistema tende para o lado pró-oxidante, que pode acabar sendo letal a célula, devido às alterações nos níveis antioxidantes intracelulares e dependendo da gravidade do processo (BALL., 2008). Há a possibilidade de que essa letalidade seja causada pela ação da oxidação onde as EROs podem reduzir a integridade acrossomal, a motilidade, a viabilidade e também o potencial de fertilização (ROCA et al., 2004).

2.4 ANTIOXIDANTES

Com a intenção de controlar os efeitos negativos referentes ao estresse oxidativo promovido pelos sistemas de cultivo *in vitro*, variadas estratégias vêm sendo recorridas, como a adição de substâncias antioxidantes aos meios, como por exemplo a melatonina, transferrina, glutationa, selênio e ácido ascórbico. Compondo variadas classes e mecanismos de ação, os antioxidantes possuem como função interferir no processo de oxidação com a finalidade de retardar ou inibir o dano oxidativo (OROIAN e ESCRICHE, 2015).

2.4.1 Antioxidantes enzimáticos

Algumas enzimas podem atuar como antioxidantes, agindo em organismos desenvolvidos, sendo essas enzimas a superóxido desmutase (SOD) além da catalase (CAT) e da glutationa peroxidase (GPx). A SOD atua na remoção do radical superóxido, se tornando de suma importância no auxílio de defesa do organismo em virtude das EROs (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1989).

As outras duas enzimas GPx e CAT também atuam no intuito de inibir o acúmulo do peróxido de hidrogênio, sendo ação de grande importância pois devido as reações de Haber-Weiss e Fenton por meio da participação dos metais ferro e cobre termina pela produção do radical OH* que não possui um sistema de defesa enzimático (FERREIRA e MATSUBARA, 1997; SCHNEIDER e OLIVEIRA, 2004).

A GPx se encontra no espaço intermembranas, no citosol e na matriz das mitocôndrias (VENDITTI et al., 2013), atuando na remoção de elétrons e H^+ de duas

moléculas de glutationa reduzida por meio da doação para o H_2O_2 gerando duas moléculas de H_2O e uma de glutationa oxidada (TURRENS, 2003). Localizada geralmente nos peroxissomos do citosol dos organismos eucariontes, e também com função de decompor moléculas de H_2O_2, a CAT as converte em H_2O e O_2 (ANDREYEV et al., 2005).

2.4.2 Antioxidantes não enzimáticos

Esses antioxidantes são conhecidos como suplementos da dieta ou sintéticos, e são compostos com baixo peso molecular encontrados na alimentação, sendo eles o tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), zinco, selênio, taurinas, hipotaurinas, caroteno e ácido lipoico (CROCOMO et al., 2012).

O ácido ascórbico ou vitamina C é uma vitamina hidrossolúvel que age como antioxidante, reduzindo o α-tocoferol, a EROs e os peróxidos, sendo principalmente os hidroperóxidos de lipídios nas lipoproteínas plasmáticas e de membrana, atuando lado a lado com a glutationa em virtude da proteção da célula contra os efeitos deletérios oxidativos (NORDBERG e ARNÉR, 2001).

A vitamina E (α – Tocoferol) tem sua ação antioxidante bastante estudada como sistema de proteção oxidativa. Essa vitamina possui capacidade antioxidante que inibe a formação de hidroperóxidos, isso devido a sua composição lipossolúvel e o fato de estar presente na composição das membranas celulares, o que a leva a impedir a deterioração lipídica. Esse fator de inibição da oxidação vai depender da concentração da vitamina presente nos tecidos (BUCKLEY et al., 1995).

Há também os carotenoides, cujo principal representante é o β-caroteno, que apresentam atividades antioxidante, no qual são conhecidos por permear a reação com oxigênio singleto, sendo esse uma forma muito reativa do oxigênio molecular, que se apresenta com dois elétrons spins em oposição que podem estar ou não em orbitas opostas. Os radicais livres e as EROs que tem a possibilidade de surgirem nas mitocôndrias, citoplasma ou na membrana, afetando o DNA, proteínas, carboidratos e lipídios, são os principais elementos oxidativos que são inibidos pela ação dos carotenoides (SHAMI e MOREIRA, 2004).

2.5 ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI COMO AGENTE ANTIOXIDANTE

Na intenção de reduzir ou prevenir o estresse oxidativo, são adicionados nos organismos um conjunto de substâncias endógenas e exógenas que atuam sinergicamente para neutralizar a produção excessiva das EROs (MUT-SALUD et al.,2016). Para tentar

resolver esse impasse, o óleo essencial do pequi aparece como um potencial antioxidante por causa de sua composição abundante em ácidos graxos insaturados e ácido gálico, conhecidos pela capacidade de eliminação das EROs (LIMA et al., 2007).

O cerrado é considerado o segundo maior bioma do Brasil e cobre cerca de 24% do território do país, sendo os tipos de vegetação mais comuns os campos limpos, campos sujos, cerrado típico, cerradão, mata ciliar e vereda. Devido a essa grande extensão de terra e variedade de vegetações, a capacidade de extrativismo do cerrado é muito grande, fornecendo folhas, flores, frutos, sementes, raízes, cascas, látex, óleos, resinas etc, onde esses produtos podem servir alimentação, remédios, ferramentas, utensílios e artesanato (OLIVEIRA e SCARIOT, 2010).

Presente no cerrado, está o pequizeiro (*Cariocar brasiliense* camb), cujo fruto faz parte da alimentação e tradições das comunidades sertanejas, se tornando cada vez mais introduzido também nas cidades. É utilizada sua polpa na fabricação de pratos com sabor e cheiro muito característicos, tendo a polpa do fruto duas vezes mais vitamina C que uma laranja. O pequi possui poucas iniciativas de cultivo comercial, sendo explorado apenas de forma extrativista, na safra, onde o mesmo é comercializado em natura por meio dos caroços ou pequenos processamentos como óleo e polpa (OLIVEIRA e SCARIOT, 2010).

Conforme estudos realizados, o pequi possui atividade antioxidante e age reduzindo os níveis de radicais livres, consequentemente aumentando os níveis de substâncias que influenciam na redução do envelhecimento celular (CARVALHO e PEREIRA, 2015). O caule e as folhas do pequi são formados por compostos fenólicos, que são substâncias que atuam como agente antioxidante e possuem propriedades medicinais (SOARES, 2014).

O pequi apresenta grandes quantidades de carotenoides, que agem na prevenção de doenças e como antioxidante. Há certos carotenoides que agem como a vitamina A e como protetores de óleos e gorduras devido a capacidade de sequestrar oxigênio (BEZERRA et al., 2015).

De acordo com Nascimento et al (2017), o pequi apresenta compostos fenólicos superiores a frutas domesticas como a maçã e a goiaba. Em relação aos níveis de carotenoides, os resultados foram consideravelmente superiores se comparado com a manga e semelhantes quando comparados com frutas cítricas asiáticas. Santos et al (2019) avaliou os compostos fenólicos presentes no pericarpo do pequi e constatou que os resultados foram superiores quando comparados com as cascas de outras frutas como a pera, pêssego e baru.

2.6 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DO PEQUI

Entre os compostos químicos encontrados no óleo essencial do pequi, é observado a presença de elementos da classe dos terpenos, sendo eles o eucaliptol, D-Limoeno, α-terpineol e o α-pineno (SOUSA e MARTINS, 2019). De acordo com a definição química, os terpenos são alcenos naturais, cuja característica é uma ligação dupla de carbono-carbono, sendo um hidrocarboneto insaturado. Caso haja a presença de oxigênio no terpeno, sua denominação se altera para terpenoide e sua função química se abrange para ácidos, álcoois, cetonas, éteres, aldeídos, fenóis ou epóxidos terpênicos (MURRY, 2011).

Sousa e Martins (2019), encontraram também em suas analises com óleo essencial de pequi a presença de hexanoato de etila, sendo esse éster muito utilizado comercialmente como aromatizante com sabor de maracujá em produtos industriais como sucos e doces.

O alfa-pineno é outro composto também encontrado, sendo um metabólito secundário que faz parte da classe dos monoterpenos bicíclicos e pode ser obtido dos óleos essenciais de outras plantas diferentes como *Rosmarinus officinalis, Hyptis spicigera, Hymenocrater longiflorus e Citrus latifólia* Tanaka além de estar presente também nos pinheiros. O alfa-pineno possui atividades importantes como ação antinociceptiva, antimicrobiana, anti-inflamatória, antialérgica e antioxidante, o que leva o mesmo a ser utilizado em diversos processamentos industriais (KUMMER, 2015).

Também presente no óleo essencial do pequi está o D-Limoneno. Esse composto tem como estrutura química do ciclo-hexano 1-metil-4(1-metiletenil) (VIANA et al., 2022). Uma característica da grande maioria dos monoterpenos é ser considerado seguro sem danos à saúde, devido a isso o D-Limoneno é bastante utilizado como agente flavorizante na indústria de fabricação de alimentos, além de ser utilizado também como suplemento dietético e ingrediente para a indústria de produtos cosméticos com fragrância (SUN, 2007).

O eucaliptol é outro composto encontrado. Esse é um terpenoide muito presente no óleo essencial do eucalipto e demonstra algumas atividades farmacológicas com efeito anti-inflamatório e em condições respiratórias como broncodilatadores (GOMES et al., 2020). Zhao et al (2014) descreve que o eucaliptol pode ser utilizado também como propriedade sedativa, analgésica, antiarteriosclerótica e antioxidante.

Por fim, outro composto comumente encontrado é o Alfa-Terpineol, sendo encontrado em diversas espécies de plantas que possuem aroma como: *Salvia officialis, Carthamus tinctorius, Melaleuca alternifólia, Ocimum canus Sims* e *Origanum vulgare L.* É considerado um álcool monoterpeno que ocorre naturalmente, sendo incolor e possuindo

sabor de característica doce e comumente é extraído dessas plantas para fins medicinais (CHOI et al., 2013). O composto é muito utilizado também como componente de fragrância na produção de antissépticos, sabonetes, perfumes e cosméticos, podendo também ser de ação terapêutica na prevenção e tratamento do câncer, isso graças a sua amplitude em aplicações biológicas apresentando anti-proliferativos e anticancerígenos (KHALEEL et al., 2018).

3 METODOLOGIA

3.1 ORIGEM E COLETA

Os frutos do pequi foram coletados no mês de novembro de 2023, no município de Faina, localizado na região noroeste do estado de Goiás (figura 1), que está sob as coordenadas (-15.62341989877575, -50.4686959649239). O local apresenta vegetação de cerrado e áreas de pastagem com pequizeiros isolados. Foram coletados 57 quilos de frutos que estavam no chão após caírem de maduros, sendo transportados em sacos até uma propriedade rural onde foi realizada a primeira etapa de processamento.

Figura 1. Representação geográfica do município de Faina - GO

Fonte: familysearch.org

3.2 PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO

Os frutos coletados foram descascados manualmente no mesmo dia, com a ajuda de colaboradores, e os caroços foram alocados em sacos de plástico. Após embalados, os sacos

foram levados ao freezer em uma temperatura de -19°C para serem congelados e armazenados até a próxima etapa do processamento.

Os caroços foram descongelados lentamente por três horas em temperatura ambiente (32°C) após serem removidos do freezer. Depois do descongelamento, a polpa foi removida manualmente dos caroços com o auxílio de uma faca e colocados novamente em sacos plásticos para armazenamento em freezer a -19°C.

As amostras foram levadas ainda congeladas até o laboratório de Farmácia da Universidade Estadual de Goiás (UEG) campus Anápolis. A quantidade da amostra era de cerca de quatro quilos de polpa de pequi, que chegando ao local foram descongeladas em temperatura ambiente para a extração do óleo essencial.

3.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As amostras descongeladas foram trituradas por três minutos em um liquidificador em velocidade 1 após verificar que o tamanho estava grande demais para o procedimento. Com as partículas menores, o material foi adicionado ao balão juntamente com água destilada, na proporção de 800 gramas de polpa e a água foi adicionada até cobrir a amostra, totalizando dois litros de água destilada, como mostra a figura 4.

O método utilizado para a extração do óleo essencial foi o de hidrodestilação, realizado através do aparelho de destilação Clevenger como realizado por Sovová e Aleksovski (2006). As amostras foram adicionadas no balão juntamente com a água destilada e colocadas no aparelho, que aquece o balão a 100 °C até a água começar a ferver e os vapores e gases subirem pela coluna condensadora, onde dentro da coluna tem a presença de água fria corrente na parte externa que condensa os vapores, como representado na figura 5. O aparelho foi coberto com papel alumínio, pois a luminosidade presente no ambiente pode comprometer a extração e a qualidade do óleo.

Após ser condensado, o vapor retorna ao seu estado líquido separando os componentes voláteis dos não-voláteis que estão presentes na planta. No fim do procedimento, o óleo essencial pode ser removido do sistema de destilação por meio da torneira inferior, que fica situado no reservatório que foi criado durante a operação.

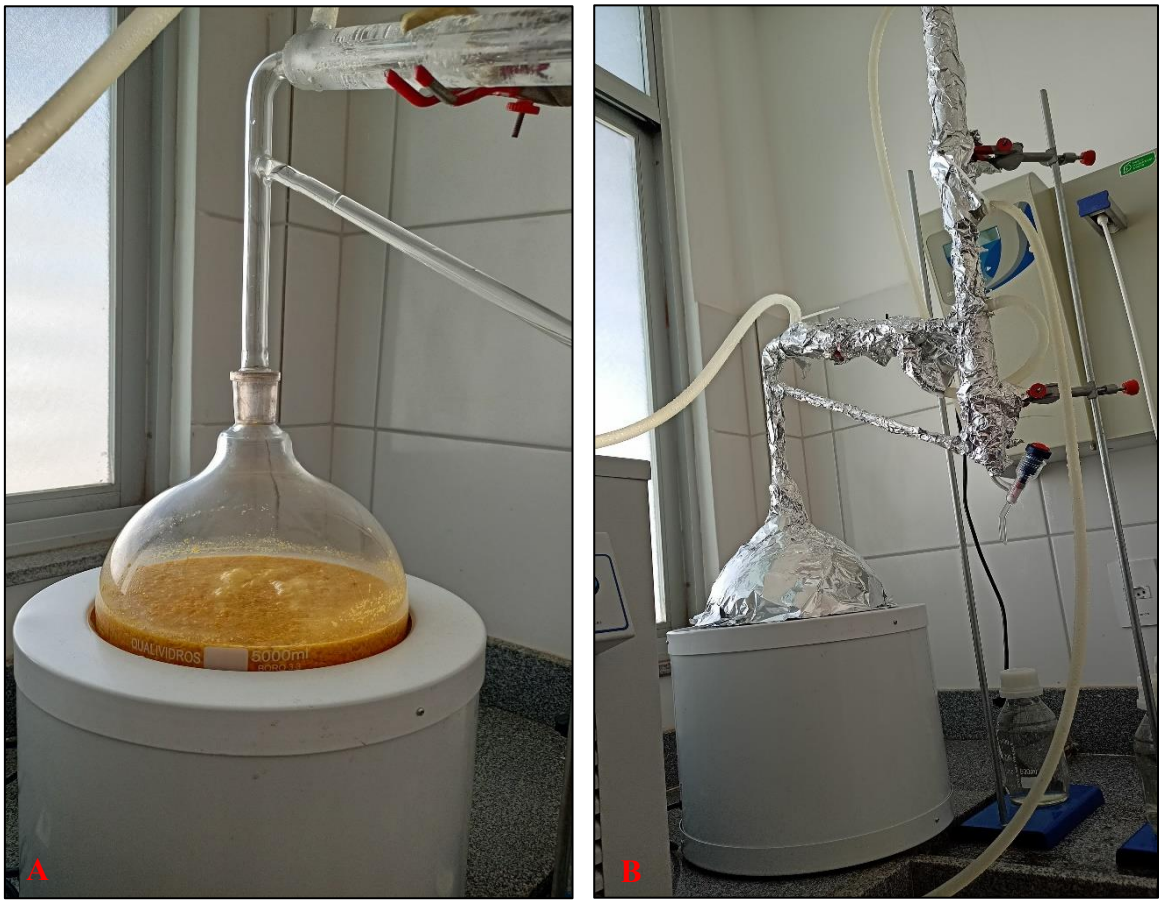
O procedimento foi realizado lentamente, totalizando seis extrações em um período de duração de quatro horas cada extração, rendendo 2,983 gramas de óleo essencial para quatro quilos de polpa como demonstrado na tabela 1. O material final foi armazenado em frasco e acondicionado no freezer a temperatura de -16°C por um período de três meses até ser transportado.

Figura 2. Preparaçao da polpa de pequi para ir pro aparelho Clevenger

A) Trituração da polpa do pequi em liquidificador B) Polpa sendo colocada dentro do balão

Fonte: Autor (2025)

Figura 3. Processo de Hidrodestilação da polpa triturada do pequi



A) Polpa do pequi dentro do balão com água destilada B) Sistema Clevenger fechado para evitar entrada de luminosidade

Fonte: Autor (2025)

O óleo essencial foi transportado em caixa térmica com gelo até o laboratório do Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal – Biotec, situado na cidade de São Luís de Montes Belos, onde foi acondicionado novamente no freezer.

Tabela 1. Rendimento das extrações do óleo essencial do pequi

Coluna 1	Peso DV (g)	Peso Frasco Vazio (g)	Peso Final (g)	PFV-PF	PF*100	Rendimento (%)
Pequi 1	1000	5,63864	6,49649	0,85785	85,785	0,086
Pequi 2	500	5,62906	5,98781	0,35875	35,875	0,072
Pequi 3	1000	5,45373	5,85740	0,40367	40,367	0,040
Pequi 4	500	5,67543	6,04728	0,37185	37,185	0,074
Pequi 5	500	5,61471	6,17647	0,56176	56,176	0,112
Pequi 6	584	5,67111	6,10028	0,42917	42,917	0,073

Tabela representando as seis extrações realizadas, demonstrando o rendimento (PF*100) em função do peso de amostra processado (Peso DV (g))

Fonte: Autor (2025)

3.4 PREPARAÇÃO DOS TOUROS

No laboratório do Biotec, foram realizados os testes de avaliação do óleo essencial do pequi, adicionando-se no sêmen de touros. Foram utilizados 4 touros da raça Girolando identificados como: Touro 1, Touro 2, Touro 3 e Touro 4, com idade entre 3 e 7 anos para a realização do experimento, sendo os animais de propriedade do próprio Biotec, criados a pasto de capim Massai e Mombaça em piquetes rotacionados com a presença de sombra de árvores e sombrites e com disponibilidade de água à vontade.

Os animais eram coletados no período da manhã devido ao clima mais fresco para evitar o estresse térmico. Os mesmos eram conduzidos ao tronco no curral e contidos para que não se movimentassem excessivamente. O estímulo foi realizado pelo método do eletroejaculador, variando de 2 a 5 volts por 4 a 5 segundos, sendo utilizado um da marca TK modelo TK 800, conforme metodologia utilizada por Ungerfeld et al (2022).

Antes da coleta de sêmen acontecer, os animais passavam por um exame físico das características corporais que podem influenciar na qualidade do sêmen conforme realizado por Silva et al (2017). Foram avaliados quanto ao escore corporal variando de 1 a 5 onde 1 é muito magro e 5 é muito gordo, onde ambos apresentaram escore médio entre 3 e 3,5. Foi feito também a avaliação dos órgãos reprodutores internos através da palpação das ampolas dos canais deferentes, as glândulas vesiculares e também da próstata para verificar se não havia variações de tamanho, forma, lobulação e sensibilidade. Os animais não apresentaram nenhuma alteração dos órgãos reprodutores internos.

O procedimento da coleta iniciava-se após a contenção do touro no tronco. Uma probe era inserida dentro do reto do animal, interligada com o estimulador através de um cabo, onde os estímulos eram intercalados e realizados de maneira gradativa. Enquanto o touro era estimulado, verificava-se ao lado do animal a coloração e aspecto do ejaculado e, com um funil e um tubo falcon de 15ml dentro de uma aste de alumínio o sêmen era coletado assim que ficasse turvo e com aspecto cremoso.

Imediatamente após o sêmen ser coletado, o mesmo era levado dentro do tubo falcon até o laboratório e colocado em banho maria a 35°C, onde media-se o volume em mililitros e iniciavam as análises seminais como realizado por Silva et al (2017). A primeira análise a ser feita era o aspecto visual onde é avaliado a cor do esperma e se não há presença de urina, sangue ou sujidades. O turbilhonamento era realizado com uma gota de sêmen adicionada em uma lâmina pré aquecida e levada ao microscópio sob a objetiva de 4 vezes. Na imagem observa-se a movimentação “em nuvem” dos espermatozoides, ou seja, a onda formada pela

movimentação dos espermatozoides de forma agrupada. Essa movimentação em onda é medida em uma escala de 0 a 5 onde 0 é imóvel e 5 é muito móvel. Posteriormente foi feita a avaliação da motilidade, realizada com uma gota de sêmen adicionada sobre uma lâmina aquecida que recebe uma lamínula por cima, espalhando a gota, que é levada ao microscópio na objetiva de 10 vezes avaliando subjetivamente a quantidade percentual de espermatozoides moveis em uma escala de 0% a 100% em que 0% é imóvel e 100% é muito móvel. No vigor foi avaliado a intensidade individual de movimentação dos espermatozoides, colocando uma gota sob uma lâmina e adicionando uma lamínula por cima, onde a avaliação é feita por meio de uma escala de 0 a 5, sendo 0 células paradas e 5 movimentos vigorosos de muita velocidade.

Para avaliação da concentração espermática, foi removida uma alíquota do sêmen e o volume total restante do ejaculado foi diluído com o diluidor comercial a base de gema de ovo e glicerol na proporção 1:1 ou seja, adicionando a mesma quantidade de diluidor para a quantidade de sêmen utilizada. Após homogeneizada, a solução foi adicionada na câmara de Neubauer e levada ao microscópio na objetiva de 20 vezes para contagem dos quadrantes e aplicação na fórmula Ls + Li x 5 / 2 = $x10^6$, onde o resultado será apresentado em espermatozoides/ml.

Após a definição da concentração espermática, foram realizadas as análises de morfologia dos espermatozoides. Para tal, foi realizado o esfregaço do sêmen adicionando-se uma gota de sêmen que estava em estava em 500 µl de solução formol salina, adicionando a mesma perto da ponta de uma lâmina base e com o auxílio de outra lâmina encostava-se na gota até que ela se espalhasse e depois se arrastava a lâmina para trás espalhando o material por toda a lâmina base e colocava para secar. Após a lâmina seca, ela era colocada em corantes de fixação para que tem função de melhorar a visibilidade e contorno dos espermatozoides durante a avaliação no microscópio. O corante utilizado foi o panotico com kit de três frascos, de composição ácidos e básicos, sendo o primeiro uma solução alcoólica de ciclohexadienos à 0,1%, o segundo uma solução aquosa de azobenzenosulfonico à 0,1%; estabilizante I à 3%; conservante à 0,26% e o terceiro uma solução alcoólica de fenotiazinas à 0,1%; estabilizante à 1,5%; conservante à 0,26%. As lâminas foram coradas colocando-as dentro de três tubos falcon 50 ml contendo cada um dos corantes e permanecendo dentro de cada tubo por um minuto e depois removidas e colocadas para secar.

Após secas, as lâminas eram levadas ao microscópio na objetiva de 100 vezes com óleo de imersão para observação dos defeitos. Esses defeitos foram divididos em defeitos maiores que são eles: acrossoma, gota citoplasmática proximal, cabeça subdesenvolvida, estreita na

base, isolada patológica, pequena anormal, contorno anormal, "*pouch formation*" (diadema), cauda enrolada na cabeça, piriforme, formas teratológicas, patologias da peça intermediária, cauda fortemente dobrada ou enrolada e cauda dobrada com gota distal, não podendo compreender mais de 10% desses defeitos maiores na avaliação. Os outros defeitos são os defeitos menores que compreendem: gota citoplasmática distal; cabeça delgada; cabeça curta, larga, gigante ou pequena; cabeça isolada normal; cabeça abaxial, retro axial ou oblíqua; cauda dobrada ou enrolada, sendo que esses defeitos menores não podem ser superiores a 20% na avaliação.

3.5 APLICAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL NO SÊMEN

Os primeiros testes foram para avaliar a qualidade espermática dos touros, onde os quatro foram aprovados para continuidade nos testes. Os touros aprovados apresentaram boas concentrações de ejaculado e defeitos aceitáveis na análise morfológica.

Após definido os animais, os testes se iniciaram com um animal coletado por semana no período de outubro a dezembro de 2024. O sêmen era coletado e avaliado o volume de ejaculado, turbilhonamento, motilidade, vigor e concentração antes de adicionar o óleo essencial.

O óleo essencial do pequi foi utilizado inicialmente no sêmen a fresco em tratamentos com doses de 25µl, 50µl e 100µl, fora o tratamento controle que não foi utilizado óleo essencial. O material era retirado do freezer e colocado sob uma placa aquecedora a temperatura de 35°C para se estabilizar à temperatura ambiente. Enquanto isso, o sêmen era diluído com diluidor comercial a base de gema de ovo e glicerol e homogeneizado, para depois ser colocado em ependorfs 0,5 ml com auxílio de um pipetador de 1000µl. Os ependorfs foram identificados de acordo com a dose de óleo essencial que iriam receber (25µl, 50µl, 100µl e grupo controle) e colocados sob a placa aquecedora. Depois de chegar à temperatura ambiente, o frasco com o óleo era aberto e a quantidade era pipetada com um pipetador correspondente ao volume desejado (25µl, 50µl e 100µl) e adicionado em cada ependorf que depois era homogeneizado. Após isso, adicionava-se uma gota do material contido no ependorf em uma lâmina e levava-se ao microscópio em objetiva de 20 vezes para avaliação da motilidade e do vigor, repetindo o procedimento entre grupo controle, 25µl, 50µl e 100µl.

O experimento foi realizado em espaços de tempo. A primeira repetição foi realizada imediatamente após o óleo ser adicionado ao ependorf com sêmen. As seguintes repetições foram realizadas após 30 minutos, 01 hora, 02 horas e após 03 horas. Após atingido o tempo

determinado, uma gota da amostra era levada ao microscópio para avaliar o vigor e a motilidade.

Após avaliação da motilidade e do vigor, era realizada a avaliação morfológica, de cada uma das amostras colocando uma gota dos ependorfs (controle, 25µl, 50µl e 100µl), corando as lâminas em corante panóptico como já descrito anteriormente. As lâminas eram identificadas de acordo com a amostra e depois de coradas e secas, eram levadas ao microscópio na objetiva de 100 vezes com óleo de imersão para a avaliação dos defeitos espermáticos. Os defeitos eram observados no microscópio contando-se 200 células, e o resultado anotado em uma ficha de analise morfológica.

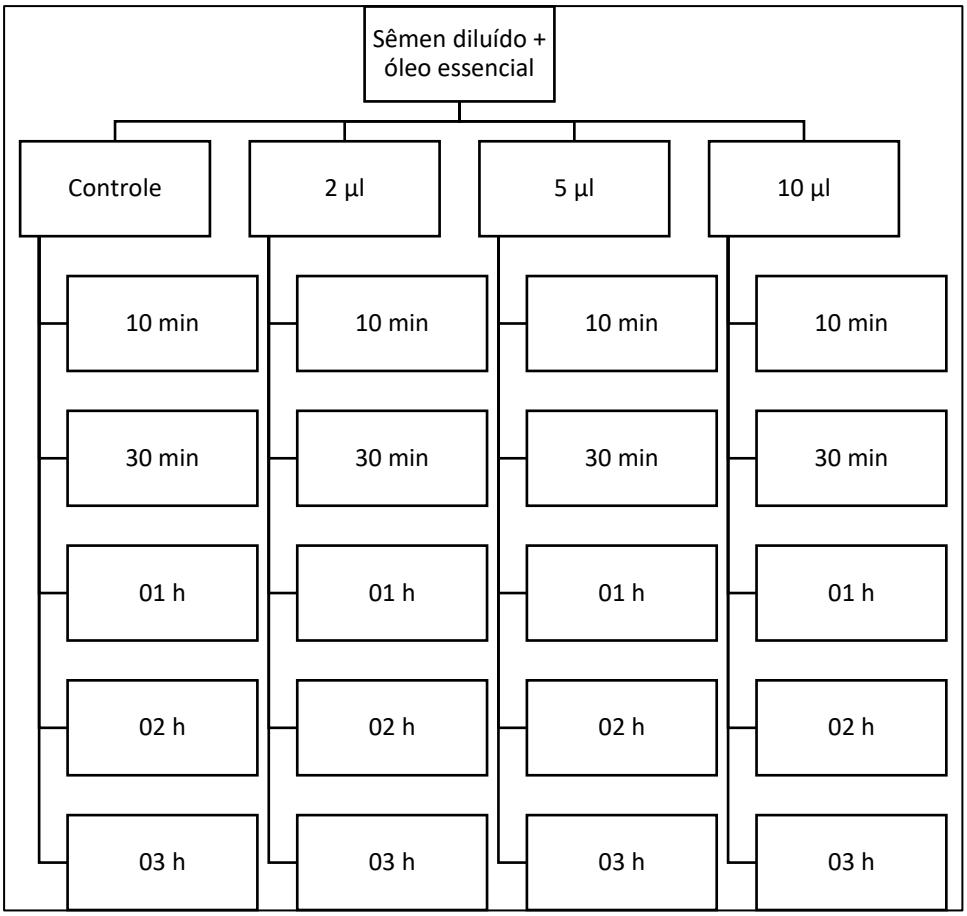
Posteriormente foram reduzidas as dosagens de óleo essencial adicionadas no sêmen nos tratamentos, na busca por uma dose ideal. Foram definidas como novos tratamentos: controle, 2µl, 5µl e 10µl como mostra a figura 4, sendo os testes realizados igualmente aos que foram executados com os tratamentos anteriores.

Além das avaliações com o sêmen a fresco realizadas anteriormente, com as novas dosagens, foi feita a avaliação com o sêmen refrigerado. O animal que apresentou melhores resultados as avaliações com as dosagens a fresco foi o touro 4. Em relação as doses utilizadas, a única dose que apresentou resultados aprovados para a refrigeração foi a dose do tratamento com 2µl.

O teste realizado foi o de resfriamento do sêmen com o tratamento de 2µ. A amostra foi adicionada na geladeira e colocado um termômetro de temperatura máxima e mínima para monitorar a temperatura até chegar em 4 °C. Além da geladeira, algumas amostras foram refrigeradas em uma bancada de refrigeração com controle automático de temperatura, e, quando chegasse na temperatura estipulada o sêmen seria reaquecido em banho maria até a temperatura de 36°C para ter a avaliação do vigor e da motilidade realizada.

A terceira etapa do experimento seria a congelação do sêmen até a temperatura de -196 °C pelo método automatizado conforme realizado por Abud et al (2014). Entretanto, nenhum tratamento foi satisfatório o suficiente para chegar a essa etapa.

Figura 4. Desenho experimental dos tratamentos utilizando óleo essencial do pequi



Desenho experimental dos tratamentos em função do tempo da amostra em contato com o óleo essencial
Fonte: Autor (2025)

A análise estatística utilizada no experimento foi a descritiva.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração e processamento do óleo essencial do pequi encontrou uma gama de constituintes químicos que podem ou não interferir nos resultados esperados do óleo como antioxidante e crioprotetor de sêmen bovino, como demonstrado na tabela 2.

Tabela 2. Constituintes químicos identificados no óleo essencial da polpa dos frutos de *Caryocar brasiliense Cambess*.

Compostos[a]	IR[b]	IR[c]	Teor (%)[d]
Ethyl isovalerate (outros, éster)	-	849	2,74
Ethyl isovalerate (outros, éster)	-	849	16,77
Isopropyl-2-methyl butyrate (outros, éster)	-	880	1,43
Isopropyl-2-methyl butyrate (outros, éster)	-	880	9,40
Methyl hexanoate (outros, éster)	919,77	921	0,36
Ethyl tiglate (outros, éster)	934,21	929	0,38
Ethy hexanoate (outros, éster)	997,44	997	34,71

Isoamyl isobutyrate (monoterpeno oxigenado)	1010,40	1007	1,06
Ethyl hex-(2E)-enoate (outros, éster)	1039,94	1038	1,08
(E)-β-Ocimene (monoterpeno hidrocarboneto)	1045,70	1044	1,00
Pentyl isobutanoate (monoterpeno oxigenado)	1052,35	1049	5,49
Isopentyl 2-methyl butanoate (monoterpeno oxigenado)	1099,48	1100	0,20
Isopentyl isovalerate (monoterpeno oxigenado)	1104,23	1102	6,48
Isobutyl hexanoate (monoterpeno oxigenado)	1148,84	1149	1,22
2-Methyl isoborneol (monoterpeno oxigenado)	1181,10	1178	0,22
Ethyl octanoate (monoterpeno oxigenado)	1196,11	1196	1,67
Benzene acetic acid, ethyl ester (monoterpeno oxigenado)	1242,60	1243	0,11
Ethyl oct-(2E)-enoate (monoterpeno oxigenado)	1245,05	1245	0,17
Isoamyl hexanoate (monoterpeno oxigenado)	1248,54	1246	1,67
Isopropyl phenylacetate (monoterpeno oxigenado)	1271,26	1267	0,21
Dendrolasin (sesquiterpeno oxigenado)	1578,66	1570	0,19
Monoterpenos hidrocarbonetos			1,00
Monoterpenos oxigenados			18,50
Sesquiterpenos oxigenados			0,19
Outros (ésteres)			66,87
Total de compostos identificados			86,56

(a) Compostos listados em ordem de eluição na coluna, (b) Índice de Retenção (IR) determinado experimentalmente em relação à série de n-alcanos, (c) Índice de Retenção (IR) da literatura (Adams, 2017), (d) Calculado a partir das áreas dos picos no cromatograma.

Fonte: Autor (2025)

Dentre os componentes químicos encontrados na análise de cromatografia do óleo essencial da polpa do pequi, foram observados diversos elementos, principalmente da classe dos ésteres e dos terpenos, com destaque para os ésteres Hexanoato de etila e Isovalerato de etila e em menor quantidade os terpenos Isovalerato de isopentila e Isobutanoato de pentila. Esses elementos encontrados na análise diferem dos resultados obtidos por SOUSA (2020), que em uma análise de óleo essencial de pequi, encontrou diversos elementos, entretanto a maioria terpenos como o α-pineno e o eucaliptol.

Os touros inicialmente apresentaram os seguintes resultados nas coletas iniciais para testar a viabilidade espermática e decisão para aptidão em participar do experimento como mostra as tabelas 3 e 4. Porém, após quatro semanas a qualidade seminal foi melhorada para iniciar os testes.

Tabela 3. Avaliação de turbilhão e motilidade dos Touros

Touros	Touro 1	Touro 3	Touro 2
Turbilhão (0-5)	0	1	0
Motilidade (0-100%)	20%	45%	20%

Fonte: Autor (2025)

Tabela 4. Análises morfológicas dos Touros

Touros	Touro 1	Touro 3	Touro 2
Defeitos maiores (%)	2%	5,5%	8%
Defeitos menores (%)	6%	6,5%	6%

Fonte: Autor (2025)

Como pode ser observado na tabela 3 os valores de turbilhonamento foram muito reduzidos, enquanto que os valores de motilidade estão muito baixos de acordo com Silva et al (2017), diz que para o processo de congelamento do sêmen bovino a motilidade deve estar em pelo menos 70% e o vigor deve estar em 3.

Ao analisar a tabela 4, pode se constatar que os defeitos maiores de alguns touros ultrapassam os 5% enquanto os defeitos menores de todos estão abaixo de 10%, o que de acordo com Barbosa et al. (2005) deve-se considerar os limites de 5% para os defeitos maiores individuais do animal e 20% para os defeitos totais, enquanto que para a avaliação dos defeitos menores, deve-se considerar individualmente a proporção de 10% e 25% para defeitos totais, tudo isso considerando que a soma de todos os defeitos (maiores e menores) não devem ultrapassar os 30%.

No dia 04 de novembro de 2024, após ser realizado o exame andrológico do touro 2, obteve-se os resultados que são apresentados na tabela 5, demonstrando que os resultados foram melhores que nos testes iniciais e pode dar-se início aos testes com o óleo essencial.

Tabela 5. Resultados do exame andrológico do Touro 2

Atributos	Dados
Circunferência escrotal	39 cm
Comprimento testículo direito	8,8 cm
Comprimento testículo esquerdo	9,4 cm
Largura testículo direito	6,8 cm
Largura testículo esquerdo	7,1 cm
Volume do ejaculado	11,5 ml
Turbilhonamento (0-5)	3
Vigor (0-5)	3
Motilidade (0-100%)	85%
Concentração ($x10^6$)	425 $x10^6$

Fonte: Autor (2025)

Os testes foram iniciados primeiramente com o sêmen fresco e utilizando tratamentos de 25µ, 50µ e 100µ. A primeira avaliação ocorreu após 10 minutos da adição das doses do

óleo essencial na solução contendo os espermatozoides e o resultado obtido é demonstrado na tabela 6.

Tabela 6. Sêmen a fresco do Touro 2 após teste com os tratamentos

Dosagens		Tempo			Morfologia	
		10 minutos	30 minutos	02 horas		
Controle	Motilidade (0 - 100%)	85	80	0	Defeitos maiores (%)	8,0
	Vigor (0 – 5)	3	3	0	Defeitos menores (%)	11,5
25µ	Motilidade (0 - 100%)	80	40	0	Defeitos maiores (%)	7,0
	Vigor (0 – 5)	3	3	0	Defeitos menores (%)	13,0
50µ	Motilidade (0 - 100%)	80	50	0	Defeitos maiores (%)	6,5
	Vigor (0 – 5)	3	3	0	Defeitos menores (%)	13,5
100µ	Motilidade (0 - 100%)	60	40	0	Defeitos maiores (%)	13,5
	Vigor (0 – 5)	3	3	0	Defeitos menores (%)	10,5

Tabela contendo dados de motilidade e vigor dos tratamentos em função do tempo da análise, com posterior avaliação da morfologia espermática nos tratamentos.

Fonte: Autor (2025)

É possível observar que não há diferenças significativas dos tratamentos 25µ e 50µ em relação ao grupo controle, enquanto isso, o tratamento de 100µ teve uma considerável redução na motilidade em relação ao grupo controle.

Na tabela 7, está representada a avaliação do touro 1 após a modificação das dosagens empregadas nos tratamentos para 2µ, 5µ e 10µ, onde é possível verificar que os valores de motilidade e vigor decaem consideravelmente após o aumento das doses de óleo essencial nos tratamentos e também na medida que o tempo entre o contato do sêmen com a solução contendo o óleo aumenta.

Tabela 7. Sêmen a fresco do Touro 1 após teste com os novos tratamentos de 2µ, 5µ e 10µ

Dosagens		Tempo			Morfologia	
		0 minutos	10 minutos	01 horas		
Controle	Motilidade (0 - 100%)	80	75	75	Defeitos maiores (%)	4,0
	Vigor (0 – 5)	3	3	3	Defeitos menores (%)	6,5
2µ	Motilidade (0 - 100%)	60	75	10	Defeitos maiores (%)	1,5
	Vigor (0 – 5)	2	3	2	Defeitos menores (%)	3,5
5µ	Motilidade (0 - 100%)	60	50	0	Defeitos maiores (%)	2,0
	Vigor (0 – 5)	2	3	0	Defeitos menores (%)	6,0
10µ	Motilidade (0 - 100%)	70	0	0	Defeitos maiores (%)	3,5
	Vigor (0 – 5)	2	0	0	Defeitos menores (%)	5,5

Tabela contendo dados de motilidade e vigor dos tratamentos em função do tempo da análise, com posterior avaliação da morfologia espermática nos tratamentos.

Fonte: Autor (2025)

O touro 4 apresentou resultados satisfatórios em relação aos novos tratamentos aderidos, apresentando bons resultados de motilidade e vigor no tratamento de 2µ e resultados superiores ao touro 1 nos demais tratamentos, como demonstrado na tabela 8. Entretanto, após um período superior a duas horas, ou seja, após três horas os resultados de motilidade e vigor caem a zero, ou seja, os espermatozoides acabam não resistindo.

Nas análises morfológicas, o touro 4 também se saiu positivamente, apresentando baixos índices de defeitos maiores e menores em todos os tratamentos avaliados, o que pode indicar que cada animal pode responder de maneira diferente à utilização do óleo.

Tabela 8. Sêmen a fresco do Touro 4 após teste com os novos tratamentos de 2µ, 5µ e 10µ

Dosagens		Tempo				Morfologia	
		10 minutos	01 horas	02 horas	03 horas	10 minutos	
Controle	Motilidade (0 - 100%)	85	85	60	0	Defeitos maiores (%)	1,5
	Vigor (0 – 5)	3	3	3	0	Defeitos menores (%)	2,5
2µ	Motilidade (0 - 100%)	85	85	60	0	Defeitos maiores (%)	4,0
	Vigor (0 – 5)	3	3	2	0	Defeitos menores (%)	3,0
5µ	Motilidade (0 - 100%)	50	50	50	0	Defeitos maiores (%)	2,0
	Vigor (0 – 5)	3	3	0	0	Defeitos menores (%)	7,0
10µ	Motilidade (0 - 100%)	80	80	60	0	Defeitos maiores (%)	2,0
	Vigor (0 – 5)	3	0	0	0	Defeitos menores (%)	4,0

Tabela contendo dados de motilidade e vigor dos tratamentos em função do tempo da análise, com posterior avaliação da morfologia espermática nos tratamentos.

Fonte: Autor (2025)

Na tabela 9 estão representados os dados de avaliação do touro 3, onde é possível observar que o mesmo obteve resultados um pouco inferiores ao touro 4 em relação à motilidade e vigor, onde o tratamento de 10µ já apresentava a morte dos espermatozoides após uma hora da adição do óleo na solução contendo os mesmos.

Tabela 9. Sêmen a fresco do Touro 3 após teste com os novos tratamentos de 2µ, 5µ e 10µ

Dosagens		Tempo				Morfologia	
		10 minutos	01 horas	02 horas	03 horas	10 minutos	
Controle	Motilidade (0 - 100%)	70	70	65	0	Defeitos maiores (%)	16

	Vigor (0 – 5)	3	3	3	0	Defeitos menores (%)	10
2µ	Motilidade (0 - 100%)	70	70	65	0	Defeitos maiores (%)	14
	Vigor (0 – 5)	3	3	2	0	Defeitos menores (%)	7
5µ	Motilidade (0 - 100%)	60	10	5	0	Defeitos maiores (%)	12
	Vigor (0 – 5)	3	2	0	0	Defeitos menores (%)	11
10µ	Motilidade (0 - 100%)	40	0	0	0	Defeitos maiores (%)	13
	Vigor (0 – 5)	3	0	0	0	Defeitos menores (%)	8

Tabela contendo dados de motilidade e vigor dos tratamentos em função do tempo da análise, com posterior avaliação da morfologia espermática nos tratamentos.

Fonte: Autor (2025)

Apenas o touro 4 apresentou resultados suficientes para realizar a próxima etapa, sendo essa, a etapa de resfriamento do sêmen, onde além do fator touro, somente o tratamento com 2µ foi satisfatório o bastante para ser resfriado, e os demais tratamentos não foram testados nessa etapa. Como pode ser observado na tabela 10, após resfriar o sêmen à temperatura de 5°C, os espermatozoides não resistiram à variação de temperatura e morreram.

Tabela 10. Resultados do resfriamento do sêmen do touro 4 em relação ao tratamento de 2 µl

Dosagens (µl)	**Controle**	**2 µl**
Motilidade (0-100%)	75%	0%
Vigor (0-5)	3	0

Tabela contendo o comparativo de motilidade e vigor entre o tratamento controle e o tratamento 2 µl.

Fonte: Autor (2025)

Como pode ser observado na tabela 6, os resultados do uso do óleo essencial do pequi não foram satisfatórios, principalmente quando utilizado em maiores dosagens e por uma duração maior de tempo, como acima de 02 horas, onde o sêmen começa a perder drasticamente a sua qualidade.

Essa redução na qualidade do sêmen, apesar do óleo essencial do pequi ser considerado um agente antioxidante que deveria proteger as células contra os efeitos das EROs, talvez possa ser justificada pelos elementos químicos totais que compõe o óleo essencial. Esses elementos foram identificados por análise de cromatografia e os resultados estão apresentados na tabela 2.

Nos resultados das análises dos componentes químicos do óleo essencial do pequi, foram encontrados diversos elementos, com destaque para os ésteres e os terpenos. KINDELAN et al (2023) em seus estudos em ratos utilizando polpa de pequi, constatou que o consumo da mesma por ratas no início da fase de vida, fez com que seus filhotes tivessem uma redução na peroxidação lipídica cerebral, demonstrando o efeito antioxidante nas células vivas.

MUILU-MÄKELÄ et al (2022), em sua pesquisa sobre a utilização de terpenos de madeira macia como antioxidantes para cultura de células epiteliais da córnea humana, chegou à conclusão que os monoterpenos utilizados na pesquisa não protegeram as células do epitélio corneal contra o estresse oxidativo, com exceção do α-pineno que apresentou alguma resposta protetora.

Mesmo que os componentes ésteres do pequi contenham atividade antioxidantes, ZHANG et al (2021) afirma que a capacidade de prevenção da peroxidação lipídica pode ser insuficiente para proteger contra efeitos deletérios mais aprofundados como a fragmentação do DNA espermático, causa essa, que pode ocasionar embriões que não avançam nos estágios de desenvolvimento, se tornando de baixa qualidade, mesmo em espermatozoides que contenham boa motilidade, mas que tiveram fragmentação de DNA.

De acordo com AGARWAL et al (2022), o processo de peroxidação lipídica leva a um comprometimento da fluidez e integridade da membrana celular, danificando as funções de receptores e proteínas de membranas, o que leva a uma perturbação da função celular, sendo desfavorável aos espermatozoides pois gera elevadas concentrações de ácidos graxos poli-insaturados, o que transfigura a membrana celular para susceptível à efeitos deletérios.

Os danos celulares provocados pela oxidação das membranas celulares podem deixar o DNA mitocondrial e celular suscetíveis. AGARWAL et al (2020) também afirma que esses efeitos podem ocasionar entrelaço de DNA-proteína, o que gera a possibilidade de alterações nas bases nitrogenadas e quebras de fita simples e dupla, promovendo a probabilidade de quebras cromossômicas, mutações e instabilidade genômica.

NASCIMENTO et al (2017) em sua pesquisa sobre a capacidade antioxidante em polpas de pequi preservadas por liofilização em embalagem resistente a luz, observou que a

capacidade de antioxidação da polpa reduziu no período de 180 dias de armazenamento ao qual foi submetida, o que leva a crer que o tempo pode reduzir o poder antioxidativo do óleo essencial do pequi.

CONCLUSÃO

O óleo essencial do pequi, apresentou níveis insatisfatórios de mortalidade espermática. Os tratamentos iniciais de 25µ, 50µ e 100µ apresentaram os piores resultados, com a mortalidade dos espermatozoides, onde os resultados apresentados pelos tratamentos 2µ, 5µ e 10µ foram ligeiramente superiores, resistindo por um curto tempo em níveis aceitáveis, porém não sobrevivendo à medida que o tempo aumentava, morrendo todos após três horas. O tratamento com 2µ se sobressaiu em relação aos demais, entretanto não sobreviveu ao resfriamento, demostrando que de maneira geral o óleo essencial do pequi não apresentou uma compatibilidade aceitável na criopreservação de sêmen bovino. Porém estudos mais aprofundados ainda podem ser realizados para decifrar o que causa essa mortalidade, para que uma futura correção possa ser feita e o produto talvez se torne uma fonte nova e ecológica de antioxidante crioprotetor.

REFERÊNCIAS

ABUD, C. O. G.; ABUD, L. J.; NETO, J. C. O.; DODE, M. A. N.; SERENO, J. R. B.; MARTINS, C. F. Comparação entre os sistemas automatizado e convencional de criopreservação de sêmen bovino. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, p. 32-37, 2014.

AGARWAL, A.; MAJZOUB, A.; BASKARAN, S.; SELVAM, M. K. P.; CHO, C. L.; HENKEL, R.; FINELLI, R.; LEISEGANG, K.; SENGUPTA, P.; BARBAROSIE, C. Sperm DNA Fragmentation: a new guideline for clinicians. **The World Journal of Men'S Health**, v. 38, n. 4, p. 412, 2020.

AGARWAL, A.; PRABAKARAN, S. A.; SAID, T. M. Prevention of oxidative stress injury to sperm. **Journal of Andrology**, v.26, n.6, p.654-660, 2005.

AGARWAL, A.; ROSAS, I. M.; ANAGNOSTOPOULOU, C.; CANNARELLA, R.; BOITRELLE, F.; MUNOZ, L. V.; FINELLI, R.; DURAIRAJANAYAGAM, D.; HENKEL, R.; SALEH, R. Oxidative Stress and Assisted Reproduction: a comprehensive review of its pathophysiological role and strategies for optimizing embryo culture environment. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 477, 2022.

AGARWAL A, SAID T. M. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. **BJU Int**. 2005; 95:503-7.

ANDREYEV A. Y, KUSHNAREVA Y. E, STARKOV A. A. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. **Biochemistry**. 2005; 70:200-14.

ANSARI, M. S. RAKHA, B. A. EJAZ, R. ULAH, N. AKHTER, S. Melatonin supplementation in extender enhances the post thaw quality of buffalo bull spermatozoa. **Pakistan Journal of Zoology**, v. 49, n. 1, p. 163-163, 2017.

BALL, B. A. Oxidative stress, osmotic stress and apoptosis: impacts on sperm function and preservation in the horse. **Animal Reproduction Science**, v.107, n.3, p.257-267, 2008.

BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. **Embrapa Pecuária Sudeste. Circular técnica**, v. 41, 2005.

BARTH, A. D.; OKO, R. J. Abnormal morphology of bovine spermatozoa. Ames: **Iowa State University Press**, 1989, 285p.

BEZERRA, N.K.M.S.; BARROS, T.L.; COELHO, N.P.M.F. A ação de pequi (Caryocar brasiliense) no processo cicatricial de lesões cutâneas em ratos. **Rev. Bras. Pi. Med**., v. 17, n.4, p.875- 880, 2015.

BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12, n. 2, p. 123–130, maio 1999.

BOKOV, A; CHAUDHURI. A; RICHARDSON. A. The role of oxidative damage and stress in aging. **Mechanisms of Ageing and Development**, San Antonio, v.125, n.2, p.811-826, jul./sep. 2004.

BUCKLEY D. J, MORRISSEY P. A, GRAY J. I. Influence of dietary vitamin E on the oxidative stability and quality of pig meat. **J Anim Sci**. 1995; 73(10): 3122-30.

CARVALHO, L.S.; PEREIRA, K.F.; ARAÚJO, E.G. Características botânicas, efeitos terapêuticos e princípios ativos presentes no pequi (Caryocar brasiliense). **Arq. Ciênc. Saúde UNIPAR**, v.19, n.2, p.147-157, 2015.

CHOI, Y. J., SIM, W. C., CHOI, H. K., LEE, S. H., & LEE, B. H. α-Terpineol induces fatty liver in mice mediated by the AMP-activated kinase and sterol response element binding protein pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 129-136, 2013.

COSTA, B. B; STREIT JR, D. P. Estresse oxidativo e antioxidantes no de sêmen de peixes. **Ciência Animal**, v. 29, n. 2, p. 93-109, 2019.

CROCOMO, L. F; FILHO W. C. M; ALVARENGA, F. C. L; BICUDO, S. D. Produção de embriões in vitro: estresse oxidativo e antioxidantes. **Veterinária e zootecnia**, p. 470-479, 2012.

DONNELLY, E.T; MCCLURE, N; LEWIS, S. E. M. Antioxidant supplementation in vitro does not improve human sperm motility. **Fertil. Steril**., 72(3): 484- 95, 1999.

FERREIRA A. L. A, MATSUBARA L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **RAMB**. 1997; 43(1):61-8.

GARTNER, L. P. Tratado de histologia em núcleos. **Elsevier Brasil**, 2007. p.495-516.

GOMES, L. L., NETO, A. P. A., MEDEIROS, F. L. S., SANTANA, M. T. P., SANTOS, T. A., OLIVEIRA, H. M. B. F., FILHO, A. A.O. Análise in silico da toxicidade do monoterpeno eucaliptol. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 5, p. e158953092-e158953092, 2020.

HAFEZ, E. S. E.; GARNER, D. L. Espermatozoide e plasma seminal. In: HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1995. p. 167-190.

HALLIWELL, B; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in Biology and Medicine. **Oxford: Clarendon Press**, 1989, 543 p.

HOLT, W. V. Basic aspects of frozen storage of semen. **AnimReprodSc**i, v.62, p.3-22, 2000.

KHALEEL, C.; TABANCA, N.; BUCHBAUER, G. α-Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties. **Open Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 349-361, 2018.

KINDELAN, S. D. C. S.; QUEIROZ, M. P.; BARBOSA, M. Q.; VIEIRA, V. B.; GUERRA, G. C.; ARAUJO, D. F. S.; SANTOS, J. J.; OLIVEIRA, M. L. A.; MELO, P. C. M. F.; FREITAS, J. C. R.; DUTRA, L. M. G.; MELO, M. F. F. T.; SOARES, J. K. B. Maternal rat prenatal and neonatal treatment with pequi pulp reduces anxiety and lipid peroxidation in brain tissue of rat offspring at adolescence. **Heliyon**, v. 9, n. 9, 2023.

KUMMER, R. Efeitos do p-cimeno e do alfa-pineno sobre a resposta inflamatória aguda. **Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações**. 2015.

LIMA, A; SILVA, A.M.O; TRINDADE, R.A; TORRES, R.P; MANCINI-FILHO, J. Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (Caryocar brasiliense, Camb.). **Revista Brasileira de Fruticutura**. 2007; 29(3): 695-698.

LUZ, H. K. M; WANDERLEY, L. S; FAUSTINO, L. R; SILVA, C. M. G; FIGUEIREDO, J. R; RODRIGUES, A. P. R. Papel de agentes antioxidantes na criopreservação de células germinativas e embriões. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 2, p. 1-13, 2011.

MORRELL J. M, MAYER I. Reproduction biotechnologies in germplasm banking of livestock species: a review. **Zygote**.25(5):545-557, 2017.

MUILU-MÄKELÄ, R.; AAPOLA, U.; TIENAHO, J.; UUSITALO, H.; SARJALA, T. Antibacterial and oxidative stress-protective effects of five monoterpenes from softwood. **Molecules**, v. 27, n. 12, p. 3891, 2022.

MURRY, J. 7° Ed. **Química Orgânica** - Combo. São Paulo: Cengage Learning, 2011. 1344 p.

MUT-SALUD N., ÁLVAREZ P.J., GARRIDO J.M., CARRASCO E., ARÁNEGA A., RODRÍGUEZ-SERRANO F. Antioxidant Intake and Antitumor Therapy: Toward Nutritional Recommendations for Optimal Results. **Oxid. Med. Cell. Longev**. 2016.

NASCIMENTO, N. R. R; ALVES A. M; SILVA M. R; NAVES M; VELOSO M. Liofilização e embalagens protegidas da luz preservam a capacidade antioxidante da polpa de pequi (Caryocar brasiliense camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, 2017.

NELSON D. L,Cox M. M. Lehninger princípios da bioquímica. 6a ed. Porto alegre: **Artmed**; 2014.

NORDBERG, J.; ARNÉR, E.S.J. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n.11, p.1287-1312, 2001.

OLIVEIRA, W. L. SCARIOT, A. Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do pequi. Brasília: **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 2010.

OROIAN M, ESCRICHE I. Antioxidants: characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Res Int**, v.74, p.10-36, 2015.

ROCA, J.; GIL, M.A.; HERNANDEZ, M.; PARRILLA, I.; VAZQUEZ, J.M.; MARTINEZ, E.A. Survival and fertility of boar spermatozoa after freeze-thawing in extender supplemented with butylated hydroxytoluene. **Journal of Andrology**, v.25, n.3, p.397-405, 2004.

ROSIN, M. R; OLIVEIRA, W; MOTA, M. F; CATTELAM, J; NETO, A. P. viabilidade in vitro do sêmen bovino congelado com diferentes antioxidantes no crioprotetor. **jornada de iniciação científica e tecnológica**, v. 1, n. 10, 2020.

SANTOS, B. O., MIRANDA, N. D., FREITAS, L. G., SILVA, M. R., MELO, J. O. F., TAKAHASHI, J. A., ARAÚJO, R. L. B. Potencial antioxidante de farinhas de resíduos de pequi (Caryocar brasiliense Camb.). In: **Congresso Latino Americano de Analistas de Alimentos**. Universidade Federal de Minas Gerais, 2019.

SCHNEIDER C. D, OLIVEIRA A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **RBME**. 2004; 10(10):308-13.

SHAMI, N. J. I. E. e MOREIRA, E. A. M. licopeno como agente antioxidante. **Revista Nutrição**. Campinas, Vol.17, n°2, p.227-236, abr/jun. 2004.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, β-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SIKKA, S.C. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. **Frontiers Bioscience**, v.1, p.78-86, 1996.

SIKKA, S.C. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. **Curr Med Chem**. 2001; 8:851-62.

SILVA, J. C. B.; NOGUEIRA, E.; SILVA, M. R. et al. Processamento de sêmen bovino refrigerado. **Comunicado Técnico, 108**. 2017.

SOARES, N.R. Avaliação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química de sabonete líquido à base de óleo de baru, buriti e pequi. Goiania: **UFG**, 2014.

SOTO-HERAS, S.; PARAMIO, M. Impact of oxidative stress on oocyte competence for in vitro embryo production programs. **Research In Veterinary Science**, v. 132, p. 342-350, 2020.

SOUSA, B. N. Composição química do óleo essencial de pequi (caryocar brasiliense cambess) e atividade nematicida no controle de Meloidogyne javanica. **Repositório IF Goiano**. 2020.

SOUSA, B. N.; MARTINS, C. M. Identificação dos compostos químicos do óleo essencial do pequi do cerrado. **Semana de Educação, Ciência e Tecnologia - SECITEC**, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – Câmpus Itumbiara, 2019.

SOVOVÁ, H.; ALEKSOVSKI, S.A. Mathematical model for hydrodistillation of essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 21, p.881-889, 2006

SUN, J. D-limonene: Safety and clinical applications. **Alternative Medicine Review**, 12(3), 259– 264. 2007

TURRENS J. F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. **J Physiol**. 2003; 552:335-44.

VENDITTI, P; DI STEFANO L; DI MEO, S. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. **Mitochondrion**. 2013; 13:71.

VIANA, N. R. **D-limoneno e seus efeitos no diabetes mellitus**. 2022. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Piauí.

Watson, P.F. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Anim Reprod Sci**, 60. 2000. 481-492.

ZHANG, B.; WANG, Y.; WU1, C.; QIU, S.; CHEN, X.; CAI, B.; XIE, H. Freeze-thawing impairs the motility, plasma membrane integrity and mitochondria function of boar spermatozoa through generating excessive ROS. BMC. **Veterinary Research**. 2021;17;127: 1-9.

ZHAO, C.; SUN, J.; FANG, C.; TANG, F. 1,8-cineol attenuates LPS-induced acute pulmonary inflammation in ice. **Inflamation**. Vol.37 n.2 201.