

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos

Marinez Marçal Martins

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS
EM PANC: AZEDINHA (*Rumex acetosa* L), CAPUCHINHA (*Tropaeolum majus*) E
PEIXINHO (*Stachys byzantina* k. Koch).**

Belo Horizonte

2024

Marinez Marçal Martins

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS
EM PANC: AZEDINHA (*Rumex acetosa* L), CAPUCHINHA (*Tropaeolum majus*) E
PEIXINHO (*Stachys byzantina* k. Koch).**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo

Coorientadoras: Dra. Renata Adriana Labanca e Dra. Marinalva Woods Pedrosa

Belo Horizonte

2024

Ficha Catalográfica

M379c Martins, Marinez Marçal.
Comparação de métodos de extração de compostos fenólicos em PANC [recurso eletrônico] : Azedinha (*Rumex acetosa* L), Capuchinha (*Tropaeolum majus*) e Peixinho (*Stachys byzantina* k. Koch) / Marinez Marçal Martins. – 2024.
1 recurso eletrônico (142 f. : il.) : pdf.

Orientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo.
Coorientadora: Renata Adriana Labanca.
Coorientadora: Marinalva Woods Pedrosa.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader.

1. Proteínas de vegetais comestíveis – Teses. 2. Compostos fenólicos – Teses. 3. Antioxidantes – Teses. 4. Extração (Química) – Teses. I. Araújo, Raquel Linhares Bello de. II. Labanca, Renata Adriana. III. Pedrosa, Marinalva Woods. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. V. Título.

CDD: 664.8



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM PANC: AZEDINHA (*RUMEX ACETOSA* L), CAPUCHINHA (*TROPAEOLUM MAJUS*) E PEIXINHO (*STACHYS BYZANTINA* K. KOCH)

MARINEZ MARÇAL MARTINS

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIA DE ALIMENTOS, área de concentração CIÊNCIA DE ALIMENTOS.

Aprovada em 19 de agosto de 2024, pela banca constituída pelos membros:

Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo (Orientadora e presidente da comissão) - UFMG

Profa. Dra. Renata Adriana Labanca (Coorientadora) - UFMG

Profa. Dra. Marinalva Woods Pedrosa (Coorientadora) - EPAMIG

Prof. Dr. Renan Campos Chisté - UFMG

Profa. Dra. Michely Capobiango - PUC/MG

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Renan Campos Chisté, Professor do Magistério Superior**, em 21/08/2024, às 10:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Raquel Linhares Bello de Araujo, Professora do Magistério Superior**, em 21/08/2024, às 13:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Michely Capobiango, Usuário Externo**, em 21/08/2024, às 18:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Marinalva Woods Pedrosa, Usuário Externo**, em 22/08/2024, às 08:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renata Adriana Labanca, Professora do Magistério Superior**, em 22/08/2024, às 14:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3464050** e o código CRC **D7C1D5B3**.

Dedicatória

Ao autor e consumidor da minha fé, Jesus Cristo.

Agradecimentos

Agradeço a Deus, pois em vários momentos desta minha caminhada, Ele me trouxe a memória “Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar” (Josué 1:9). Portanto, sou infinitamente grata “Porque dele, e por ele, e para ele são todas as coisas; glória, pois, a ele eternamente (Romanos, 11:36).

Aos meus amados filhos, Miguel, Maitê e Kael, agradeço a Deus pela dádiva que é ser a mãe de vocês. Agradeço pela compreensão, pelo amor, carinho e pela alegria que me proporcionam diariamente. Eu amo vocês!

Ao Bruno, meu marido, por todo o amor, paciência, incentivo e companheirismo. Sem o seu apoio, tudo seria mais difícil. Obrigada por tornar meus dias mais leves e tranquilos.

Aos meus pais, Jorge e Maristela, agradeço o amor incondicional, por nunca medirem esforços para me apoiar, vocês são os meus pilares. E ao meu irmão Glimber, agradeço pelo apoio e pela amizade.

A todos meus familiares, tios, tias, primos e primas, que sempre me incentivaram e torceram pelo meu sucesso.

À profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo, minha orientadora, sou grata por seus conselhos e ensinamentos. Agradeço também por sua amizade, pelas suas palavras de ânimo e encorajamento, por trazer a calma nos momentos difíceis e por acreditar que eu seria capaz. Você é um exemplo de sabedoria, humildade e generosidade. Muito obrigada por tudo.

Às minhas coorientadoras, profa. Dra. Renata Labanca e Dra. Marinalva Woods, agradeço por todo apoio nesta caminhada e por todos os ensinamentos. Vocês foram essenciais na realização deste trabalho e na minha formação acadêmica.

À minha querida amiga Nicolle, agradeço a sua amizade, suas orações e todo incentivo, por sempre acreditar que eu seria capaz.

À minha amiga Maju, mulher admirável, humilde e forte, obrigada por nossas conversas, pelas vezes que você ouviu meus desabafos e me encorajou.

À professora Dra. Maisa do Valle, agradeço pelos conhecimentos compartilhados, suas contribuições foram essenciais para a realização deste trabalho.

À Ana Coeli, agradeço por ter guiado meus primeiros passos dentro do laboratório e por toda ajuda. Obrigada.

À Ana Vieira e Nayana agradeço pela amizade, pela generosidade, pelo companheirismo e por toda ajuda. Vocês foram fantásticas.

Ao médico veterinário e epidemiologista, Dr. Ailton Costa, por todo auxílio na realização das análises estatísticas e por todo empenho em sanar minhas dúvidas.

Aos meus alunos de iniciação científica Leonardo, Vinícius e Otávio, que foram fundamentais na realização deste trabalho. Muito obrigada pela dedicação, comprometimento e apoio.

Aos meus colegas do laboratório Kemilly, Daniela, Vinicius, Lara e Bruna, muito obrigada pela companhia ao longo desta caminhada.

Aos técnicos da Faculdade de Farmácia da UFMG, em especial ao Dhionne, Gabriel, Ludmila, Elaine, Ronália, Olavo e Sumaia, muito obrigada por todo suporte.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia da UFMG, em especial a Edna e Rafael Oliveira, pelo apoio e profissionalismo.

Aos professores Christian Fernandes, Maria José Nunes de Paiva, Rachel Oliveira Castilho, Verônica Ortiz Alvarenga e Camila Argenta Fante pela disponibilização de equipamentos.

Aos demais professores do Departamento de Alimentos e do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, por todos os ensinamentos compartilhados.

A EPAMIG, por ter disponibilizado as amostras de PANC, fazendo com que esse projeto fosse possível.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições, de forma a enriquecer este trabalho.

Obrigada a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho!

“Meu filho, se você aceitar as minhas palavras e guardar no coração os meus mandamentos; se der ouvidos à sabedoria e inclinar o coração para o discernimento; se clamar por entendimento e por discernimento gritar bem alto, se procurar a sabedoria como se procura a prata e buscá-la como quem busca um tesouro escondido, então você entenderá o que é temer ao Senhor e achará o conhecimento de Deus”.

Provérbios 2,1-5.

RESUMO

As Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANC) são uma fonte promissora de nutrientes, cujo consumo tem sido incentivado devido à possibilidade de agregar valor à alimentação. Dentre estas, Azedinha (*Rumex acetosa* L), Capuchinha (*Tropaeolum majus*) e Peixinho (*Stachys byzantina* k. Koch), possuem potencial antioxidante associado à presença dos compostos fenólicos, porém, o conhecimento acerca do perfil fenólico e da capacidade antioxidante destas PANC ainda é limitado. Assim, para a adequada identificação e posterior quantificação dos compostos fenólicos, diversos métodos extrativos têm sido propostos, sendo que estes podem ser influenciados por vários parâmetros, tais como tipo de solvente, aplicação ou não de calor, e a presença ou não de agitação. Nesta conjuntura, tornou-se relevante investigar diferentes métodos de extração dos compostos fenólicos objetivando a máxima identificação e a quantificação desses, a fim de otimizar as análises laboratoriais. Posto isso, foram comparados dez diferentes métodos de extração para a obtenção de extratos contendo compostos fenólicos e outras substâncias com atividades antioxidantes nas amostras de *Rumex acetosa* L, *Tropaeolum majus* e *Stachys byzantina* K. Koch. Os extratos obtidos foram submetidos às análises de compostos fenólicos totais, análise de capacidade antioxidante e o perfil de fenólicos foi obtido por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC) com detector de arranjo de diodos. No geral, observou-se que o emprego do metanol nos processos de extração favoreceu a obtenção dos melhores resultados para as análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante. Verificou-se ainda que as condições empregadas nos dez métodos em relação aos tipos de solventes, uso de tratamento físico e/ou térmico influenciaram na obtenção de diferentes compostos fenólicos. As análises por UPLC, demonstraram que todos os extratos continham ácidos fenólicos e flavonoides, sendo as maiores concentrações encontradas nos extratos com metanol e acetonitrila, enquanto os extratos que continham etanol e acetona, apresentaram resultados inferiores para ácidos fenólicos e flavonoides. O ácido clorogênico destacou-se como o ácido fenólico majoritariamente quantificado nas três amostras analisadas, em todos os extratos obtidos, independente dos dez métodos testados. Enquanto a rutina foi extraída em maior quantidade, em todos os métodos empregados, apenas para as amostras de *Rumex acetosa* L. Por fim, os resultados apresentados demonstram o potencial antioxidante de compostos bioativos da *Rumex acetosa* L, *Tropaeolum majus* e *Stachys byzantina* K. Koch e a necessidade da realização de mais estudos que determinem a composição fenólica e o potencial de diferentes PANC e assim revelar os atributos funcionais destas incentivando ainda mais a sua inserção na alimentação da população e consequente valorização econômica.

Palavras-chave: Plantas Alimentícias Não-Convencionais; Compostos Fenólicos; Capacidade Antioxidante; Métodos de Extração.

ABSTRACT

Non-Conventional Food Plants (PANC) are a promising source of nutrients, whose consumption has been encouraged due to the possibility of adding value to food. Among these, *Rumex acetosa* L, *Tropaeolum majus* and *Stachys byzantina* k. Koch, have antioxidant potential associated with the presence of phenolic compounds, however, the knowledge about the phenolic profile and antioxidant capacity of these PANC is still limited. Thus, for the proper identification and subsequent quantification of phenolic compounds, several extractive methods have been proposed, which can be influenced by several parameters, such as type of solvent, application or not of heat, and the presence or absence of agitation. In this context, it became relevant to investigate different methods of extraction of phenolic compounds aiming at the maximum identification and quantification of these, in order to optimize laboratory analyses. Therefore, ten different extraction methods were compared to obtain extracts containing phenolic compounds and other substances with antioxidant activities in the samples of *Rumex acetosa* L, *Tropaeolum majus* and *Stachys byzantina* K. Koch. The extracts obtained were submitted to analysis of total phenolic compounds, analysis of antioxidant capacity and the phenolic profile was obtained by Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) with diode array detector. In general, it was observed that the use of methanol in the extraction processes favored the achievement of the best results for the analysis of total phenolic compounds and antioxidant capacity. It was also verified that the conditions employed in the ten methods in relation to the types of solvents, use of physical and/or thermal treatment influenced the obtaining of different phenolic compounds. The UPLC analyses showed that all extracts contained phenolic acids and flavonoids, with the highest concentrations found in extracts with methanol and acetonitrile, while extracts containing ethanol and acetone showed lower results for phenolic acids and flavonoids. Chlorogenic acid stood out as the phenolic acid mostly quantified in the three samples analyzed, in all extracts obtained, regardless of the ten methods tested. While rutin was extracted in greater quantity, in all methods employed, only for the samples of *Rumex acetosa* L. Finally, the results presented demonstrate the antioxidant potential of bioactive compounds of *Rumex acetosa* L, *Tropaeolum majus* and *Stachys byzantina* K. Koch and the need to carry out more studies to determine the phenolic composition and potential of different PANC and thus reveal their functional attributes, further encouraging their insertion in the population's diet and consequent economic valorization

Keywords: Non-Conventional Food Plants; Phenolic Compounds; Extraction Antioxidant Capacity; Methods.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Azedinha (<i>Rumex acetosa</i> L.)	26
Figura 2. Capuchinha (<i>Tropaeolum majus</i> L.)	27
Figura 3. Peixinho (<i>Stachys byzantina</i> K. Koch)	29
Figura 4. Representação esquemática da biossíntese de fenólicos nos vegetais.....	31
Quadro 1. Classificação dos compostos fenólicos em plantas.....	32
Figura 5. Estrutura das substâncias pertencentes à classe dos ácidos hidroxibenzoicos.....	34
Figura 6. Estrutura do ácido clorogênico formado da associação dos ácidos caféico e quínico.....	35
Figura 7. Estrutura genérica dos flavonoides.....	35
Figura 8. Estrutura das principais substâncias pertencentes à classe dos flavonóis.....	36
Figura 9. Estrutura das principais substâncias pertencentes à classe das flavonas.....	37
Figura 10. Estrutura das principais substâncias pertencentes à classe dos flavonóis.....	37
Figura 11. Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	41
Figura 12. Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	44
Figura 13. Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio.....	45
Figura 14. Redução do complexo Fe ³⁺ /tripiridiltriazina - TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil) - 1,3,5-triazina) a Fe ²⁺	46
Figura 15. Folhas de azedinha (A), capuchinha (B) e peixinho (C) trituradas.....	51
Figura 16. Correlação entre compostos fenólicos totais e ABTS•+.....	77
Figura 17. Correlação entre compostos fenólicos totais e DPPH.....	78
Figura 18. Correlação entre compostos fenólicos totais e FRAP.....	78
Figura 19. Cromatograma (A) – Curva de calibração padrão (Método A)	81
Figura 20. Cromatograma (B) – Curva de calibração padrão (Método B)	82
Figura 21. Cromatograma do perfil de compostos fenólicos referente ao método A (271nm)	83

Figura 22. Cromatograma do perfil de compostos fenólicos referente ao método B (277nm).	84
Figura 23. Gráfico de PCA de ácidos fenólicos e flavonoides nos extratos de <i>Rumex acetosa</i> L.....	100
Figura 24 - Gráfico de PCA de ácidos fenólicos e flavonoides nos extratos de <i>Tropaeolum majus</i>	101
Figura 25– Gráfico de PCA de ácidos fenólicos e flavonoides nos extratos de <i>Starchys byzantina</i>	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) selecionadas para a realização das análises.....	50
Tabela 2. Relação de adaptações realizadas nos métodos de extração de compostos fenólicos.....	52
Tabela 3. Condições experimentais para extração de compostos fenólicos totais em PANC azedinha, capuchinha e peixinho.....	54
Tabela 4. Volume de extratos purificados e de solução de acetona a 70% utilizados nas diluições para Análise de Compostos Fenólicos Totais.....	55
Tabela 5. Volume de extrato bruto e de álcool etílico utilizados nas diluições para Análise de Atividade Antioxidante – ABTS.....	58
Tabela 6. Volume de extrato bruto e de álcool metílico utilizados nas diluições para Análise de Atividade Antioxidante – DPPH.....	60
Tabela 7. Volume de extrato bruto e de água destilada utilizados nas diluições para Análise de Atividade Antioxidante – FRAP.....	63
Tabela 8. Volume de extrato e álcool metílico utilizados nas diluições para análise de compostos fenólicos totais por cromatografia.....	66
Tabela 9. Volumes das diluições das concentrações da curva de calibração A.....	68
Tabela 10. Volumes das diluições das concentrações da curva de calibração B.....	68
Tabela 11. Gradiente de eluição do método de análise de compostos fenólicos pelo método A.....	70
Tabela 12. Gradiente de eluição do método de análise de compostos fenólicos pelo método B.....	70
Tabela 13. Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC).....	72
Tabela 14. Curva de calibração de padrões (Método A) de compostos fenólicos usados na quantificação dos compostos presentes nos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho.....	80
Tabela 15. Curva de calibração de padrões (Método B) de compostos fenólicos usados na quantificação dos compostos presentes nos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho.....	81
Tabela 16. Perfil de compostos fenólicos de Plantas Alimentícias Não Convencionais por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC).....	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% porcentagem

ABS – Absorbância

ABTS - -2,20-azino-bis ácido 3-ethylbenzthiazoline-6-sulfônico

ANOVA – Análise de variância

AOAC – Association of Official Analytical Chemists

APH - Alta pressão hidrostática

C – Carbono

CFT – Compostos Fenólicos Totais

cm – centímetro

DAD - Detector de arranjo de diodos

DPPH – 1,1-difenil-2-picrilidrazil

EPAMIG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais

FAFAR/UFMG – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais

FRAP – Capacidade de redução do íon férrico (do inglês, *Ferric Reducing Antioxidant power*)

fMLP – Metionil – Leucil - Fenilalanina

GAE – Ácido gálico equivalente

GLP-1 - Peptídeo semelhante a glucagon 1

H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

kHz - kilohertz

L – Litro

m - Metros

mg – Miligramas

min – minutos

mm - Milímetro

mL – Mililitro

mM – Massa molar

ND – Não determinado

nm – Nanômetros

nº - número

°C – Graus Celsius

p/v – Peso por volume

PANC – Plantas Alimentícias Não Convencionais

PCA – Análise de componentes principais

pH - Potencial hidrogeniônico

pKa – Constante de acidez

PMA – Acetato de forbol miristato

PVDF - Fluoreto de Polivinilideno

Ra - *Rumex acetosa* L.

Rpm – Rotação por minuto

Sb - *Sthachys byzantina* K. Koch

SisGen - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

Tm - *Tropaeolum majus* L.

TPTZ - (2,4,6-Tri(2-piridil)1,3,5-triazina)

T_R – Tempo de retenção

TROLOX - Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetra-metilcromo-2-carboxílico

UPLC – Cromatografia Líquida de Ultra eficiência

US - Ultrassom

UV-vis – Ultra-violeta visível

v/v – Volume por volume

x g – Força G

μL – Microlitro

μm – Micrometro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	20
2 OBJETIVOS.....	23
2.1 Objetivo geral.....	23
2.2 Objetivos específicos.....	23
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1 Plantas Alimentícias Não Convencionais.....	24
3.2 Azedinha (<i>Rumex acetosa</i> L.)	26
3.3 Capuchinha (<i>Tropaeolum majus</i> L)	27
3.4 Peixinho (<i>Stachys byzantina</i> K. Koch)	28
3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	29
3.5.1 Compostos fenólicos.....	30
3.5.1.1 Ácidos fenólicos.....	33
3.5.1.1.1 Ácidos hidroxibenzóicos.....	34
3.5.1.1.2 Ácidos hidroxicinâmicos.....	35
3.5.1.2 Flavonóides.....	35
3.5.1.2.1 Flavonóis.....	36
3.5.1.2.2 Flavonas.....	36
3.5.1.2.3 Flavanois.....	37
3.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM ALIMENTOS.....	38
3.6.1 Preparo da amostra.....	38
3.6.2 Métodos de extração.....	38
3.7 MÉTODOS DE ANÁLISE.....	41
3.7.1 Determinação de compostos fenólicos totais – Método de Folin-ciocalteau	41
3.7.2 Avaliação da capacidade antioxidante.....	42
3.7.2.1 Capacidade antioxidante pelo Método do ABTS. +.....	43
3.7.2.2 Capacidade sequestrante do radical 2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazil (DPPH)	44
3.7.2.3 Capacidade antioxidante total pelo Método de redução do ferro – FRAP.....	45
3.7.3 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC).....	46
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	47

4.1 Material.....	48
4.1.1 Equipamentos.....	48
4.1.2 Reagentes.....	48
4.1.3 Padrões analíticos.....	49
4.2 MÉTODOS.....	50
4.2.1 Coleta e preparo das amostras.....	50
4.2.2 Determinação da umidade.....	51
4.2.3 Seleção dos métodos de extração.....	51
4.2.4 Obtenção dos extratos.....	53
4.2.5 Purificação do extrato para análise de compostos fenólicos totais.....	55
4.2.6 Compostos fenólicos totais.....	55
4.2.7 Capacidade antioxidante.....	57
4.2.7.1 Atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS *+.....	58
4.2.7.2 Capacidade antioxidante pela reação com o radical livre DPPH.....	60
4.2.7.3 Capacidade antioxidante pela reação de redução do ferro (FRAP).....	63
4.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA (UPLC).....	65
4.3.1 Obtenção dos extratos para análise por Cromatografia Líquida de Ultra eficiência – UPLC.....	65
4.3.2 Preparo de soluções estoque dos padrões de compostos fenólicos na concentração 100 µg/ml.....	67
4.3.3 Diluições da curva padrão de calibração.....	67
4.3.4 Preparo das fases móveis.....	69
4.3.5 Condições cromatográficas.....	69
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	70
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	71
5.1 TEOR DE UMIDADE.....	71
5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE.....	71
5.3 Correlação do teor de compostos fenólicos totais com diferentes métodos de atividade antioxidante.....	77
5.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS POR UPLC.....	79
5.5 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS OBTIDOS PELO DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	80
5.6 Análise de Componentes Principais (PCA)	99

6 CONCLUSÃO.....	103
SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS	104
REFERÊNCIAS	105

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade de plantas de todo o mundo (Polesi *et al.*, 2017). Seu território comporta a maior riqueza de espécies da flora e os maiores remanescentes de ecossistema tropical (Myers *et al.*, 2000). São mais de 50.000 espécies nativas de plantas, fungos e algas (Gomes *et al.*, 2023) sendo que aproximadamente um terço desta biodiversidade vegetal pode ser utilizada como alimento (Altieri, 2016). Estes dados evidenciam o potencial do Brasil para ter um dos sistemas alimentares mais biodiversos do mundo (Silva *et al.*, 2023), caracterizando como uma oportunidade para aumentar a segurança alimentar e nutricional hoje (Jacob; Araújo de Medeiros; Albuquerque, 2020).

Contudo, de acordo com Gomes *et al.* (2023), um ambiente rico em biodiversidade não resulta necessariamente em uma dieta diversa. No geral, a população desconhece o potencial alimentício da maioria das espécies nativas, não sabem dizer o nome, desconhecem a sua composição nutricional, para que servem e como podem ser preparadas ou consumidas (kinupp; Lorenzi, 2014), fazendo com que seu consumo diminua ou não ocorra (Almeida; Corrêa, 2012). Em diversas partes do mundo, estas plantas são negligenciadas por falta de informação, podendo ser consideradas mato (Kinupp, 2007) já que o conhecimento prático sobre plantas alimentícias está esvaecendo (Leal; Alves; Hanazaki, 2018a).

No contexto das espécies nativas, há um conjunto de plantas que merecem cada vez mais atenção. Trata-se das plantas alimentícias que possuem uma ou mais partes comestíveis, mas que por vários motivos não chegam ao prato, portanto, são denominadas Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) (Kinupp, 2007). As PANC são uma fonte promissora de nutrientes e por isso têm atraído o interesse pela possibilidade de diversificação da alimentação e pela valorização de diversos produtos derivados dessas plantas (kinupp; Lorenzi, 2014). Além disto, podem ser utilizadas para fins tecnológicos, como a obtenção de pigmentos, condimentos, aromas e aditivos naturais em alimentos (Galanakis *et al.*, 2018; Osorio-Tobón, 2020).

Dentre as espécies intituladas de PANC podemos citar a *Rumex acetosa* L., conhecida popularmente por azedinha devido seu sabor ácido avinagrado. Trata-se de uma erva da família Polygonaceae, cuja folhas são usadas em saladas cruas. São comuns em áreas de pastagem e ocasionalmente cultivadas em quintais no Brasil (kinupp;

Lorenzi, 2014). A azedinha apresenta um bom potencial de mercado e pode contribuir para o enriquecimento da dieta alimentar humana (Suedan *et al.*, 2021), visto seu elevado potencial nutricional e antioxidante ((Viana *et al.*, 2015). Já a *Tropaeolum majus* L., pertence à família Tropaeolaceae, de nome popular capuchinha, é uma PANC amplamente cultivada para fins ornamentais e que possui vasta utilização medicinal (Kinupp; Lorenzi, 2014), como antigripal, ansiolítico, infecções do trato urinário e respiratório(Negrelle; Prestes; Franzoi, 2016). Da mesma forma, a *Starchys byzantina* K.Koch, conhecida como peixinho-da-horta, tem o Brasil como seu maior consumidor (Kinupp; Lorenzi, 2014).

O potencial antioxidante destas plantas associa-se à presença de compostos bioativos como os compostos fenólicos (Manach *et al.*, 2004). Estes são os metabolitos secundários mais abundantes e que auxiliam em funções importantes na fisiologia das plantas (Granato *et al.*, 2016; Kolton *et al.*, 2022; Noreen *et al.*, 2017), além de possuírem propriedades biológicas, como ação anti-inflamatória, auxílio na redução do estresse oxidativo e podem até mesmo ajudar na prevenção de tumores (Cerdá-Bernad *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022; Radünz *et al.*, 2020; Villela-Castrejón; Antunes-Ricardo; Gutiérrez-Urbe, 2017). Porém, o conhecimento acerca do perfil de compostos fenólicos e da capacidade antioxidante das PANC ainda é limitado (Iqbal *et al.*, 2022), não havendo muitos estudos que demonstrem o perfil de compostos fenólicos destas espécies, sendo necessárias mais pesquisas que revelem suas propriedades funcionais e tecnológicas (Clemente-Villalba *et al.*, 2023).

Desta forma, para uma quantificação adequada e fidedigna dos compostos fenólicos, diversos métodos extrativos são rotineiramente usados para a obtenção de extratos. Os métodos de extração de compostos fenólicos são influenciados por vários parâmetros e uma avaliação preliminar é fundamental para selecionar as melhores condições analíticas (Haminiuk *et al.*, 2012a). Parâmetros tais como agitação, tempo de extração, proporção soluto/solvente, temperatura, eficiência de transferência de massa e tamanho das partículas devem ser considerados ao selecionar um método de extração (Haminiuk *et al.*, 2011; Hurtado-Fernández *et al.*, 2010; Luthria, 2008; Yang *et al.*, 2011).

Apesar de vários métodos já terem sido desenvolvidos, a extração e determinação simultânea de diferentes grupos de compostos fenólicos por uma única análise permanecem complexa (Fang *et al.*, 2015), visto que além dos compostos

fenólicos serem instáveis quimicamente, a atividade biológica pode ser alterada pelos parâmetros do processo de extração e por fatores externos, como a presença de oxigênio e luz (Fang *et al.*, 2015; Osorio-Tobón, 2020). Vale destacar que os métodos de extração podem impactar no rendimento ou na alteração de compostos com propriedades antioxidantes, interferindo na capacidade antioxidante dos extratos provenientes das amostras (Michiels *et al.*, 2012), por isso, uma extração e separação satisfatórias são essenciais para a análise qualitativa e quantitativa (Fang *et al.*, 2015).

Além de ser fundamental escolher o melhor método extrativo, é preciso selecionar a melhor solução extratora, e diversos fatores devem ser levados em consideração, tais como: a classe dos analitos de interesse e qual solução irá favorecer a melhor extração desses; a polaridade, tanto dos compostos quanto da solução extratora a ser utilizada (Dai; Mumper, 2010a).

Ressalta-se ainda que outros parâmetros podem influenciar a obtenção de compostos bioativos, como o tamanho das partículas, tempo e temperatura de extração (Justino *et al.*, 2022). A temperatura, por exemplo, deve ser controlada para preservar os compostos fenólicos durante a secagem da matriz da planta e a extração, visto que o aumento da temperatura se associa com a perda de compostos e sua atividade antioxidante (Zhang, G. *et al.*, 2020). Além disso, a combinação de diferentes parâmetros pode resultar em diferentes compostos fenólicos extraídos (Velázquez-Martínez *et al.*, 2022).

Neste contexto, torna-se relevante investigar diferentes métodos de extração dos compostos fenólicos em PANC para melhor detecção e quantificação desses, a fim de otimizar as análises laboratoriais e demonstrar o potencial funcional da azedinha, capuchinha e peixinho, e assim incentivar sua inserção na alimentação da população e consequente valorização econômica.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Comparar diferentes métodos de extração de compostos fenólicos em três diferentes PANC para identificação e quantificação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC): azedinha, capuchinha e peixinho.

2.2 Objetivo específicos

Realizar a extração dos compostos fenólicos das matrizes vegetais de *Rumex acetosa* L., *Tropaeolum majus* L e *Stachys byzantina* K. Koch;

Realizar análises quantitativas de compostos fenólicos totais por métodos espectrofotométricos nos extratos obtidos;

Avaliar a capacidade antioxidante dos extratos obtidos pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP;

Identificar e quantificar as substâncias fenólicas em cromatógrafo de ultra eficiência (UPLC) acoplado a detector de arranjo de diodos (DAD) a partir dos extratos obtidos;

Realizar uma análise multivariada por meio da análise de componentes principais (PCA) para obter uma visão geral do padrão dos dados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas Alimentícias Não Convencionais

As plantas alimentícias são conhecidas por possuírem uma ou mais partes que podem ser inseridas na alimentação humana. Raízes tuberosas, tubérculos, bulbos, rizomas, talos, folhas, brotos, flores, frutos e sementes, além das especiarias, substâncias condimentares e aromáticas se incluem neste conceito de plantas alimentícias (Kinupp, 2007).

Desde a era Paleolítica, as plantas têm sido utilizadas pelos humanos como fonte de nutrição, visto que a coleta de ramos, folhas, frutos e raízes já era uma atividade diária entre os povos daquele período (Barreira et al., 2015; Moura et al., 2021). Já no neolítico, iniciou-se o cultivo de plantas com a domesticação de espécies vegetais pelo homem primitivo. Mundialmente, existem cerca de 200 mil espécies de plantas, destas, aproximadamente 100 foram domesticadas e possuem importância econômica e social (Barbieri; Stumpf, 2008). Estas espécies domesticadas desempenham um papel crucial na economia global e na subsistência de diversas sociedades.

Atualmente, o sistema agroalimentar é visto como um modelo limitado no sentido de variedade de espécies (Martinelli; Cavalli, 2019). Em torno de 90% do alimento mundial é fornecido por aproximadamente 20 espécies de plantas, dentre as quais estão trigo, milho, cana-de-açúcar, aveia, feijão, soja, amendoim, coco, tâmara, maçã, tomate, batata-inglesa, entre outros (Kinupp; Lorenzi, 2014)

Neste cenário, o consumo de plantas alimentícias não convencionais pode ser uma estratégia para diversificar a alimentação, embora ainda possuam expressão econômica e social reduzidas (Barreira et al., 2015). As PANC figuram como uma boa alternativa para reduzir o consumo de alimentos de monocultura, além de contribuir com seu alto valor nutricional (Pires, 2020).

Plantas alimentícias não convencionais, conhecidas também por PANC, são plantas ou partes de plantas que geralmente não estão inseridas de forma ampla na alimentação humana. De modo geral, são mantidas em fundos de quintal para alimentação familiar, crescem de forma espontânea entre plantas convencionais ou em locais pouco atrativos como beiras de estradas, terrenos baldios, entre outros. Podem ser consideradas “pragas”, “matos” e ainda “nocivas”, sendo desprezadas, ao invés de acrescentadas na alimentação (Kinupp, 2007). No Brasil há aproximadamente

2000 espécies alimentícias não convencionais citadas, sendo as populações tradicionais, as principais consumidoras (Kinupp; Barros, 2008)

A maioria das PANC no Brasil não são cultivadas, mas crescem de maneira espontânea em área antropizadas e até mesmo em áreas naturais de florestas, cerrados e campos (Kinupp; Lorenzi, 2014). Resistentes a doenças e pragas, exigem menor emprego de agrotóxicos e fertilizantes, são adequadas para cultivos orgânicos (sem uso de produtos químicos sintéticos) ou ecológicos (práticas sustentáveis que preservem o meio ambiente) (Liberato; Lima; Silva, 2019; Sartori *et al.*, 2020a). De maneira geral, o cultivo doméstico destas espécies pode ser feito sem o preparo convencional do solo, mas com uso de resíduos orgânicos para melhorar a saúde do solo e aumentar a fertilidade (Kinupp; Lorenzi, 2014)

De acordo com Padilha (2021) apesar do aumento da produção de trabalhos com PANC, ainda há um cenário incipiente de pesquisas que evidencie suas características nutricionais, se considerar a quantidade de PANC existentes mundialmente. Desta forma, apesar de, na última décadas terem sido realizadas diversas pesquisas no intuito caracterizar os potenciais nutraceuticos das plantas cultivadas, incluindo as PANC, há ainda muito o que desvendar.

Posto isso, é essencial obter mais informações sobre presença de compostos tóxicos e antinutricionais, estudos sobre a biodisponibilidade de nutrientes, formas de uso, partes utilizadas, natureza química, dentre outras, com intuito de que seus benefícios sejam usufruídos com segurança (Jesus *et al.*, 2020). Alguns trabalhos têm demonstrado que variações climáticas e de condições de cultivo podem interferir no teor de compostos fenólicos de vários tipos de frutos e vegetais (Ado *et al.*, 2016; Labanca; Oliveira; Almingier, 2017).

Considerando a rica biodiversidade de plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil, destaca-se três espécies de plantas, a primeira é a azedinha, conhecida por seu sabor picante. A segunda planta é a capuchinha, apreciada por suas flores. Por último, mas não menos importante, temos o peixinho, que é valorizado por seu potencial culinário (Kinupp; Lorenzi, 2014a). Nas seções seguintes, vamos explorar cada uma dessas plantas em detalhes, discutindo suas características, benefícios e usos potenciais.

3.2 Azedinha (*Rumex acetosa* L.)

A *Rumex acetosa* L., conhecida popularmente por azedinha-da-horta, azeda-brava, azedinha, é uma herbácea perene, formada por touceiras com inúmeros propágulos e que pode atingir cerca de 20 cm de altura (Figura 1). Trata-se de uma planta rústica e de baixas exigências, como temperatura ótima para desenvolvimento entre 5 °C e 30 °C e solos drenados, aerados e com bom conteúdo de matéria orgânica (Kinupp; Lorenzi, 2014). É normalmente encontrada em estado silvestre em regiões de clima ameno da Europa e da Ásia e cultivada no Brasil em regiões que vão do Rio Grande do Sul a Minas Gerais (Madeira et al., 2013), já sendo encontrada em algumas feiras e mercado (Kinupp; Lorenzi, 2014).

Figura 1 - Azedinha (*Rumex acetosa* L.)



Fonte: Dra. Marinalva Pedrosa (2023)

A azedinha possui folhas grandes, de contorno oval, desprovidas de pelos e com lóbulos basais característicos. As folhas basais possuem pedúnculo alongado, ao passo que as folhas do caule quase não possuem pedúnculo. Apresenta ainda inflorescências em panículas terminais longas, com cor marrom avermelhada, com flores pequenas e discretas, além de frutos aquênio angulados. Cultivada há séculos, é bastante utilizada na culinária da Europa e Ásia, combinada com outras verduras e consumida cru ou cozida. Seu sabor ácido e picante característico é atribuído ao seu alto teor de ácido oxálico (Bello Et al., 2019; Kinupp, 2007; Korpelainen; Pietiläinen, 2020), uma substância que pode formar sais insolúveis com minerais (Franceschi; Nakata, 2005) e que pode estar associado a efeitos prejudiciais ao homem (Higashijima et al., 2019).

As folhas de azedinha podem compor preparações como molhos, sopas, sucos e purês; refogada e/ou cruas, na forma de saladas (Sartori et al., 2020b). Suas flores podem ser consumidas como verdura ou utilizadas na decoração, enquanto suas sementes podem ser moídas para fazer farinha e serem utilizadas no preparo de pães (Kinupp; Lorenzi, 2014).

Além disso, possui uma boa composição nutricional, contendo vitaminas e minerais importantes para a saúde humana (Bello et al., 2019), como ferro, magnésio e zinco (Minighin, 2023), além de aminoácidos essenciais e metabolitos secundários, como os polifenóis (Bello et al., 2019).

3.3 Capuchinha (*Tropaeolum majus* L)

A *Tropaeolum majus* L. é uma espécie nativa do Peru, México e regiões das América Central. No Brasil, popularmente conhecida como “capuchinha” é cultivada em hortas na região nordeste, especificamente no estado da Bahia e em todos os estados da região sudeste e sul (Lima, 2024). O termo *Tropaeolum*, vem do grego tropaion e significa tropa, fazendo referência à suposta forma de escudo das folhas, acompanhadas das flores, das quais o formato parecem com capacetes. A denominação capuchinha é graças a semelhança da folha que vista por trás lembra um capuz (Reis, 2006)(Figura 2).

Figura 2 – Folhas de Capuchinha (*Tropaeolum majus* L.)



Fonte: Dra. Marinalva Pedrosa (2023)

Facilmente adaptável a estresses abióticos, como oscilações de temperatura e solo com baixa fertilidade (Jakubczyk et al., 2018; Okoye et al., 2014), é uma planta de pequeno porte, herbácea, de ciclo semiperene, composta por ramos rasteiros e

retorcidos (Souza; Liberato; Teixeira, 2021). Suas folhas não apresentam pelos, são peltadas, ou seja, se ligam ao caule como um guarda-chuvas, e podem medir de 4,5 a 4,0 cm e chegar até 17,5 cm a 15,5 cm. O caule é tenro, arredondado, de cor verde clara e alcançam em torno de 1 cm de diâmetro e 5 m de comprimento (Zanetti et al., 2004). Suas flores são solitárias, longo-pedunculadas, e suas cores variam entre vermelhas, alaranjadas ou amarelas, tons diversos, que geram frutos verde-claros, divididos em partes arredondadas que se separam facilmente (Kinupp; Lorenzi, 2014).

A capuchinha apresenta um aspecto visual muito agradável, o que a caracteriza como uma planta ornamental, sendo sua flor uma das mais consumidas no Brasil (Dal'rio; Mateus; Seldin, 2022; Souza *et al.*, 2020). É uma hortaliça com bons teores de minerais, como o zinco (Botrel et al., 2020), além de possuir inúmeros benefícios a saúde graças aos seus compostos antioxidantes, que combatem doenças crônicas, contribuem na prevenção de degeneração muscular e de desordens imunológicas (Souza *et al.*, 2020). As flores, folhas e caules da capuchinha podem ser apreciadas em saladas, patês, cozidas ou refogadas. Já as sementes podem ser consumidas como conservas, enquanto as raízes podem ser usadas para o preparo de chá (Jakubczyk et al., 2018; Kinupp; Lorenzi, 2014). As folhas jovens e as flores têm sabor picante, devido à presença de compostos bioativos (Dal'rio; Mateus; Seldin, 2022).

3.4 Peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch)

A *Stachys byzantina* K. Koch, é popularmente conhecida por peixinho da horta ou lambari de folha. Trata-se de uma espécie nativa na Turquia, Ásia e Cáucaso, mas desenvolve-se bem em regiões de clima moderado, com temperatura entre 5 e 30 °C (Kinupp; Lorenzi, 2014). No Brasil, é cultivada em regiões de altitude superiores a 500 m nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, e na região Sul. Temperaturas acima dos 35 °C prejudicam seu crescimento, possuindo boa tolerância ao frio (Madeira et al., 2013) (Figura 3).

Figura 3. Peixinho (*Stachys byzantina* K. Koch)



Fonte: Dra. Marinalva Pedrosa (2023)

O peixinho é uma planta rústica, com poucas exigências e muito tolerante ao ataque de pragas e doenças. É uma herbácea perene, que pode chegar de 20 a 40 cm de altura e forma touceiras com vários propágulos. É totalmente revestida por denso indumento lanoso branco, suas folhas são simples, de 5 a 14 cm de comprimento e 2 a 3,5 cm de largura. Suas inflorescências são semelhantes a espigas densas, com flores róseas ou violetas, só ocorrem em regiões de altitude do Sul e Sudeste do Brasil (Kinupp; Lorenzi, 2014a; Rossato et al., 2012).

O peixinho é uma planta pouco conhecida como alimentícia em outros países, sendo o Brasil seu maior consumidor. Suas folhas podem ser consumidas em sucos, refogados, sopas, molhos, omeletes e recheios diversos. Quando empanadas e fritas, as folhas ficam crocantes, com textura e leve sabor de peixe frito (Kinupp; Lorenzi, 2014).

A *Stachys byzantina* apresenta boa quantidade de fibras, níveis intermediários de proteínas e quantidades consideráveis de lipídeos e carboidratos, além de possuírem minerais importantes (Silva et al., 2018), como potássio, cálcio, ferro, magnésio, manganês e zinco (Minighin, 2023). Suas folhas são destaque ainda pelo seu expressivo efeito antioxidante e antimicrobiano (Azevedo, 2018).

3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS

Conhecidos como nutrientes e/ou não nutrientes com ação fisiológica ou metabólica específicas, os compostos bioativos atuam como antioxidantes, ativando enzimas, bloqueando a ação de toxinas virais ou antibacterianas, interferindo na

absorção de colesterol, reduzindo a agregação plaquetária ou combatendo bactérias gastrointestinais danosas (Queiroz, 2012).

Nas plantas, trata-se de compostos naturalmente produzidos como metabólitos secundários associados ao sistema de defesa das plantas contra radiação, injúrias de insetos e demais microrganismos (Khurana et al., 2013). Possuem estruturas químicas distintas e, por consequência, funções biológicas diferentes também. No entanto, possuem características em comum, como o fato de serem substâncias orgânicas e normalmente de baixo peso molecular, ademais não são sintetizados pelo organismo humano (Carratú; Sanzini, 2005).

Os vegetais apresentam uma vasta variedade de compostos bioativos, sendo que diversos estudos têm sido realizados com intuito de identificar e quantificar esses compostos. Dentre estes compostos, os polifenóis ou compostos fenólicos destacam-se devido sua importância nas características sensoriais (aparência, sabor e textura) das hortaliças (Santos, 2017).

3.5.1 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são caracterizados por possuírem uma estrutura básica com um anel aromático que possui um ou mais grupos hidroxila com estruturas que variam entre moléculas fenólicas simples, como os ácidos fenólicos, a complexos polímeros de elevada massa molecular, como os taninos (Dai; Mumper, 2010b; Haminiuk *et al.*, 2012b; Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013a). São os metabólitos secundários mais abundantes das plantas, com mais de 8.000 estruturas fenólicas conhecidas (DAI; MUMPER, 2010).

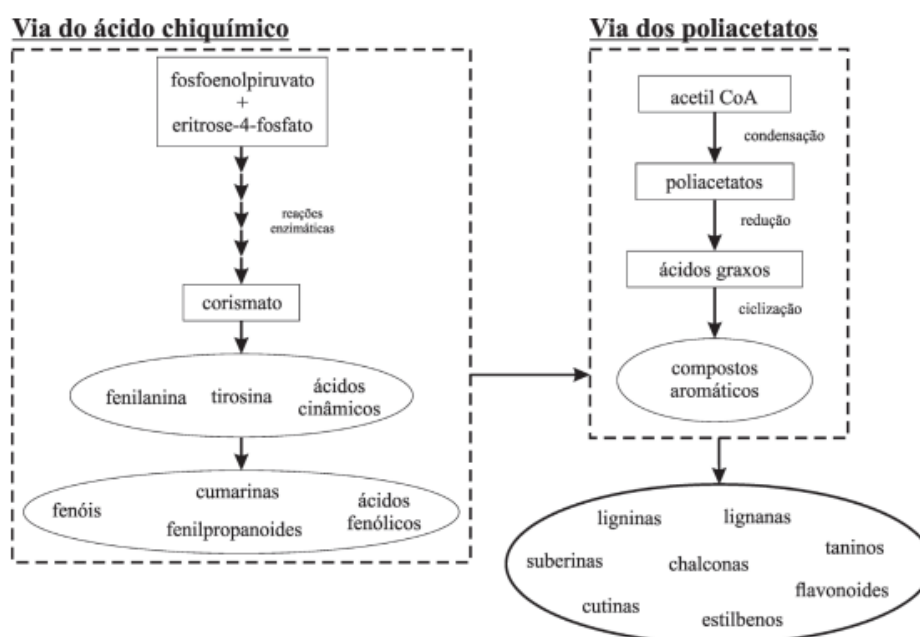
A síntese dos fenólicos ocorre a partir de um limitado número de precursores biossintéticos, especificamente: fosfenol piruvato, piruvato, acetato e alguns aminoácidos, acetil-CoA e malonil-CoA por intermédio de duas vias metabólicas principais: a via do ácido chiquímico e a via dos poliacetatos (Bravo, 2009; Robards et al., 1999; Ross; Kasum, 2002).

A via do ácido chiquímico, apresentada pela Figura 4, é responsável pela produção a maioria dos compostos fenólicos, obtendo como produto aminoácidos aromáticos, a tirosina e a fenilalanina, bem como os ácidos cinâmicos e seus derivados (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanas e derivados dos fenilpropanoides). Ocorrem nesta via uma sequência de reações enzimáticas que se inicia nos plastídios com a condensação de dois metabólitos fosforilados:

fosfoenolpiruvato, provenientes da glicólise e eritrose-4-fosfato, proveniente da via das pentoses (Croft, 1998; Quiñones; Miguel; Aleixandre, 2012; Ryan et al., 2002).

A via dos poliacetatos, conforme apresenta a Figura 4, se inicia a partir de uma molécula de acetilCoA e por meio de inúmeras reações de condensação são gerados. Com a redução destes se formam os ácidos graxos e pela ciclização se forma uma ampla variedade de compostos aromáticos, como as quinonas, enquanto outro metabólitos são gerados por rotas mistas (via do ácido chiquímico e via dos poliacetatos), como os flavonoides (Quiñones; Miguel; Aleixandre, 2012b). Na biogênese dos flavonoides, três moléculas de malonil-CoA se condensam a uma molécula de p-cumaril-CoA. Tal reação é catalisada pela chalcona sintase, produzindo a naringerina chalcona, precursora dos flavonoides. Quando a reação é catalisada pela estilbeno sintase ocorre a formação dos estilbenos (Garcia; Carril, 2009).

Figura 4 - Representação esquemática da biossíntese de fenólicos nos vegetais.



Fonte: (Pereira, 2014)

Os metabólitos produzidos por estas vias atuam em diversas funções relacionadas a defesa, reprodução, desenvolvimento e estrutura dos vegetais (Vogt, 2010), além de desenvolverem um importante papel nas propriedades sensoriais cor, aroma, sabor e adstringência (Tomás-Barberán; Espín, 2001).

A diversidade de estruturas de compostos fenólicos se relaciona com a várias propriedades que se correlacionam às suas funções específicas nas plantas, o que impacta em sua distribuição na natureza. Ao passo que alguns fenólicos são

intensamente presentes nos vegetais, outros são próprios de certas famílias, certos órgãos específicos ou em determinadas fases de desenvolvimento das plantas (Boudet, 2007; Cheynier, 2012).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em 10 classes de acordo o número de carbonos constituintes em conjunto com a estrutura básica do composto como mostrado abaixo no Quadro 1:

Quadro 1 – Classificação dos compostos fenólicos em plantas

Esqueleto Básico	Classe
C6	Fenólicos simples, benzoquinonas
C6-C1	Ácidos fenólicos
C6-C2	Ácidos fenilacéticos
C6-C3	Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropenos, cumarinas, cromonas
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antaraquinonas
C6-C3-C6	Chalconas, flavonoides
(C6-C3) n	Ligninas e lignanas
(C6-C3-C6) n	Polifenóis

Fonte: Angelo e Jorge (2007), Bravo (1998), Robards et al. (1999)

Os compostos fenólicos com estrutura C6 são extensivamente distribuídos dentre várias espécies vegetais, são exemplos timol, resorcinol e orcinol. Os compostos C6-C1 são representados pelos ácidos fenólicos como o gálico, vanílico, siringico e p-hidroxibenzoico. Já os compostos de estrutura C6-C2, tais como ácidos fenilacéticos e acetofenonas, são pouco descritos na literatura. O esqueleto C6-C3 é caracterizado por fenólicos de baixo peso molecular derivados de fenilpropanoide, são os ácidos hidroxicinâmicos (p-cumárico, caféico e ferúlico) e derivados (Carocho; Ferreira, 2013). Se enquadram também dentre os compostos C6-C3, os constituintes básicos das ligninas e as cumarinas (Shahidi; Naczk, 2006).

As ligninas são polímeros com estrutura (C6-C3) n com diversas ramificações. Os principais grupos são ligninas de madeira macias, de madeiras duras e ligninas de plantas herbáceas, sendo esta, o polímero mais abundante na natureza. As naftoquinonas (C6-C4) são representadas pelas julgonas, presentes nas nozes. Enquanto as xantonas (C6-C1-C6) estão basicamente em vegetais superiores. A estrutura C6-C2-C6 é representada pelos estilbenos, são vastamente distribuídos no

reino vegetal, sendo o resveratrol o mais importante desta família (Carocho; Ferreira, 2013).

As chalconas e os flavonoides representam os fenólicos com estrutura C6-C3-C6. As chalconas não possuem anel C heterocíclico, mas uma cadeia aberta com dois anéis aromáticos unidos por um sistema de carbonilas com três carbonos α - β insaturados. Elas ocorrem principalmente em flores, mas também em alguns órgãos vegetais (Naczki; Shahidi, 2004). Já os flavonoides são amplamente distribuídos nos vegetais e são apontados como o grupo mais importante dos fenólicos. Eles são sintetizados via condensação de fenilpropanoides (C6-C3) com a participação de três moléculas de malonil coenzima A, que leva a formação de chalconas que, posteriormente sofrem ciclização sob condições ácidas (Shahidi; Naczki, 2006; Valverde; Periago; Gaspar, 2000).

Grande parte destes compostos ocorre primordialmente na forma conjugada, associado com um ou mais resíduos de açúcar ligados ao grupo hidroxil (C3 ou C7) ou diretamente ligado ao carbono aromático (Rice-Evans; Miller; Paganga, 1996). Compostos como ácidos carboxílicos, aminas e lipídeos também são comuns nestas associações, assim como com outros fenólicos. Nos tecidos vegetais é possível observar fenólicos na forma livre, porém, é pouco comum, supostamente em função do potencial tóxico destas substâncias quando estão na forma livre (Bravo, 1998; Reis Giada, 2013).

3.5.1.1 Ácidos fenólicos

De acordo com Balasundram; Sundram; Samman, (2006), os ácidos fenólicos podem ser divididos em dois grupos de substâncias:

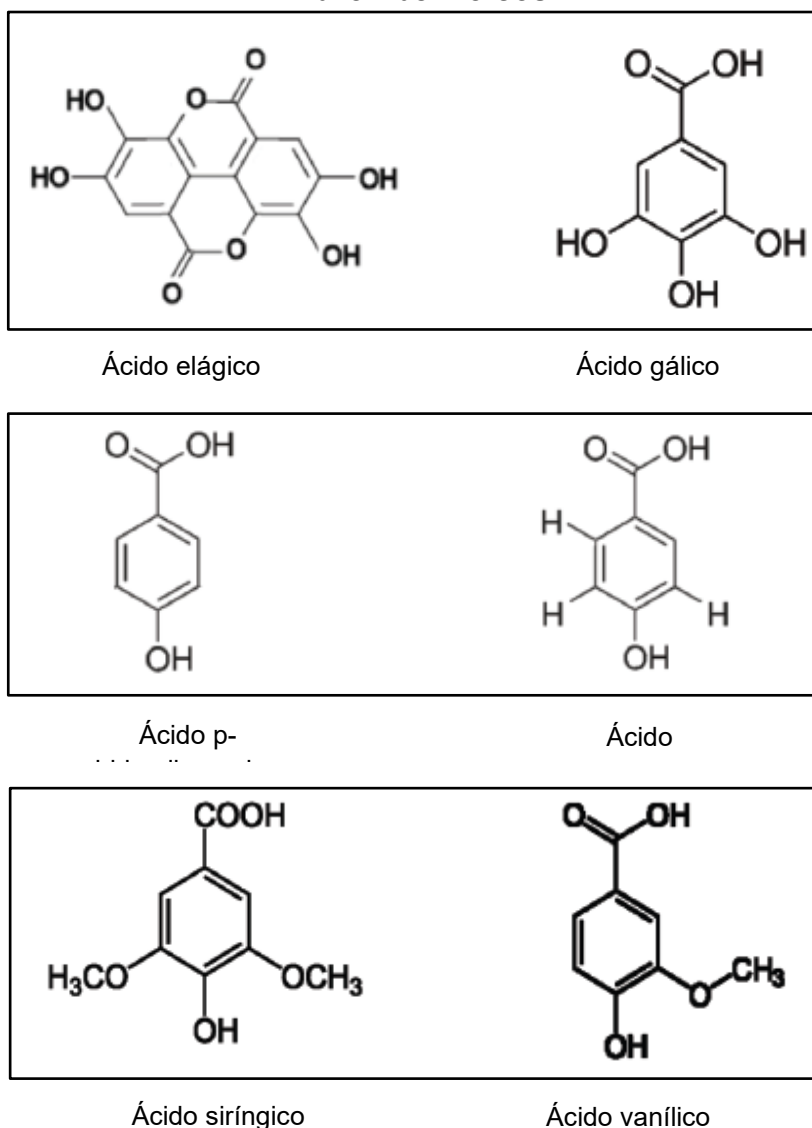
- a) Ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono. Estes são os mais simples encontrados na natureza, como os ácidos gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico.
- b) Ácidos cinâmicos, que têm nove átomos de carbono, como os ácidos caféico, p-coumárico e sinápico.

Estes ácidos desempenham um importante papel sobre a estabilidade estrutural dos vegetais, visto a sua composição química que possibilita a formação de inúmeras ligações cruzadas de ésteres e éteres. São compostos encontrados em grande quantidade na natureza, especialmente em sementes, cascas, caules e folhas são fontes ricas em ácidos fenólicos (Morton *et al.*, 2000).

3.5.1.1.1 Ácidos hidroxibenzóicos

Geralmente, os ácidos hidroxibenzóicos são encontrados na natureza na forma de estruturas complexas como taninos hidrolisáveis. Também podem ser encontrados como ácidos orgânicos e glicosídeos (Manach *et al.*, 2004; Naczki; Shahidi, 2004). Os ácidos elágico, ácido gálico, p-hidroxibenzoico, protocatequínico, siríngico e vanílico são os principais representantes desta classe de ácidos fenólicos (Pereira, 2014). Visto que estes ácidos, tanto em sua forma livres quanto esterificados, são encontrados em poucas plantas consumidas pelos seres humanos, eles não são estudados a fundo e não são considerados de relevante interesse nutricional (Manach *et al.*, 2004). A Figura 5 apresenta algumas estruturas de ácidos hidroxibenzóicos.

Figura 5 – Estrutura das substâncias pertencentes à classe dos ácidos hidroxibenzóicos.

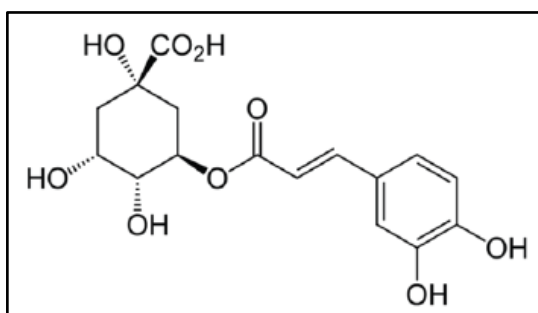


Fonte: Pereira (2014)

3.5.1.1.2 Ácidos hidroxicinâmicos

Os ácidos hidroxicinâmicos são raramente encontrados em forma livre. As formas ligadas são derivadas glicosilados ou ésteres de ácido quínico, ácido chiquímico e ácido tartárico (Manach *et al.*, 2004). Presentes abundantemente nos vegetais, desempenham funções estruturais e de defesa (Cartea *et al.*, 2010), sendo as principais substâncias desta classe os ácidos p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico (Pereira, 2014). Os ácidos fenólicos podem ligar entre si ou até mesmo com outros compostos. Uma importante combinação ocorre entre ácidos caféico e quínico, originando o ácido clorogênico (Figura 6) (Soares, 2002).

Figura 6 - Estrutura do ácido clorogênico formado da associação dos ácidos caféico e quínico.

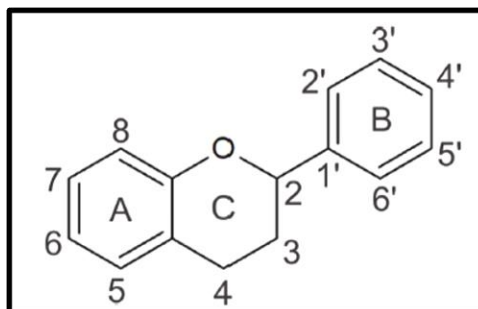


Fonte: Pereira (2014)

3.5.1.2 Flavonóides

Composto por uma cadeia com 15 carbonos dispostos em dois anéis aromáticos unidos por uma ponte de três carbonos (Figura 7), os flavonoides são os compostos fenólicos mais abundantes e diversificados (Bravo, 1998; Garcia; Carril, 2009; Ross; Kasum, 2002). De acordo com a posição de ligação do anel B, bem como o grau de saturação e oxidação do anel C, os flavonoides podem ser classificados subclasses, sendo as principais: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanóis, isoflavonas e antocianinas (Fan *et al.*, 2019; Nabavi *et al.*, 2020; Tuentner *et al.*, 2020; Wang; Li; Bi, 2018)

Figura 7 - Estrutura genérica dos flavonoides



Fonte: Pereira (2014)

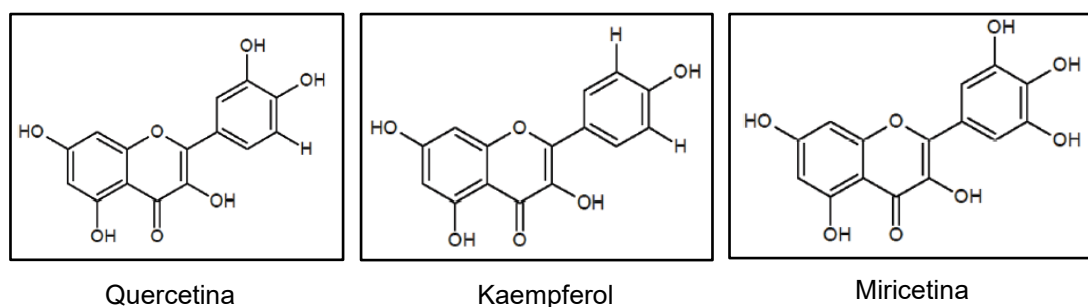
Os flavonoides são encontrados principalmente na epiderme de folhas e nas cascas dos frutos, sendo responsáveis pela pigmentação, resistência a patógenos e proteção aos raios UV (Carocho; Ferreira, 2013). São relativamente resistentes ao calor, oxigênio, desidratação, porém são fotossensíveis (Aherne; O'Brien, 2002).

Quanto as características antioxidantes, que se relacionam à capacidade de eliminação de radicais livres e de quelar íons metálicos, estas dependem de seus grupos substituintes, do número de grupos hidroxila, de outras substituições e conjugações (Balasundram; Sundram; Samman, 2006; Zhang, Q. *et al.*, 2020). A atividade antioxidante desempenhada pelos flavonoides exerce efeito protetor no organismo, auxiliando assim na prevenção de diversas doenças (Pereira, 2014).

3.5.1.2.1 Flavonóis

Os flavonóis são um grupo de flavonoides que possuem um grupo cetona. Ocorrem em grande quantidade em uma variedade de frutas e vegetais. A quercetina, o caempferol e a miricetina são os flavonóis mais estudados (Figura 8) (Panche; Diwan; Chandra, 2016). Possuem um grupo hidroxila na posição 3 do anel C, que pode ser glicosilado, além de serem diversos nos padrões de metilação e hidroxilação. Os diferentes padrões de glicosilação, faz com que seja o maior e mais comum subgrupo de flavonoides em frutas e vegetais (Iwashina, 2013).

Figura 8 - Estrutura das principais substâncias pertencentes à classe dos flavonóis



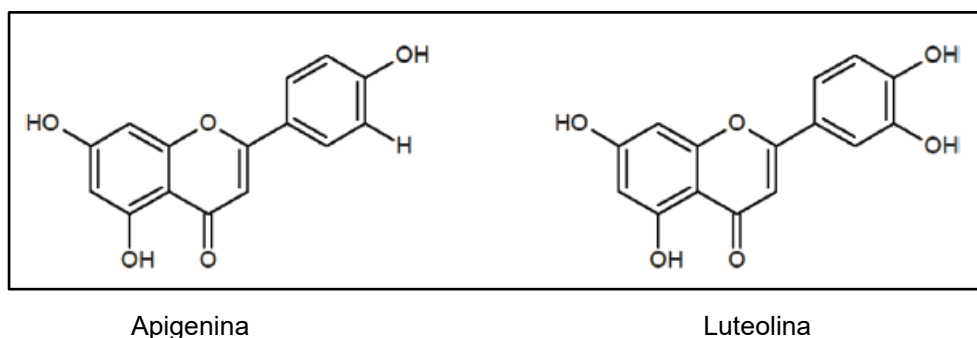
Fonte: Pereira (2014)

3.5.1.2.2 Flavonas

Amplamente distribuídas em folhas, flores e frutos como glicosídeos. A luteolina e a apigenina fazem parte desta subclasse de flavonoides. Compostas por uma ligação dupla entre as posições 2 e 3, e uma cetona na posição do anel C. Grande parte das flavonas de vegetais e frutas possui uma hidroxila na posição 5 do anel A, já a hidroxilação em outras posições, geralmente na posição 7 do anel A ou 3' e 4' do

anel B, pode alternar de acordo com a classificação biológica do fruto específico ou vegetal (Panche; Diwan; Chandra, 2016). Nas plantas, atuam na proteção e comunicação, protegendo contra radiação UV, interagem com microrganismos e insetos (Pereira, 2014). A Figura 9 apresenta as estruturas da epigenina e da luteolina.

Figura 9 - Estrutura das principais substâncias pertencentes à classe das flavonas

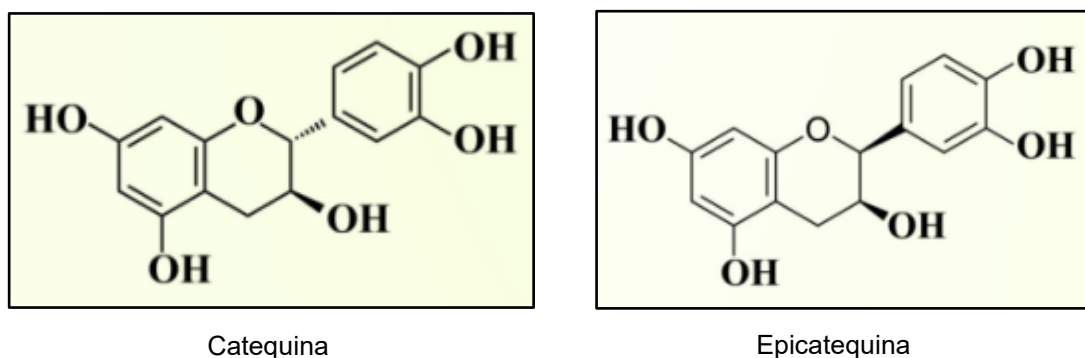


Fonte: Pereira (2014)

3.5.1.2.3 Flavanois

A catequina e a epicatequina (Figura 10) fazem parte desta classe de grande ocorrência em alimentos. Trata-se de uma classe mais complexa, pois incluem não apenas moléculas simples, mas estruturas polimerizadas, como os chamados taninos condensados. Os flavonóis não possuem uma estrutura plana, visto a saturação do elemento C3 no anel C. Nas plantas, agem na proteção contra microrganismos, insetos e herbívoros. Ademais, apresentam capacidade de quelar íons metálicos, dando resistência aos tecidos vegetais. São responsáveis pela adstringência, amargor, acidez, aroma e cor nos alimentos (Carocho; Ferreira, 2013).

Figura 10 - Estrutura das principais substâncias pertencentes à classe dos flavonóis



Fonte: Kumar et al.(2021)

3.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO PARA ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM ALIMENTOS

Os vegetais apresentam uma grande variedade de compostos bioativos. Diversos estudos são desenvolvidos com intuito de identificar e quantificar os compostos fenólicos devido sua importância nas características sensoriais de vegetais (Santos, 2017) e pelos benefícios à saúde humana que lhe são atribuídos (Silva et al., 2020).

No entanto, antes de se realizar a identificação e quantificação dos compostos fenólicos presentes em um alimento seja por espectrometria, espectrofotometria ou cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC), o primeiro passo é selecionar o método de extração.

3.6.1 Preparo da amostra

Sabe-se que a preparação da amostra é um processo importante, pois influencia significativamente a repetibilidade e precisão da análise (Zhao *et al.*, 2011). De acordo com Haminiuk et al. (2012), a extração de compostos fenólicos tende a apresentar melhores resultados quando usadas amostras frescas, mas, devido a sazonalidade, perecibilidade, prazo de validade e qualidade, muitos trabalhos usam o processo de congelamento e secagem para preservar as amostras vegetais.

A utilização de material vegetal em pó favorece a extração de compostos fenólicos, pois partículas menores, aumentam a área superficial da amostra e promove a ruptura da parede celular da planta, o que leva a um maior rendimento da extração (Gião *et al.*, 2009; Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013b; Kim; Lee, 2002)

3.6.2 Métodos de extração

A seleção de um método de extração eficiente é fundamental para garantir bom desempenho e maior estabilidade dos compostos extraídos (Ignat; Volf; Popa, 2011; Hao et al., 2022;). Avaliar quais podem ser as melhores condições de extração, deve ser uma etapa preliminar a realização dos experimentos para assegurar a qualidade dos extratos obtidos (Alirezalu *et al.*, 2020; Goyeneche *et al.*, 2015; Haminiuk *et al.*, 2012a).

A extração dos compostos fenólicos relaciona-se a afinidade dos mesmos pelos diferentes tipos de solventes baseando-se na polaridade e capacidade extrativa destes (Freire *et al.*, 2013), além do mais, as características das amostras vegetais e

a estrutura dos compostos fenólicos, influenciam o processo de extração (Stegărus et al., 2021).

Inúmeras condições analíticas podem ser utilizadas para a extração e posterior análise de compostos fenólicos em plantas. O tipo de solvente e a mistura destes, aplicação ou não de calor, a presença ou não de agitação são algumas possíveis variáveis. Independente da técnica, o objetivo comum de todas é extrair ao máximo os compostos de interesse, aumentar a capacidade de detectar e quantificar e por consequência aumentar o teor de compostos alvo extraídos, adequar a técnica de forma a facilitar a detecção e separação dos analitos, além de oferecer reprodutibilidade do método independentemente do número de amostras em análise (Angelo; Jorge, 2007; Azmir et al., 2013).

Normalmente, as técnicas de extração de compostos fenólicos possuem limitações, assim como vantagens. Técnicas mais modernas, no geral, favorecem a preservação do meio ambiente pela redução ou eliminação do uso de solvente orgânicos e gasto de energia, com destaque para extração assistida por ultrassom e extração assistida por micro-ondas, estas diminuem a degradação dos compostos fenólicos, uma vez que usam temperaturas menores, com um menor período de extração (Tiwari, 2015). Em contrapartida, mesmo exigindo maiores quantidades de reagentes orgânicos e maior tempo de execução, a extração sólido-líquido, continua sendo o tipo mais utilizado por ser simples e facilmente adaptável (Xu et al., 2017).

A extração assistida por ultrassom baseia-se na aplicação de ondas mecânicas que visam intensificar a extração por meio da cavitação, o que aumenta a taxa de transferência de massa no processo. Esse fenômeno ocorre com a formação de bolha que colapsam explosivamente na superfície do material vegetal, causando uma pressão que rompe o tecido e libera os compostos (Alipanahpour Dil et al., 2020; Alipanahpour Dil; Asfaram; Sadeghfar, 2019; Asfaram et al., 2018; Chemat; Zill-E-Huma; Khan, 2011; Dil; Ghaedi; Asfaram, 2019; Meregalli et al., 2020;)

Métodos de extração que utilizam equipamento como banho-maria e agitador orbital, baseiam-se na utilização de solvente que extraem os compostos de interesse, estando ou não associado ao uso de calor e agitação (Meregalli *et al.*, 2020).

A escolha do método de extração de ácidos fenólicos de diferentes produtos vegetais é complexa, visto que a efetividade desse processo depende de alguns parâmetros, como por exemplo, número de anéis aromáticos e grupos hidroxila

presentes na estrutura química dos fenólicos, bem como sua polaridade e concentração (Heleno *et al.*, 2015; Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013b; Martins *et al.*, 2015). Já quanto a extração de flavonoides, esta fundamenta-se no princípio de compatibilidade similar, com a escolha de solventes adequados segundo a polaridade e solubilidade dos flavonoides. Além disso, alguns métodos de quebra de parede celular de vegetais podem auxiliar a separação primária, como por exemplo a extração ultrassônica (Cui *et al.*, 2022).

A utilização de diferentes solventes, puros ou misturados, no processo de extração, pode interferir na composição final, concentração ideal e a bioatividade do extrato em análise (Heleno *et al.*, 2015; Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013b; Martins *et al.*, 2015; Xu; Chang, 2007). A seletividade, miscibilidade, densidade, recuperação, preço, pressão de vapor, viscosidade, estabilidade química e térmica influem na escolha do solvente mais apropriado (Haminiuk *et al.*, 2012a). A água em combinação com solventes orgânicos (acetona, etanol, metanol, acetato de etila) são os solventes mais comumente utilizados para a extração de compostos fenólicos (Sultana; Anwar; Przybylski, 2007).

Além de escolher o melhor solvente, parâmetros como tempo e temperatura, afetam o rendimento de fenólicos extraídos de matrizes vegetais. No geral, o aumento do tempo e da temperatura estimula a solubilidade do analito, contudo, os fenólicos são normalmente degradados ou sofrem reações como oxidação enzimática devido ao tempo de extração prolongada e às altas temperaturas (Biesaga; Pyrzyńska, 2013; Davidov-Pardo; Arozarena; Marín-Arroyo, 2011), diminuindo a eficácia do procedimento e o tipo de compostos extraídos (Dai; Mumper, 2010).

Outra condição importante é a proporção solvente-amostra e o número ciclos de extrações realizadas para cada amostra, visto que afetam a recuperação dos compostos fenólicos. O aumento da proporção solvente-amostra contribui com a extração, mas é conveniente determinar a proporção ideal para que os efeitos de saturação do solvente pelos fenólicos sejam diminuídos (Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013b).

Vale ressaltar que, fatores como origem geográfica, genótipo, estágio fisiológico, condições de cultivo e manejo exercem forte influência sob o conteúdo e a composição de compostos bioativos extraído de vegetais (Blasi *et al.*, 2016; Duma *et al.*, 2014).

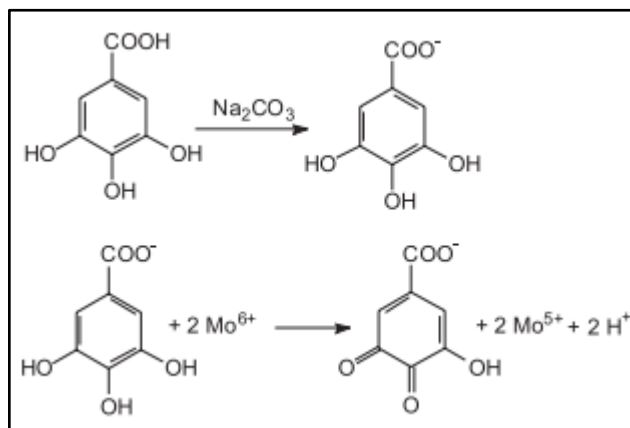
3.7 MÉTODOS DE ANÁLISE

3.7.1 Determinação de compostos fenólicos totais – Método de Folin-ciocalteu

Entre os diversos métodos de análise desenvolvidos para a determinação e quantificação dos compostos fenólicos totais em alimentos, o método Folin-Ciocalteu pode ser apontado como o mais empregado em laboratórios de todo o mundo devido a sua simplicidade e reprodutibilidade (Pérez et al., 2023; Raposo et al., 2024).

O método de Folin-Ciocalteu foi desenvolvido em 1965, mas somente em 1999 o método foi padronizado para a quantificação de fenóis totais (Singleton et al., 1999). A reação do método de Folin-Ciocalteu baseia-se na redução química do reagente, constituído por uma mistura de ácidos de tungstênio e molibdênio (Figura 11). Como produtos desta reação têm-se os óxidos de tungstênio e o molibdênio de cor azul e que apresentam alta absorção de luz, apresentando a máxima absorbância no comprimento de onda de 765 nm, visto que a intensidade da absorção de luz neste comprimento de onda é proporcional à concentração de compostos fenólicos utilizado como padrão externo de referência (Waterhouse, 2003).

Figura 11 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu



Fonte: Oliveira et al. (2009)

Destaca-se que a reação com o reagente Folin não ocorre apenas com compostos fenólicos, mas com qualquer outra substância redutora, assim não serão quantificados apenas compostos fenólicos, mas também a capacidade redutora total das amostras (Haminiuk et al., 2012; Ikawa et al., 2003). As limitações destes métodos podem levar a superestimação do conteúdo de fenólicos em larga extensão (Oliveira *et al.*, 2009). Muitos compostos, como carboidratos redutores, ácido ascórbico, aminas aromáticas, ácidos orgânicos e íons inorgânicos, que podem estar presentes nas amostras, podem levar a redução do reagente e superestimar o conteúdo de

compostos fenólicos (Huang; Ou; Prior, 2005; Munteanu; Apetrei, 2021a; Rusak *et al.*, 2008; Sánchez-Rangel *et al.*, 2013).

Pigmentos como a clorofila, que possuem elevada atividade antioxidante, estão presente em várias partes da planta (Leite *et al.*, 2018) e geralmente são extraídas por solventes orgânico como etanol, acetona e metanol (Tavanandi; Raghavarao, 2019). Com isso, as clorofilas podem ser extraídas juntamente os compostos fenólicos, levando a super ou subestimação das concentrações de fenólicos. As reações que envolvem aparecimento e desaparecimento de cor como indicativo da presença ou ausência de algumas classes de compostos podem ser influenciadas pela presença de clorofila, portanto, a sua redução é conveniente para que não haja interferência (Peres *et al.*, 2009). Neste contexto, o carvão ativado, um adsorvente extremamente eficaz, pode ser usado na adsorção em fase líquida permitindo a adesão de íons e moléculas (Ganjoo *et al.*, 2023). Portanto, antes da análise de CFT pelo método de Folin-Ciocalteau, a purificação dos extratos brutos com carvão ativado para a redução de possíveis interferentes, tal como a clorofila, pode favorecer a quantificação dos compostos fenólicos.

3.7.2 Avaliação da capacidade antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante, depende de inúmeros fatores, como as condições e etapas de oxidação, a formação e estabilidade dos radicais, bem como a possível localização dos antioxidantes e estabilidade em distintas fases do processamento nos alimentos (Pérez-Jiménez *et al.*, 2008).

Os antioxidantes são substâncias naturais ou sintéticas que, no alimento ou no corpo humano em pequenas concentrações, quando comparadas ao substrato oxidativo, são capazes de bloquear, retardar, controlar ou prevenir o dano oxidativo (Bedlovičová *et al.*, 2020), atuando como doadores de hidrogênio ou receptores de radicais livres, gerando compostos mais estáveis (Munteanu; Apetrei, 2021).

Dada a complexidade dos mecanismos de ação antioxidante e as complexas interações presentes nas matrizes biológicas, muitos métodos analíticos foram desenvolvidos para determinar atividade antioxidante em alimentos. No entanto, não existe um método oficial, cada um deles é destinado a aferir um determinado grupo de antioxidantes. Assim, diferentes métodos podem produzir diferentes resultados e a atividade antioxidante pode ser aferida por mecanismos distintos (Martinello; Mutinelli, 2021).

Os ensaios antioxidantes que estão disponíveis atualmente podem ser classificados como diretos, quando envolvem estudos de cinética química, e indiretos, quando envolvem reações de transferência de elétrons (Huang; Ou; Prior, 2005). Cada uma destas metodologias possui vantagens e desvantagens, sendo os métodos diretos mais adequados para avaliação da capacidade antioxidante, mas muito deles são tempo-dependentes, o que demanda experiência em reações de cinética química. Já os métodos indiretos, como ABTS^{•+}, DPPH e FRAP, são de simples aplicação e manipulação, mas podem apresentar baixa reprodutibilidade visto os resultados serem altamente dependentes da concentração de reagente e tempo de incubação (Tomei; Salvador, 2007). Segundo Llyasov et al. (2020), os três métodos de análise de capacidade antioxidante mais populares são ABTS, DPPH e FRAP. Todos eles são rotineiramente aceitos e praticados em laboratórios de pesquisa em todo o mundo.

Sabendo que capacidade antioxidante não deve ser analisada com base em apenas um método e que diversos procedimentos podem ser realizados *in vitro* para determinar as capacidades antioxidantes de amostras (Munteanu; Apetrei, 2021) e considerando ainda as técnicas de análises aplicados no laboratório onde este estudo foi desenvolvido, foram utilizados três métodos, ABTS, DPPH e o FRAP, que, segundo Rufino et al. (2010), são as técnicas amplamente utilizadas.

3.7.2.1 Capacidade antioxidante pelo Método do ABTS. ^{•+}

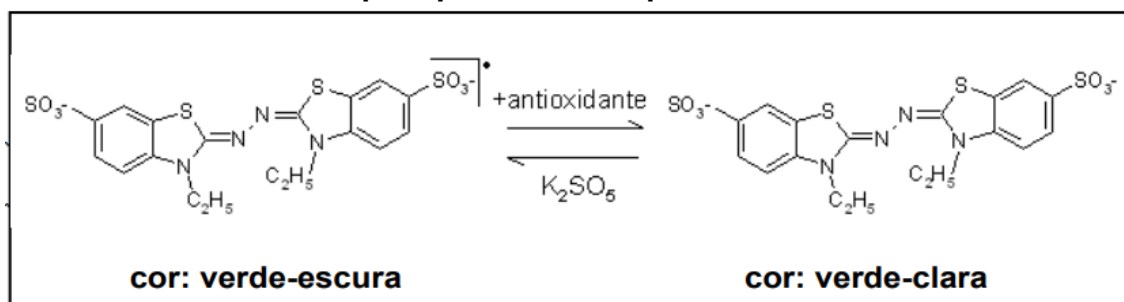
Originalmente proposto por Miller et al. (1993), o método ABTS^{•+} (2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico) é um teste de atividade antioxidante rápido e que oferece resultados reprodutíveis. Dentre outras vantagens, está a oferta de vários máximos de absorção e uma boa solubilidade tanto em água quanto em solventes orgânicos, possibilitando análises de amostras de origem lipofílica e hidrofílica (Arnao, 2000; Kuskoski *et al.*, 2005)

O método de ABTS^{•+} baseava-se na ativação da meta-mioglobina com peróxido de hidrogênio na presença do ABTS para gerar o ABTS^{•+}, com a presença ou não de antioxidantes no meio. No entanto, o método foi aperfeiçoado sendo que o radical agora é gerado sem a presença de antioxidantes (Prado, 2009).

Com as alterações, o método permite a geração ABTS^{•+} a partir da oxidação do sal persulfato de potássio, que ocorre na ausência de luz, por um período de 12 a 16 horas (Figura 12). A energia de ativação necessária é baixa e a reação inicia

instantaneamente (Henriquez; Aliaga; Lissi, 2002). O método consiste em avaliar a capacidade dos antioxidantes de capturar o cátion $ABTS^{+\bullet}$, processo que gera um decréscimo da absorbância a 734 nm. O decréscimo produzido pelo trolox é utilizado como referência para determinação do composto/extrato antioxidante em análise (Miller et al., 1993). Os resultados são então interpolados na curva de calibração e expressos em atividade antioxidante equivalente de trolox (Rufino et al., 2007).

Figura 12- Estabilização do radical $ABTS^{+\bullet}$ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.



Fonte: (Rufino et al., 2007)

Como limitação do método está o fato dos compostos fenólicos não reagirem apenas com radical dando origem a uma nova molécula, mas podem dar lugar a outros compostos, gerando dificuldades para determinar a estequiometria da reação entre o ABTS e outro composto (Arts et al., 2004; Osman; Wong; Fernyhough, 2006; Pinelo et al., 2004)

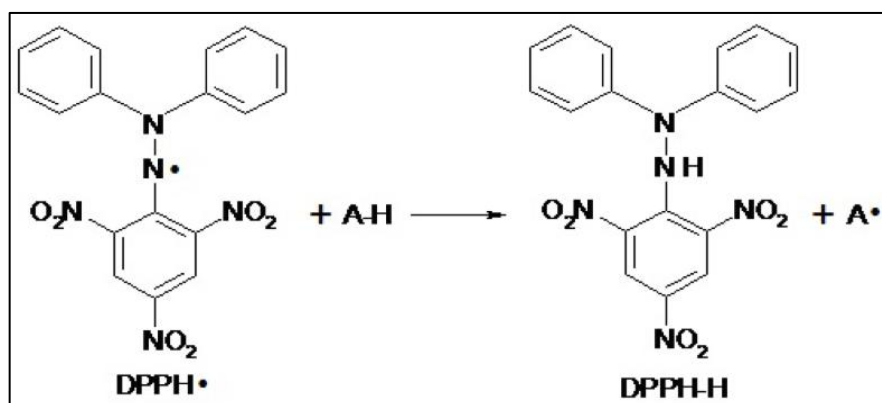
3.7.2.2 Capacidade sequestrante do radical 2,2-diphenyl-1-picryl-hidrazil (DPPH)

Sugerido pela primeira vez em meados da década de 50, o método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazina) era originalmente usado para descobrir doadores de hidrogênio em produtos naturais, e, posteriormente para determinar o potencial antioxidante em alimentos (Roginsky; Lissi, 2005). Trata-se de um método químico, utilizado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres (Sucupira et al., 2012).

O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de coloração violeta e possui uma faixa de absorção de 515-520 nm. A redução do radical é observada pelo decaimento da absorbância durante a reação (Brand-Williams; Cuvelier; Berset, 1995). A ação dos antioxidantes ocorre pelo mecanismo de sequestro de radicais livres, que pode ser usado na avaliação da atividade antioxidantes em um curto período (Figura 13). Quando há a presença de um doador de hidrogênio ou elétron a

intensidade de absorção diminui e a solução com o radical perde a coloração, ficando amarela, isto é, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio vindo de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de coloração (Prado, 2009).

Figura 13 - Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio.



Fonte: (OLIVEIRA, 2015)

Por ser um método rápido, prático e com boa estabilidade é um dos mais utilizados (Sucupira et al., 2012); o que acaba resultando também em uma diversidade de protocolos seguidos e divergências de resultados interlaboratoriais (Sharma; Bhat, 2009). Atualmente, utiliza-se a técnica do EC₅₀, ou concentração inibitória (IC₅₀), trata-se da quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH (Atmani et al., 2009; Lim; Lim; Tee, 2007; Liu et al., 2008; Manian et al., 2008; Rumbaoa; Cornago; Geronimo, 2009; Sánchez-Moreno; Larrauri; Saura-Calixto, 1998).

Como limitação deste método está o fato dos radicais DPPH interagirem com outros radicais, além da curva de resposta em tempo para atingir a estabilidade não ser linear, com diferentes relações de antioxidantes/DPPH (Tiveron, 2010).

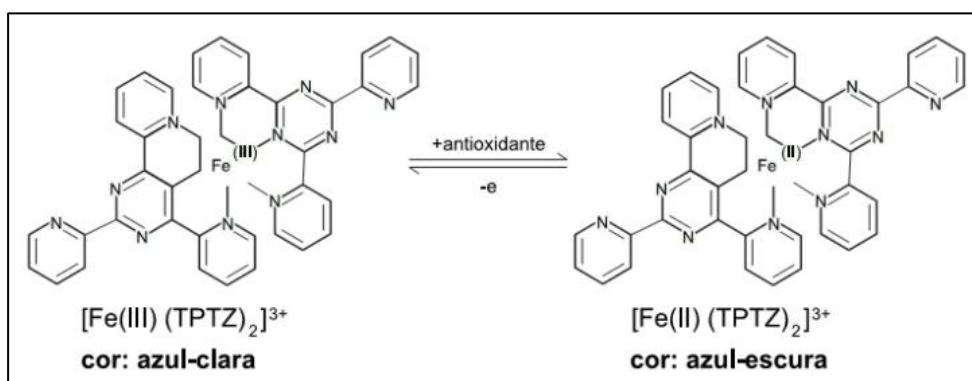
3.7.2.3 Capacidade antioxidante total pelo Método de redução do ferro – FRAP

Desenvolvido originalmente como uma opção para a determinação da redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosa de compostos isolados, o método FRAP (Poder Antioxidante de Redução do Ferro) fundamenta-se em uma reação de doação de um elétron na qual ocorre a redução do complexo férrico tripiridiltriazina ao complexo ferroso por um antioxidante em meio ácido (Benzie; Strain, 1996; Huang; Boxin; Prior, 2005; Pulido; Bravo; Saura-Calixto, 2000). O pH exerce uma importante influência na redução do poder antioxidante. Em meio ácido, a redução da capacidade

pode ser suprimida em virtude da protonação com compostos antioxidantes, ao passo que em meio básico, acontece a dissociação de prótons de compostos fenólicos que podem aumentar a capacidade de redução de uma amostra (Huang; Boxin; Prior, 2005)

Tal reação acontece na presença de TPTZ (2,4,6-Tri(2-piridil)1,3,5-triazina) em meio ácido (pH=3,6). Desta forma, o complexo Fe III-TPTZ, de cor azul clara, é reduzido a Fe II-TPTZ, de cor azul escura, na presença de um antioxidante, sendo que sua resposta ligada ao aumento da absorbância à 595 nm (Sucupira et al., 2012) (Figura 14). Anteriormente, a absorbância à 595 nm era aferida durante 4 minutos, mas observou-se que neste curto período muitos compostos não haviam finalizado sua reação, portanto, o tempo foi ampliado para 30 minutos (Pulido; Bravo; Saura-Calixto, 2000).

Figura 14 - Redução do complexo Fe³⁺/tripiridiltriazina - TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina) a Fe²⁺.



Fonte: (RUFINO et al., 2006)

Métodos indiretos, como o FRAP, são criticados pois a capacidade de redução obtida não reflete necessariamente a atividade antioxidante da amostra. Visto que o método não inclui um extrato oxidável, não há informações fornecidas sobre as propriedades antioxidantes (Frankel; Meyer, 2000; Roginsky; Lissi, 2005).

3.7.3 Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC)

A Cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC), uma técnica de separação rápida, tem recebido maior atenção nos últimos tempos. A UPLC difere da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) por três motivos que, quando combinados, aumentam significativamente a eficiência de separação: a utilização de partículas de fase estacionária com menor diâmetro e/ou particularmente desenvolvidos para UPLC, a utilização de maiores temperaturas de separação e o uso

de pressões muito elevadas para concluir as separações cromatográficas (Snyder; Kirkland, 1979).

A cromatografia líquida é uma técnica de separação analítica amplamente utilizada, especialmente na análise de substâncias presentes em matrizes complexas, visto a sua sensibilidade, a sua adaptabilidade a determinações quantitativas, a sua facilidade de automatizar, a sua adequação para separar substâncias não voláteis ou frágeis termicamente, e principalmente, a sua vasta aplicação a substâncias importantes para diversos ramos da ciência (Meija *et al.*, 2016).

As diferentes estruturas moleculares e os grupos funcionais das substâncias presentes na amostra possuem distintos graus de afinidade com as fases móvel e estacionária, isso faz com que suas velocidades de migração sejam distintas, viabilizando o desenvolvimento da separação cromatográfica, assim dizendo, a substância com maior afinidade com a coluna cromatográfica é aquela que elui por último e a substância que elui primeiro será a de menor afinidade com a fase estacionária (Skoog, 2002).

Com intuito de diminuir o tempo de análise e melhorar a eficiência da separação, muitos trabalhos têm quantificado compostos bioativos por UPLC (Liu *et al.*, 2017; Pereira *et al.*, 2010). Os compostos fenólicos possuem diversas ligações duplas conjugadas e, portanto, possuem absorção no espectro UV-vis. O detector de arranjo de diodos (DAD) é usado para análise dos fenólicos de várias classes, pois permite a varredura completa da absorção dos compostos na região do UV-vis, visto que a faixa mais usada é de 200 a 800 nm (Motilva; Serra; Macià, 2013).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratório de Química de Alimentos e no Laboratório de Referência em Análise de Alimentos, ambos do Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte.

A seleção das espécies de plantas alimentícias não convencionais, *Rumex acetosa* L. (azedinha), *Tropaeolum majus* L (capuchinha) e *Stachys byzantina* K. Koch (peixinho) para a realização deste trabalho teve o intuito de dar continuidade aos estudos previamente desenvolvidos pelo grupo de pesquisa no qual este está inserido. Além disso, foi considerada a disponibilidade de fornecimento imediato das amostras

por parte da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), vistos os respectivos ciclos de produção das espécies.

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

Aagitador de Tubos (Vórtex Phoenix Modelo AP56)

Aagitador de Tubos (Vórtex Nova Instruments Modelo NI 1036)

Balança analítica (Shimadzu modelo AY220)

Balança analítica (Shimadzu modelo AUY220)

Balança analítica (Bel Engineering modelo M214Ai)

Balança centesimal (Shimadzu modelo BL3200H)

Centrífuga digital (Anco CD6000)

Espectrofotômetro (KASVI modelo K3-UVVIS)

Estufa para determinação de umidade (Fanem, 320 – SE)

Estufa com circulação de ar forçada (Biopar S480AD)

Incubadora Shaker de bancada com aquecimento (Labinfarma Scientific modelo LIF650E)

Liquidificador (ARNO, Modelo L.S)

Millipore Direct-Q® 3 UV Water Purification System, ZRQSVP300

Peneira tamis (Bertel Industria Metalúrgica Ltda., 16 mesh)

Pipeta monocalal autoclavável (Digipet 5-50 µL)

Pipeta monocalal autoclavável (Digipet 10-100 µL)

Pipeta monocalal autoclavável (Digipet 20-200 µL)

Pipeta monocalal autoclavável (Larmate Pro 1-10 mL)

Pipeta monocalal autoclavável (MDI 100-1000 µL)

Pipeta monocalal autoclavável (Peguepet 20-200 µL)

Pipeta monocalal autoclavável (Transferpette 100-1000 µL)

pHmêtro de bancada com calibração automática (Instrutherm modelo PH-5000)

Sistema de osmose reversa (Permutation modelo RO 0310)

Waters ACQUITY UPLC (Waters Corporation, Milford, MA, USA)

Bomba de vácuo (Primar modelo 141)

4.1.2 Reagentes

2,2-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich®)

2,4,6-Tris(2-Pyridyl) -S-Triazine (TPTZ) (Sigma Aldrich®)

Acetato de sódio Anidro PA (CRQ Química)
Acetona PA (Êxodo Científica)
Acetonitrila HPLC (Dinâmica)
Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) - (ABTS) (Sigma Aldrich®)
Ácido acético glacial PA (Synth)
Ácido clorídrico (Neon)
Ácido clorídrico (Synth)
Ácido gálico monohidratado P.A (Neon)
Ácido fórmico 98%-100% -
Álcool etílico (Sciavicco)
Álcool etílico (Êxodo Científica)
Álcool etílico (Dinâmica)
Carvão ativo granulado - 6,25% de umidade, 0,49 g/cm³ de densidade aparente, 2,40% de retenção em 20 mesh e 9,19% de passante 50 mesh (Brascarbo)
Ciclo Hexano (Synth)
Cloreto de Ferro Hexahidratado (Êxodo Científica)
Cloreto de ferro III (ICO) P.A (Êxodo Científica)
Ferric Reducing Antioxidant Power (Sigma Aldrich®)
Folin Cioauteau (Sigma Aldrich®)
Metanol HPLC (Êxodo Científica)
Metanol PA (Vetec)
Sulfato de ferro (oso) 7H₂O P.A (Química Moderna)

4.1.3 Padrões analíticos

Ácido caféico (Sigma Aldrich®)
Ácido clorogênico (Sigma Aldrich®)
Ácido ferúlico (Sigma Aldrich®)
Ácido p-coumárico (Sigma Aldrich®)
Apigenina (Sigma Aldrich®)
Campferol (Sigma Aldrich®)
Catequina (Sigma Aldrich®)
Epicatequina (Sigma Aldrich®)
Miricetina (Sigma Aldrich®)
Rutina (Sigma Aldrich®)

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Coleta e preparo das amostras

Todas as amostras deste estudo foram coletadas no Banco de Hortaliças Não Convencionais do Campo Experimental Santa Rita da EPAMIG (Latitude 19°27'15.80"S e Longitude 44° 9'24.37"W), em Prudente Moraes, Minas Gerais, Brasil. O cultivo das hortaliças foi realizado em sistema orgânico de produção sem o uso de agrotóxicos e os tratos culturais foram realizados conforme a necessidade de cada cultura. As folhas das hortaliças foram colhidas no período da manhã, entre os meses de agosto e setembro de 2023.

As espécies das plantas selecionadas foram herborizadas, registradas e as exsiccatas depositadas no Herbário PAMG da EPAMIG Tabela 1. A pesquisa aqui apresentada foi registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen), sob o número de registro AC4BDD3.

Tabela 1 - Plantas alimentícias não convencionais (PANC) selecionadas para a realização das análises

Nome Científico	Nome Popular	Abreviação	Registro	Parte estudada
<i>Rumex acetosa</i> L.	Azedinha	<i>Ra</i>	58869	Folhas
<i>Tropaeolum majus</i> L.	Capuchinha	<i>Tm</i>	58875	Folhas
<i>Sthachys byzantina</i> K. Koch	Peixinho	<i>Sb</i>	58863	Folhas

Após a coleta, foi realizada a secagem, em estufa com circulação de ar forçada a 35°C ± 5 por 48 horas. As amostras já secas foram devidamente armazenadas em sacos de papel pardo e encaminhadas para o Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Alimentos da Faculdade de Farmácia (FAFAR) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Em seguida, foram trituradas em liquidificador (ARNO, Modelo L.S) até a obtenção de um pó fino e homogêneo (padronizado em tamis 16 mesh) (Figura 15), para posterior armazenamento em frasco de vidro, em local seco, arejado e ao abrigo de luz até o momento das análises. As folhas de peixinho foram apenas trituradas visto que as características da matriz vegetal e as condições de secagem não possibilitam a obtenção de pó fino e homogêneo.

Figura 15 – Folhas de azedinha (A), capuchinha (B) e peixinho (C) trituradas.



Fonte: Do autor (2024)

4.2.2 Determinação da umidade

A umidade foi obtida em triplicata pelo método gravimétrico conforme descrito por AOAC (2016). Três gramas de amostra foram pesados em cadinhos previamente secos e pesados, e colocados em estufa (Fanem 320-SE) a 105°C por 12 horas. Após esse período os cadinhos foram transferidos para um dessecador, onde permaneceram por 30 minutos e foram então pesadas.

4.2.3 Seleção dos métodos de extração

A seleção dos procedimentos analíticos de extração de compostos fenólicos que foram utilizados na execução deste trabalho ocorreu após a realização de testes de extração usando a metodologia de Rufino (2008) com algumas modificações. O método desenvolvido por Rufino é um trabalho referenciado em várias pesquisas de enfoque na análise de compostos bioativos.

Nestes testes, substituiu-se a etapa de repouso da mistura amostra e solvente do método de referência citado acima pela inclusão de etapas adicionando o processamento físico, como emprego do banho ultrassônico e o ultraturrax. Finalizada as extrações, procedeu-se a identificação e quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia e observou-se que a inclusão de etapas de processamentos físicos melhorava a extração dos compostos fenólicos.

Após realizados os testes de extração com a inclusão de parâmetros físicos, selecionou-se da literatura dez métodos de extração de compostos fenólicos totais. Os métodos de extração foram identificados aleatoriamente com números de 1 a 10.

As metodologias selecionadas foram descritas por Ajila et al. (2007); Azevedo (2018); De Moraes et al. (2020); De Souza et al. (2021); Fidelis et al. (2020); Grutzmann Arcari et al. (2020); Nascimento et al. 2020; Pérez-Jiménez et al. 2008; Rodrigues et

al.2013; Rufino (2008). Todos os métodos selecionados passaram por adaptações por motivos diversos tais, como, o trabalho não descreveu com exatidão algumas etapas, levando a impossibilidade de reproduzir fielmente alguns parâmetros e necessidade de adequação em função da amostra. A Tabela 2 apresenta as adaptações realizadas em cada um dos métodos.

Tabela 2 - Relação de adaptações realizadas nos métodos de extração de compostos fenólicos

Referência	Alterações do método
Azevedo (2018)	Velocidade da centrifuga alterada de 2341 para 2810 x g. Não foi realizada a etapa de secagem do extrato em banho-maria a 42°C.
Nascimento et al., (2020)	Temperatura do banho ultrassônico alterada de 60° C para 35°C.
De Souza et al. (2021)	Agitação sob movimento orbital alterada de 200 rpm para 120 rpm.
Pérez-Jiménez et al. (2008)	Não informou modo de agitação. Agitação em mesa orbital a 120 rpm.
De Moraes et al. (2020)	Alteração da relação amostra:solvente de 1:10 para 1:100. Temperatura do banho ultrassônico alterada de 25°C para 35°C
Grutzmann Arcari et al. (2020)	Alteração da relação amostra:solvente de 1:10 para 1:100. Agitação em movimento orbital alterado de 100 rpm para 120 rpm. Temperatura do banho ultrassônico alterada de 25°C para 35°C e a frequência alterada de 42 kHz para 40 kHz.
Fidelis et al. (2020)	Substituição da etapa de filtração em papel de filtro. Acrescentada a centrifugação por 10 minutos a 2810 x g. Agitação magnética substituída por agitação em mesa orbital a 120 rpm.
Rodrigues et al., (2013)	Não houve agitação no vórtice por 5 minutos, apenas 10 segundos. Velocidade da centrifuga alterada de 3.864 x g para 2810 x g, sem controle da temperatura.
Ajila et al. (2007)	Velocidade da centrifuga alterada de 10.000 x g para 2810 x g.
Rufino (2008)	Velocidade da centrifuga alterada de 3.000 x g para 2810 x g.

Além das adaptações supracitadas, para todos os métodos foi incluída uma etapa de homogeneização em vórtice por 10 a 15 segundos após adição do solvente de extração nas amostras.

4.2.4 Obtenção dos extratos

As extrações foram realizadas em triplicata, em ambiente protegido da luz, os tubos falcon foram cobertos com papel alumínio e seguindo as etapas descritas na Tabela 3, na qual são apresentados os 10 métodos de extração adaptados utilizados para a obtenção dos extratos brutos das PANC. Finalizada as extrações, os extratos foram devidamente identificados e armazenados sob refrigeração em freezer a -25°C até o momento das análises.

Tabela 3 – Condições experimentais para extração de compostos fenólicos totais em PANC azedinha, capuchinha e peixinho.

Método de Extração	Solventes	Relação amostra: solvente	Banho Ultrassônico*	Incubadora c/ Mov. Orbital	Centrifugação	Nº de ciclos de extrações	Vol. Final (mL)	Referência
01	Metanol:água (50:50 v/v) acetona:água (70:30 v/v)	1:20	30min.	-	15 min. 2810 x g	4	50	Azevedo (2018)
02	Etanol:água (80:20 v/v)	1:20	10 min.	-	5 min. 1970 x g	2	10	Nascimento et al., (2020)
03	Metanol:água (85:15 v/v)	1:75	-	120 rpm, 42 °C, 10 min.	10 min. 2000 x g	2	25	De Souza et al.(2021)
04	Metanol:água (50:50 v/v) c/ pH 2 (Acidif. c/ ácido acético) e acetona:água (70:30 v/v)	1:40	-	120 rpm, 25 °C, 60 min.	10 min. 2500 x g	2 (1 p/cada solvente)	50	Pérez-Jiménez et al.(2008)
05	Metanol: água: ácido clorídrico (80:19:1 v/v/v)	1:100	30 min.	-	15 min. 2810 x g	2	25	De Moraes et al. (2020)
06	Acetonitrila:água acidificada c/ácido acético 2% (50:50, v/v)	1:100	5 min.	120 rpm, 25 °C, 15 min.	10 min.1970 x g	1	10	Grutzmann Arcari et al.(2020)
07	Água:acetona:etanol (33,4:33,3:33,3, v/v/v)	1:20	-	120 rpm, 45 °C, 45 min.	10 min. 2810 x g	1	25	Fidelis et al. (2020)
08	Metanol:água (80:20, v/v)	1:100	-	-	10 min. 2810 x g	5	50	Rodrigues et al., (2013)
09	Acetona:água (80:20, v/v)	1:100	-	-	15 min.2810 x g	1	10	Ajila et al. (2007)
10	Metanol:água (50:50 v/v), acetona:água (70:30 v/v)	1:20	-	-	15 min. 2810 x g	2 (1 p/cada solvente)	10	Rufino (2008)

*Frequência 40 kHz; temp. 35°C

4.2.5 Purificação do extrato para análise de compostos fenólicos totais

Optou-se por realizar uma purificação com carvão ativado proposta por Peres et al. (2009) com adaptações, no intuito de reduzir a concentração de possíveis interferentes no extrato, tal como a clorofila, visto que sua presença, assim como de outros compostos redutores, pode levar a superestimar os resultados de compostos fenólicos totais ao reagir com o Folin-Ciocalteu. Portanto, todos os extratos obtidos pelos dez métodos de extração foram submetidos ao processo de purificação com carvão ativo.

Para a realização da purificação com carvão ativado foram utilizadas alíquotas de extrato bruto que variaram entre 2 e 5 mL, de forma a manter a proporção massa vegetal: carvão 1:1.

O carvão ativado granuloso foi pesado em tubo falcon de 15 mL, seguido da adição do volume de extrato bruto (2 a 5 mL). Em seguida, homogeneizou-se por 10 segundos em agitador de tubos e levou a agitação em uma incubadora com movimento orbital, a 130 rpm, a temperatura ambiente, por 20 minutos. Após a agitação, a suspensão foi filtrada com papel de filtro quantitativo, faixa azul (Quanti), 8 µm, em balão volumétrico de 5 mL e o volume final foi ajustado com água deionizada. Finalizada a etapa de purificação, os extratos foram armazenados em eppendorf e congelados a -25°C até o momento das análises.

4.2.6 Compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada em triplicata de acordo com o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton et al. (1999) e Rufino et al. (2010). As alíquotas dos extratos purificados utilizados nesta análise, que variaram em função das amostras, estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Volume de extratos purificados e de solução de acetona a 70% utilizados nas diluições para análise de compostos fenólicos totais

Método de Extração	Matriz Vegetal	Alíquota de Extrato* (µL)	Alíquota de Acetona 70% (µL)
1 e 2	Ra	30	270
		60	240

		Tm Sb	90	210
			30	270
			45	255
			60	240
3, 5, 6, 9 e 10	Ra Tm Sb		100	200
			150	150
			200	100
4	Ra Tm Sb		50	250
			100	200
			150	150
7	Ra		30	270
			60	240
			90	210
	Tm Sb		25	275
			50	250
			75	225
8	Ra		150	150
			200	100
			250	50
	Tm		100	200
			150	150
			250	50
	Sb		25	275
			50	250

*Extrato purificado com carvão ativado. Ra – *Rumex acetosa* L. (Azedinha); Tm – *Troapeolum majus* (Capuchinha); Sb - *Stachys byzantina* K. Koch. (Peixinho). Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ác. acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15 min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

As diluições supracitadas foram adicionadas em seus respectivos tubos falcon de 15 mL revestidos de papel alumínio totalizando 300 µL de extrato diluído em acetona 70%. Em seguida adicionou-se 1,5 mL da solução reagente Folin-Ciocalteu a 10% (reagente Folin e água destilada). Essa mistura foi homogeneizada por 5 segundos em agitador de tubos e mantida em repouso por 8 minutos. Após este tempo, foram adicionados 1,2 mL da solução de carbonato de sódio a 7,5% (p/v) e homogeneizando-se em agitador de tubos. Em seguida, as amostras, foram mantidas por 30 min à temperatura ambiente, ao abrigo da luz. A leitura das absorbâncias foi realizada a 760 nm, com auxílio de cubeta de vidro no espectrofotômetro (KASVI modelo K3-UVVIS) utilizando a solução de acetona a 70% como branco para calibrar o espectrofotômetro. A curva padrão de ácido gálico em 6 pontos foi realizada nas concentrações que variaram de (1,5; 3,0; 4,5; 6,0; 7,5 a 9,0 µg/mL), nas mesmas condições das amostras. Para cada dia de análise foi preparada uma curva padrão ($R^2 \geq 0,99$). Os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (mg GAE.100g-1 de amostra/base seca). As análises foram realizadas em triplicata e em ambiente com pouca iluminação.

4.2.7 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante nos extratos foi determinada por três métodos: Captura do radical livre ABTS ^{•+}; Reação com 2,2'-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e Reação de redução do ferro (FRAP, Ferric Reducing Antioxidant Power).

Para a realização destas análises foram utilizados os extratos obtidos pelos 10 métodos de extração, sem a etapa de purificação com carvão ativado.

4.2.7.1 Atividade antioxidante pela captura do radical livre ABTS *+

A reação pelo radical livre ABTS foi realizada conforme Rufino et al. (2010) com algumas adaptações. A partir dos extratos obtidos anteriormente, preparou-se em tubos falcon de 15 mL três diluições diferentes. As alíquotas dos extratos utilizados nesta análise, que variaram em função das amostras, estão apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Volume de extrato bruto e de álcool etílico utilizados nas diluições para Análise de Atividade Antioxidante – ABTS.

Método de Extração	Matriz Vegetal	Alíquota de Extrato (µL)	Alíquota de Álcool Etilico (µL)
1	Ra Sb	100	900
		300	700
		500	500
	Tm	100	900
		200	800
		300	700
2	Ra Tm	100	900
		200	800
		300	700
	Tm	100	900
		300	700
		500	500
3	Ra Tm Sb	300	700
		600	400
		900	100
4	Ra Tm Sb	100	900
		300	700

		500	500
		50	950
	Ra Sb	450	550
		750	250
5		50	950
	Tm	350	650
		650	350
		100	900
6	Ra Tm Sb	300	700
		500	500
		100	900
	Ra Tm	200	800
		300	700
7		100	100
	Sb	300	300
		500	500
		250	750
8	Ra Tm Sb	500	500
		750	250
		300	700
9	Ra Tm Sb	500	500
		700	300
		100	900
10	Ra Tm Sb	200	800

300

700

Ra – *Rumex acetosa* L. (Azedinha); Tm – *Troapeolum majus* (Capuchinha); Sb - *Stachys byzantina* K. Koch. (Peixinho). Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ác. acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15 min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir da mistura da solução de ABTS (7 mM) com solução de persulfato de potássio (140 mM). Após manter por 16 h em repouso no escuro, a solução do radical ABTS foi diluída com álcool etílico até atingir uma ABS de $0,700 \pm 0,050$ nm a 734 nm.

Preparadas as diluições, transferiu-se uma alíquota de 30 µL de cada diluição dos extratos para tubos falcon de 15 mL recobertos com papel alumínio. Em cada tubo foram adicionados 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e procedeu a homogeneização em agitador de tubos, aguardou-se 6 minutos para a medida da ABS a 734 nm. A solução padrão de Trolox a 0,5 mg. mL⁻¹ foi utilizada para a construção da curva analítica na faixa de 100 a 2000 µM. A partir das absorbâncias das diferentes concentrações da amostra, construiu-se a curva da amostra (concentração em mg.L x ABS) e a equação da reta obtida foi usada para calcular a concentração equivalente a 1.000 µM de trolox. Para cada dia de análise, uma curva analítica foi construída ($R^2 \geq 0,99$). Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente com pouca iluminação.

4.2.7.2 Capacidade antioxidante pela reação com o radical livre DPPH

A análise pela reação com o radical livre DPPH foi realizada conforme Rufino et al. (2010) com algumas adaptações. A partir dos extratos obtidos anteriormente, preparou-se em tubos falcon de 15 mL três diluições diferentes. As alíquotas dos extratos brutos utilizados nesta análise, que variaram em função das amostras, estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Volume de extrato bruto e de álcool metílico utilizados nas diluições para Análise de Atividade Antioxidante – DPPH.

Método de Extração	Matriz Vegetal	Alíquota de Extrato (µL)	Alíquota de Álcool Metílico (µL)
1, 2, 5 e 7	Ra	100	900
	Tm	200	800
	Sb		

3	Ra	300	700
		200	800
		400	600
		600	400
	Tm	200	800
		300	700
		400	600
		100	900
	Sb	300	700
		500	500
		200	800
		300	700
4	Ra	400	600
		100	900
		300	700
		500	500
	Tm	50	950
		100	900
		150	850
		50	950
	Sb	100	900
		150	850
6	Ra Tm Sb	50	950
		100	900
		150	850
8	Ra Tm Sb	250	750
		500	500

9	Ra	750	250
		300	700
		400	600
		500	500
	Tm Sb	300	700
		500	500
		700	300
		50	950
10	Ra Tm Sb	150	850
		250	750

Ra – *Rumex acetosa* L. (Azedinha); Tm – *Troapeolum majus* (Capuchinha); Sb - *Stachys byzantina* K. Koch. (Peixinho). Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ác. acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15 min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

Preparadas as diluições, transferiu-se uma alíquota de 100 µL de cada diluição dos extratos para tubos falcon de 15 mL recobertos com papel alumínio. Em cada tubo foram adicionados 3,9 mL do radical DPPH e procedeu a homogeneização em agitador de tubos. Para o preparo da solução controle (solução preparada com os solventes utilizados para a extração), transferir uma alíquota de 100 µL para tubo falcon com 3,9 mL do radical DPPH. Em seguida, procedeu-se a leitura das amostras, bem como da solução controle, no espectrofotômetro com a absorbância a 515 nm, utilizando o álcool metílico como branco para calibração do equipamento. As leituras foram monitoradas a cada 10 minutos até a estabilização da absorbância (tempo EC₅₀).

A curva padrão foi obtida a partir de solução inicial de DPPH (60 µM), com concentrações que variaram de (10 µM a 60 µM), nas mesmas condições das amostras. A capacidade antioxidante foi avaliada como a concentração de antioxidante necessária para reduzir a quantidade inicial de radicais livres em 50 % (EC₅₀), sendo o resultado expresso em g de amostra/g de DPPH. Para cada dia de

análise, uma curva analítica foi construída ($R^2 \geq 0,99$). Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente com pouca iluminação.

4.2.7.3 Capacidade antioxidante pela reação de redução do ferro (FRAP).

A técnica descrita por Rufino et al. (2010) foi empregada para a determinação da atividade antioxidante pela reação de redução do ferro. A partir dos extratos obtidos anteriormente, preparou-se em tubos falcon de 15 mL três diluições diferentes. As alíquotas dos extratos brutos utilizados nesta análise, que variaram em função das amostras, estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Volume de extrato bruto e de água destilada utilizados nas diluições para Análise de Atividade Antioxidante – FRAP.

Método de Extração	Matriz Vegetal	Alíquota de Extrato (µL)	Alíquota de Água Destilada (µL)
1 e 6	Ra Tm Sb	100	900
		200	800
		300	700
2	Ra Tm	100	900
		200	800
		300	700
	Sb	100	900
		150	850
		200	800
3	Ra Tm Sb	100	900
		300	700
		500	500
4	Ra	200	500
		300	700
		400	600

	Tm Sb	100	900
		200	800
		300	700
5	Ra Tm Sb	300	700
		400	600
		500	500
7	Ra Tm Sb	100	900
		150	850
		200	800
8	Ra Tm Sb	500	500
		750	250
		1000	0
9	Ra Tm Sb	200	800
		300	700
		400	600
10	Ra Sb	100	900
		150	850
		200	800
	Tm	50	950
		100	900
		150	850

Ra – *Rumex acetosa* L. (Azedinha); Tm – *Troapeolum majus* (Capuchinha); Sb - *Stachys byzantina* K. Koch. (Peixinho). Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ác. acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15 min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

A solução do reagente FRAP foi preparada misturando-se tampão acetato pH 3,6 (0,3 M), solução de TPTZ (10 mM) e solução de cloreto férrico (20 mM) (10:1:1, respectivamente). Preparadas as diluições, transferiu-se uma alíquota de 90 µL de cada diluição dos extratos para tubos falcon de 15 mL recobertos com papel alumínio. Em cada tubo foram adicionados 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. As soluções foram homogeneizadas em agitador de tubos e mantidas em banho-maria a 37° C por 30 minutos. A leitura da absorbância foi feita a 595 nm e o reagente FRAP foi utilizado como branco. A solução de sulfato ferroso (2mM) foi utilizada para a construção da curva analítica (concentração de 500 - 2000 µM), nas mesmas condições das amostras e a partir da equação da reta calculou-se a absorbância referente a 1000 µM de sulfato ferroso. A partir dos valores obtidos de absorbância para as três concentrações da amostra, construiu-se a curva da amostra (concentração x ABS) e por meio da equação da reta foi determinada a concentração equivalente a 1000 µM de sulfato ferroso. Para cada dia de análise, uma curva analítica foi construída ($R^2 \geq 0,99$). Todas as análises foram realizadas em triplicata e em ambiente com pouca iluminação.

4.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA (UPLC)

4.3.1 Obtenção dos extratos para análise por Cromatografia Líquida de Ultra eficiência – UPLC.

Para a quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia líquida as matrizes vegetais foram extraídas pelos métodos descritos na Tabela 3. Foi necessário ajustar a massa de amostra utilizada na extração, sem alterar a relação amostra:solvente. Portanto, para todas as extrações foram utilizados 500 mg de planta independente do volume de extrato final, obtendo assim extratos com concentrações que variaram entre 5mg/mL até 50mg/mL.

Desta forma, previamente a injeção no equipamento foi realizada a diluição dos extratos em metanol grau HPLC. Como cada extrato possuía uma concentração de matriz vegetal por mL, diferentes alíquotas foram utilizadas. As alíquotas de extrato utilizadas nas diluições em metanol grau HPLC são apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 - Volume de extrato e álcool metílico utilizados nas diluições para análise de compostos fenólicos totais por cromatografia.

Método de Extração	Matriz Vegetal	Alíquota de Extrato (µL)	Alíquota de Metanol Puro - HPLC (µL)
1	Ra	400	600
	Tm Sb	500	500
2	Ra Sb	450	550
	Tm	400	600
3	Ra Tm Sb	500	500
4	Ra	450	550
	Tm Sb	500	500
5	Ra Tm Sb	600	400
6	Ra	400	600
	Tm Sb	450	550
7	Ra	200	800
	Tm Sb	300	700
8	Ra	750	250
	Tm Sb	850	150
9	Ra	450	550
	Tm Sb	600	400
10	Ra	450	550
	Tm	500	500
	Sb		

Ra – *Rumex acetosa* L. (Azedinha); Tm – *Troapeolum majus* (Capuchinha); Sb - *Stachys byzantina* K. Koch. (Peixinho). Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ác. acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15

min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

Após as diluições, as concentrações dos extratos diluídos (massa de matriz vegetal seca por mL) variaram entre 1,5 e 15 mg/mL. Antes da injeção, os extratos foram filtrados em filtro de seringa PVDF (diâmetro 25mm, poro 0,22 µL) e transferido para um frasco de vidro. A identificação dos compostos baseou-se na comparação dos seus tempos de retenção e espectros UV-VIS com os padrões. A quantificação foi realizada por calibração com padrões externos.

4.3.2 Preparo de soluções estoque dos padrões de compostos fenólicos na concentração 100 µ/mL

O perfil de compostos fenólicos foi determinado em triplicata conforme o método cromatográfico descrito por Felix Ávila et al. (2024) com adaptações.

Na preparação das soluções estoque dos padrões de análise, pesou-se em balança com precisão de 0,00001g (5 casas decimais) a massa de 1,00 mg (0,001g), de cada um dos padrões, individualmente, um composto por tubo eppendorf, com o auxílio de micro espátula.

Após a pesagem, adicionou-se 2 mL de metanol no tubo contendo o padrão. Os tubos foram levados para agitador de tubos e o volume foi transferido com o auxílio de uma micropipeta de 1000µL para um balão volumétrico de 10 mL. O processo foi repetido por mais duas vezes. Em seguida, o volume do balão foi completado com metanol. Então, as soluções foram fracionadas em tubos criogênicos, adicionando aproximadamente 1,5 mL em cada tubo. Todos os tubos foram identificados e armazenados a temperatura de -25°C até o momento da análise.

4.3.3 Diluições da curva padrão de calibração

O preparo das soluções a serem usadas para estabelecer a calibração foi dividida em duas curvas (A e B), sendo a curva A composta por dois padrões (ácido clorogênico e catequina) analisada pelo método A e a curva B composta por nove padrões (ácido caféico, ácido ferúlico, ácido p-coumárico, apigenina, campferol, epicatequina, miricetina, quercetina e rutina) analisada pelo método B. Cada curva foi constituída por sete concentrações individuais de padrões (1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 µg/mL) que se somavam na diluição. As Tabelas 9 e 10 apresentam os volumes das diluições das concentrações das curvas de calibração A e B, respectivamente.

Tabela 9 - Volumes das diluições das concentrações da curva de calibração A

Concentração (µg/mL)	Volume de solução mãe de cada padrão (µL)	Volume de metanol (µL)	Volume final (µL)
1,0	20,0	1960,0	2000,0
2,0	20,0	960,0	1000,0
3,0	30,0	940,0	1000,0
4,0	40,0	920,0	1000,0
5,0	50,0	900,0	1000,0
6,0	60,0	880,0	1000,0
7,0	70,0	860,0	1000,0

Tabela 10 - Volumes das diluições das concentrações da curva de calibração B

Concentração (µg/mL)	Volume de solução mãe de cada padrão (µL)	Volume de metanol (µL)	Volume final (µL)
1,0	20,0	1820,0	2000,0
2,0	20,0	820,0	1000,0
3,0	30,0	730,0	1000,0
4,0	40,0	640,0	1000,0
5,0	50,0	550,0	1000,0
6,0	60,0	460,0	1000,0
7,0	70,0	370,0	1000,0

As diluições foram preparadas em tubos eppendorfs pouco antes do início das análises para evitar a degradação dos compostos e os tubos foram devidamente identificados com as concentrações e a qual curva pertence. Foram realizadas três repetições de cada concentração para que as análises fossem feitas em triplicata verdadeira.

4.3.4 Preparo das fases móveis

Para o preparo da fase móvel, dois processos são importantes, a filtração dos componentes constitutivos da fase móvel e a desgaseificação em banho ultrassônico para que o gás dissolvido na fase móvel seja retirado.

A fase móvel foi constituída de duas partes. A primeira foi constituída de água ultrapura acidificada a 0,25% com ácido fórmico. A segunda foi constituída por acetonitrila grau HPLC acidificada a 0,25% com ácido fórmico.

Após o preparo das fases móveis, estas foram submetidas a filtração sob vácuo e através de uma película filtrante compatível 0,22 μm . Logo após a filtração, as fases móveis foram submetidas a desgaseificação em um aparelho de banho ultrassônico por um período de 15 minutos.

4.3.5 Condições cromatográficas

Antes de iniciar as corridas cromatográficas, o equipamento foi ligado com antecedência, a lâmpada do detector permaneceu ligada por 60 minutos. Em seguida, foi realizada a eluição da coluna com a fase B (acetonitrila-ácido fórmico 0,95:0,05 v/v) por 30 minutos no fluxo de 0,3 mL/minuto.

O equipamento utilizado foi um cromatógrafo líquido de ultra eficiência Waters ACQUITY UPLC (Waters Corporation, Milford, MA, USA), constituído de uma bomba quartenária, desgaseificador on-line, amostrador automático, controlador de temperatura da coluna (35°C) e um detector de arranjo ajustado em 271 e 320 nm. A separação ocorreu em uma coluna Acquity BEH, C18 (1,7 μm x 2,1 x 100mm).

As absorbâncias (nm) específicas para cada composto foram: 277 (epicatequina), 279 (catequina), 309 (ácido p-coumárico), 322 (ácido caféico), 322 (ácido ferúlico), 325 (ácido clorogênico), 338 (apigenina), 354 (rutina), 366 (campferol) 372 (miricetina), 372 (quercetina).

Para ambos os métodos, foram utilizadas as seguintes condições cromatográficas: volume de injeção de 1 μL , fluxo de 0,3mL/minuto, fase móvel composta por água/ácido fórmico (99,75:0,25 v/v) como eluente A e acetonitrila/ácido fórmico (99,75:0,25, v/v) como eluente B. Os gradientes utilizados em cada um dos métodos estão apresentados nas Tabelas abaixo:

Tabela 11 - Gradiente de eluição do método de análise de compostos fenólicos pelo método A

Tempo (minutos)	Fase A (%)	Fase B (%)
0 - 3,5	100	0
3,5 - 4,0	100 - 92	0 - 8
4,0 - 10,0	92	8

Fase A - água/ácido fórmico (99,75:0,25 v/v); Fase B - acetonitrila/ácido fórmico (99,75:0,25, v/v).

Tabela 12 - Gradiente de eluição do método de análise de compostos fenólicos pelo método B

Tempo (minutos)	Fase A (%)	Fase B (%)
0 - 10,0	90	10
10,0 - 10,5	90 - 82	10 - 18
10,5 - 16,0	82	18
16,0 - 16,5	82 - 75	18 - 25
16,5 - 25,0	75	25

Fase A - água/ácido fórmico (99,75:0,25 v/v); Fase B - acetonitrila/ácido fórmico (99,75:0,25, v/v).

Para ambas as condições analíticas, os compostos fenólicos foram quantificados por interpolação em curvas analíticas externas ($R^2 > 0,993$) utilizando sete pontos de padrões (1–7 µg/mL), em triplicata. Os dados foram processados no software Empower® e os resultados foram expressos em µg/100 g de base seca.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises de compostos fenólicos totais, capacidades antioxidante pelos métodos de ABTS, DPPH, FRAP e o perfil dos compostos fenólicos por foram realizadas em triplicata e os resultados da extração foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. As análises de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante, teores de ácidos fenólicos e de flavonoides foram submetidos à análise de variância por meio da ANOVA one way com Teste de Post Hoc de Tukey ($p < 0,05$) para avaliação das médias. Foi realizada uma análise multivariada para obter uma visão geral do

padrão de dados foi obtida por meio da análise de componentes principais (PCA). Foram utilizados os Programa R 4.4.1 e Rstudio.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As PANC estudadas neste trabalho, são consumidas na sua forma *in natura*, no entanto, optou-se por expressar os dados referentes às análises em base seca, para que haja uma equidade entre as espécies, facilitando a comparação dos resultados obtidos. Dessa forma, nenhuma espécie teve os seus valores superestimados ou subestimados, devido, respectivamente, ao maior ou menor teor de umidade. Isso é crucial, visto que o teor de umidade pode variar significativamente entre diferentes PANC, o que pode afetar a comparação dos resultados.

5.1 TEOR DE UMIDADE

O teor de umidade das PANC analisadas foi de 85,65% (azedinha), 80,68% (capuchinha) e 80,98% (peixinho). Um estudo conduzido por Minighin (2023) também avaliou os teores de umidade destas plantas, e embora nossos resultados sejam semelhantes aos encontrados pela autora, notamos algumas diferenças. Por exemplo, enquanto Minighin (2023) encontrou um teor de umidade de 90,53% para azedinha, este estudo encontrou um teor de umidade ligeiramente menor de 85,65%. O mesmo ocorreu com o peixinho, cujo teor de umidade encontrado por Minighin (2023) foi de 86,26% e este trabalho encontrou um teor de 80,98%. Já para a capuchinha, este trabalho encontrou um teor de umidade relativamente maior de 80,98% enquanto Minighin (2023), encontrou 72,93%.

5.2 COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (CFT) E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A determinação do teor de CFT se faz importante, pois a capacidade antioxidante de plantas pode estar correlacionada à presença de compostos fenólicos na composição (Cheung; Cheung; Ooi, 2003).

A Tabela 13 apresenta os resultados da análise de CFT equivalentes ao ácido gálico e da capacidade antioxidante nos extratos.

Tabela 13 - Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC)

Análise	PANC	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CFT * (mg GAE/100g)	Ra	1546,69±1 87,99 ^b	860,04±14 0,84 ^{cd}	1011,35±4 4,40 ^{bcd}	1388,41±1 5,70 ^{bc}	3540,73±4 37,09 ^a	942,65±12 2,39 ^{bcd}	3135,94±8 66,65 ^a	638,46±13 6,05 ^d	787,97±96, 21 ^{cd}	1138,61±2 7,70 ^{bcd}
	Tm	2015,85±1 6,80 ^b	1022,50±1 29,24 ^d	1394,48±6 7,90 ^{cd}	1862,07±1 02,94 ^{bc}	3940,83±1 21,02 ^a	1121,08±6 9,28 ^d	3586,55±4 23,27 ^a	1123,60±2 6,46 ^d	1025,44±3 7,99 ^d	2120,49±2 15,24 ^b
	Sb	1927,83±1 19,34 ^c	1139,76±2 70,16 ^d	1862,23±9 5,18 ^c	1627,44±8 7,04 ^{cde}	4497,19±2 38,54 ^a	1670,90±1 53,35 ^{cd}	3246,65±2 79,57 ^b	3481,29±3 78,78 ^b	1060,24±1 63,36 ^e	1894,85±6 0,99 ^c
ABTS (µM Trolox/g)	Ra	217,04 ± 22,08 ^c	103,98 ± 4,49 ^e	144,27 ± 11,16 ^d	263,54 ± 8,96 ^b	125,84 ± 4,06 ^{de}	130,56 ± 5,24 ^{de}	153,12 ± 9,23 ^d	330,55 ± 26,17 ^a	241,66 ± 3,70 ^{bc}	257,60 ± 10,85 ^b
	Tm	243,32 ± 19,55 ^{cd}	93,65 ± 3,28 ^f	177,40 ± 6,27 ^e	318,46 ± 13,23 ^b	114,51 ± 14,75 ^f	195,83 ± 5,55 ^{de}	234,26 ± 10,48 ^{cd}	519,62 ± 40,95 ^a	273,25 ± 16,78 ^{bc}	308,55 ± 23,75 ^b
	Sb	198,42 ± 15,23 ^{cd}	106,03 ± 6,19 ^e	194,99 ± 0,84 ^{cd}	230,14 ± 9,35 ^{bc}	180,79 ± 21,98 ^d	210,84 ± 13,26 ^{cd}	91,34 ± 7,44 ^e	393,33± 24,81 ^a	215,34 ± 9,03 ^{cd}	267,33 ± 11,65 ^b
DPPH (EC50 g de amostra/g)	Ra	172,21 ± 10,65 ^g	536,15 ± 14,03 ^c	385,08 ± 12,23 ^{de}	295,65 ± 14,46 ^{ef}	1187,56 ± 88,58 ^a	472,82 ± 19,51 ^{cd}	712,95 ± 17,52 ^b	292,41 ± 12,45 ^f	455,51 ± 2,48 ^{cd}	341,77 ± 14,48 ^{ef}
	Tm	196,84 ± 8,88 ^h	455,89 ± 13,44 ^c	342,79 ± 11,15 ^e	273,55 ± 7,60 ^f	1009,43 ± 30,70 ^a	283,10 ± 6,90 ^f	588,76 ± 16,59 ^b	220,88 ± 7,02 ^{gh}	386,35 ± 19,82 ^d	243,28 ± 1,23 ^{fg}
	Sb	244,68 ± 5,76 ^e	313,71 ± 9,00 ^{cd}	175,25 ± 4,48 ^f	284,38 ± 5,71 ^{cde}	873,69 ± 61,74 ^a	309,47 ± 18,59 ^{cde}	480,05 ± 13,83 ^b	156,02± 6,86 ^f	334,73 ± 6,58 ^c	256,23 ± 21,11 ^{de}
FRAP (µM sulfato ferroso/g)	Ra	403,97 ± 7,03 ^a	159,95 ± 2,63 ^h	261,45 ± 5,03 ^b	258,33 ± 5,95 ^b	247,14 ± 5,57 ^{bc}	216,84 ± 3,91 ^{ef}	197,23 ± 4,01 ^g	229,77 ± 11,01 ^{de}	200,57 ± 5,57 ^{fg}	234,26 ± 3,27 ^{cd}
	Tm	401,75 ± 12,30 ^a	155,52 ± 4,97 ^e	283,79 ± 19,12 ^d	373,59 ± 10,47 ^{ab}	343,54 ± 12,31 ^{bc}	259,34± 0,81 ^d	254,94± 4,51 ^d	337,04 ± 18,57 ^c	220,80± 8,54 ^e	393,94± 9,50 ^a
	Sb	353,50 ± 5,70 ^b	199,93 ± 10,82 ^g	404,12 ± 14,42 ^a	278,92 ± 8,75 ^{cd}	359,51 ± 24,12 ^{de}	344,09 ± 5,23 ^b	248,35 ± 13,45 ^{ef}	366,16 ± 8,79 ^b	225,95 ± 10,37 ^{fg}	298,85 ± 5,49 ^c

*Análise realizada nos extratos purificados c/ carvão ativado. Valores médios ± desvio padrão (n = 3). Valores expressos na mesma linha seguidos de letras diferentes indicam diferença estatística (p ≤ 5%) pelo teste de Tukey. Resultados expressos em base seca. CFT = Compostos fenólicos totais. GAE = Ácido Gálico Equivalente. Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ác. acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15 min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

A análise dos dados da Tabela 13, permite observar que os métodos de extração impactaram significativamente na extração dos compostos fenólicos totais e na atividade antioxidante das PANC.

O método de extração nº 5 (metanol a 80% com 1% de ácido clorídrico) proporcionou a maior extração de CFT para as três amostras analisadas acompanhado do método de extração nº 7 (água, acetona, etanol – v/v/v) que se destacou para as amostras de azedinha e capuchinha. Enquanto os métodos de extração nº 2 (etanol a 80%) e nº 9 (acetona a 80%), apresentaram os menores resultados de CFT, correspondendo em média a 25% dos valores encontrados pelo método nº 5 para as três plantas.

Alguns estudos, aplicando diferentes condições de extração de CFT, encontraram resultados semelhantes para as mesmas plantas. Feduraev et al. (2022), utilizando 1 g de azedinha em 40 mL de etanol a 70% aquecida em banho-maria a 60°C sob refluxo por 1 hora, com 3 ciclos de extração, encontrou um resultado de compostos fenólicos totais de 2.300mg GAE/100g de peso seco. Já Ceccanti et al., (2020) investigaram CFT em 4 diferentes cultivares de azedinha, utilizando 1 g de amostra com 4 mL de metanol e água (80:20, v/v) em ultrassom por 30 minutos a 4°C, encontraram valores inferiores a 1.000mg GAE/100 de peso seco para todos os cultivares analisados. Da mesma forma, um trabalho cuja extração foi obtida com 10 g de azedinha (seca em nitrogênio líquido e pulverizado), em 100 mL de etanol a 70%, misturados por 3 minutos e sonificado em banho gelado por 5 minutos usando uma sonda de titânio de 3 mm ajustada para 200 W e 30% de amplitude, com três ciclos de extração, obteve apenas 644,71 mg GAE/100g de peso seco (Cornara *et al.*, 2022). Quanto a capuchinha e o peixinho, Minighin (2023) utilizando as mesmas condições de extração do método nº 10 (metanol a 50% e acetona a 70%), encontrou 2.227,52 mg GAE/100g de peso seco e 2.543,36 mg GAE/100g de peso seco, respectivamente. Os resultados encontrados na literatura se aproximam aos do presente trabalho, no entanto, os resultados de extração proporcionados pelo método de extração nº 5 foram superiores aos encontrados na literatura, o que pode ser explicado pela adição de 1% de ácido clorídrico que ao acidificar o meio, melhora a eficiência da extração (Tabart et al., 2011; Vagiri et al., 2012), pois impacta na solubilidade do analito (Gao et al., 2012).

Os valores de CFT encontrados eram previstos visto que as folhas são consideradas excelentes fontes de compostos fenólicos (Milião *et al.*, 2022; Rodrigues; Mariutti; Mercadante, 2013a), e têm sido descritas como fontes de fitoquímicos, especialmente compostos fenólicos (Leal; Alves; Hanazaki, 2018b; Nieto *et al.*, 2020; Pires *et al.*, 2018).

Herrera-Pool *et al.* (2021) avaliaram os efeitos do ultrassom e da polaridade de diferentes solventes e concentrações (água, acetato de etila, hexano, acetona, metanol, acetona a 80%, metanol a 80%, 50% e 20%) na recuperação de compostos fenólicos de folhas de *Capsicum chinense* Jacq., uma pimenta cultivada na Península Mexicana, e observaram que o uso do metanol a 50% e 80%, acompanhado ou não do uso do ultrassom, promoveram a obtenção de maiores valores de CFT, quando comparado aos demais solventes, semelhante ao que foi encontrado no presente estudo. Avaliaram ainda a relação da constante dielétrica, que é um parâmetro de polaridade relacionado à interação molecular entre solventes e solutos, e sugeriram que a maior recuperação dos compostos fenólicos é obtida usando solventes com valores da constante dielétrica entre 35 e 52, sendo estas as constantes dielétricas obtidas pelos autores para o metanol a 80% e 50%, respectivamente.

Estes autores explicam ainda que solventes de baixa polaridade como o hexano, aceto de etila e a acetona apresentaram baixa resposta para a recuperação de CFT, visto que estes compostos são polares e apresentam melhor recuperação com o uso de solventes de alta polaridade, como por exemplo, metanol, metanol a 80%, metanol a 50%, metanol a 20% e acetona a 80%.

Quanto à capacidade antioxidante, é possível verificar na Tabela 13 que os extratos do método de extração nº 8 (metanol a 80%) apresentaram os resultados mais elevados para capacidade antioxidante pelo método de ABTS•+ para as três PANC, diferente do encontrado na análise de CFT, tal fato pode estar relacionado a presença de outros compostos com propriedades antioxidantes. Já os extratos do método nº 2, estão entre os menores valores encontrados pelo método de ABTS•+, semelhante ao que ocorreu na análise de CFT.

Já considerando-se o método de DPPH, os melhores resultados foram apresentados pelo método nº 1 (metanol a 50% + acetona a 70%) para a azedinha, método nº 1 e 8 para capuchinha e métodos nº 3 (metanol a 85%) e nº 8 para o

peixinho. Em contrapartida, entre os menores resultados estão os obtidos dos extratos do método nº 5 para as três PANC.

A reação entre compostos fenólicos e o radical DPPH pode ocorrer por uma combinação de mecanismos, alguns deles são transferência de elétrons acoplados a prótons e transferência de elétrons com perda de próton sequencial (Craft *et al.*, 2012). A ocorrência destes mecanismos depende do tipo de oxidante, solvente, pH e outras condições (Mishra; Ojha; Chaudhury, 2012; Xie; Schaich, 2014). O que poderia então explicar o resultado encontrado pelo método nº 5, visto que a solução extratora tinha um pH = 1,01, caracterizando uma maior concentração de íon hidrogênio, que gera a mudança do mecanismo dominante da cinética da reação DPPH/antioxidante de transferência de elétrons com perda sequencial de prótons (mecanismo mais rápido) para transferência de elétrons acoplados a prótons (mecanismo mais lento) que ocorre quando há aumento da concentração de íons hidrogênio (Dawidowicz; Olszowy, 2012).

A capacidade antioxidante pelo método de FRAP, alcançou os maiores resultados pelo método de extração nº 1 para a azedinha e capuchinha. As condições extrativas do método nº 10 (metanol a 50% e acetona a 70%) também proporcionaram o melhor resultado para a capuchinha. Enquanto o método nº 3 apresentou as condições extrativas mais favoráveis para a obtenção do maior resultado de capacidade antioxidante pelo método de FRAP para peixinho. As condições de extração do método nº 2, estão mais uma vez entre as menos favoráveis, proporcionando os menores resultados para análise de FRAP. O que parece demonstrar que as soluções extradoras contendo metanol são mais eficientes na extração dos compostos fenólicos e conseqüentemente na extração de antioxidantes, enquanto o etanol não se destaca neste sentido.

Outro ponto importante é que ao contrário dos outros métodos que se baseiam em transferência de um único elétron, a análise pelo método de FRAP é realizada em condições de pH ácido (pH=3,6) para manter a solubilidade do ferro. A reação em pH baixo diminui o potencial de ionização que impulsiona a transferência de elétrons e aumenta o potencial redox, causando uma mudança no mecanismo de reação predominante (Hagerman *et al.*, 1998). Contudo, o pH das soluções extratora parece não ter favorecido a reação, visto que os extratos obtidos pelo método nº 5, cujo era pH=1,01, não estavam entre os melhores resultados pelo método de redução do ferro – FRAP.

No geral, os valores encontrados demonstraram que diferentes métodos de extração podem gerar resultados distintos para uma mesma amostra e análise, mas todos contribuíram para demonstrar o potencial antioxidante das PANC, com maior destaque para os métodos nº 1,3,5,7,8 e 10. Todos estes métodos, com exceção do nº7, utilizaram soluções contendo metanol. Este solvente possui uma cadeia carbônica menor que a do etanol e da acetona, e por isso pode ser mais efetivo para a extração de compostos de elevada polaridade, o que explicaria a superioridade dos resultados obtidos pelos métodos que usaram metanol como um dos solventes (Freire *et al.*, 2013)

Um estudo conduzido por Mollica *et al.* (2022), analisando as propriedades biológicas de extratos de *Alstonia boonei*, popularmente conhecida como árvore de Deus, corroborou os achados do presente estudo em relação ao potencial do metanol em extrair maiores teores de compostos fenólicos e apresentar maior atividade antioxidante em comparação com a utilização de água e acetato de etila para extração.

Da mesma forma Herrera-Pool *et al.* (2021) encontraram os maiores resultados para capacidade antioxidante, quando utilizou metanol a 50% e 80%, acetona a 80% ao analisar folhas de pimenta. No geral, extratos obtidos com solventes de alta polaridade apresentam capacidade antioxidante mais elevada, a fase polar do extrato contribui para a inibição dos radicais ABTS^{•+} e DPPH através da transferência simples de elétrons e transferência de prótons (Prior; Wu; Schaich, 2005).

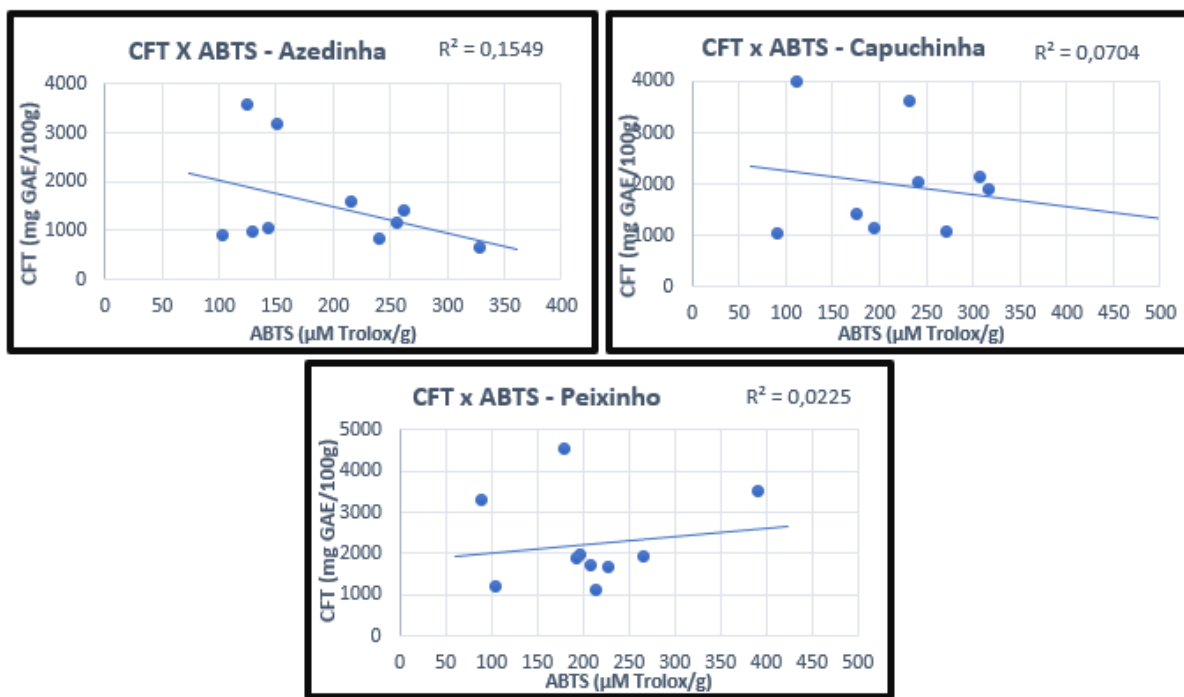
Estes resultados corroboram com os encontrados no presente trabalho, visto que os melhores resultados de CFT, ABTS, DPPH e FRAP foram obtidos majoritariamente dos extratos cujas soluções extratoras continham metanol a 50%, 80% e 85%.

5.3 Correlação do teor de compostos fenólicos totais com diferentes métodos de atividade antioxidante

De acordo com a Figura 16 é possível verificar, com base nas diferentes metodologias utilizadas que não houve correlação linear entre teor de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante pelo método de ABTS^{•+} para a maioria dos extratos. Nota-se que a correlação foi baixa para azedinha ($R^2 = 0,1549$), capuchinha ($R^2 = 0,0704$) e peixinho ($R^2 = 0,0225$). Os métodos de extração de nº 5 e 7 apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos, enquanto o método de

extração nº 8 apresentou os maiores resultados para capacidade antioxidante pelo método ABTS•+, mesmo com quantidade menores de compostos fenólicos.

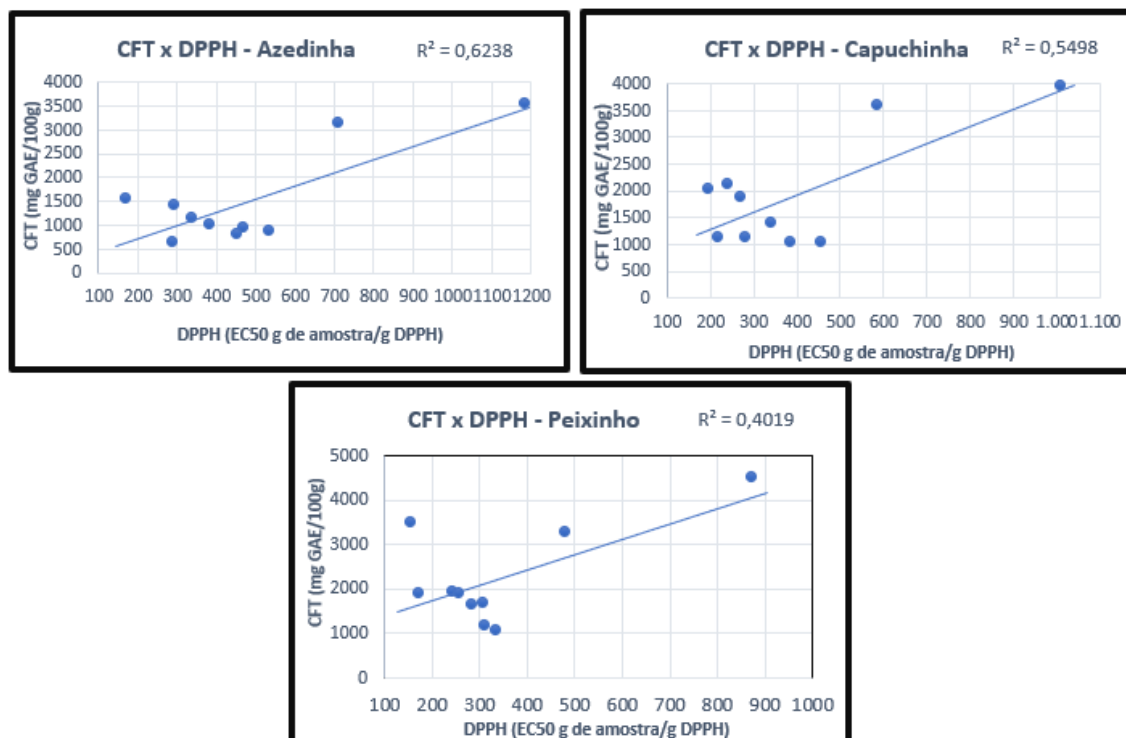
Figura 16 – Correlação entre compostos fenólicos totais e ABTS•+.



A figura 17, sugere que houve correlação linear entre os resultados de compostos fenólicos totais e DPPH para a maioria dos extratos. No entanto, é indispensável destacar que, embora os valores de correlação apresentados pela azedinha, capuchinha e peixinho ($R^2 = 0,6238$), ($R^2 = 0,5498$) e ($R^2 = 0,4019$), respectivamente tenham sido maiores aos apresentados pelas outras correlações, deve se levar em consideração que na análise de DPPH o valor do EC50 na determinação da capacidade antioxidante consiste na concentração do extrato necessária para diminuir 50% do radical DPPH, isto é, essa é a concentração de extrato necessária para diminuir em 50% a concentração inicial de radical DPPH (Sánchez-Moreno et al., 1998). Sendo assim, quanto menor o valor de EC50, maior o potencial antioxidante do extrato.

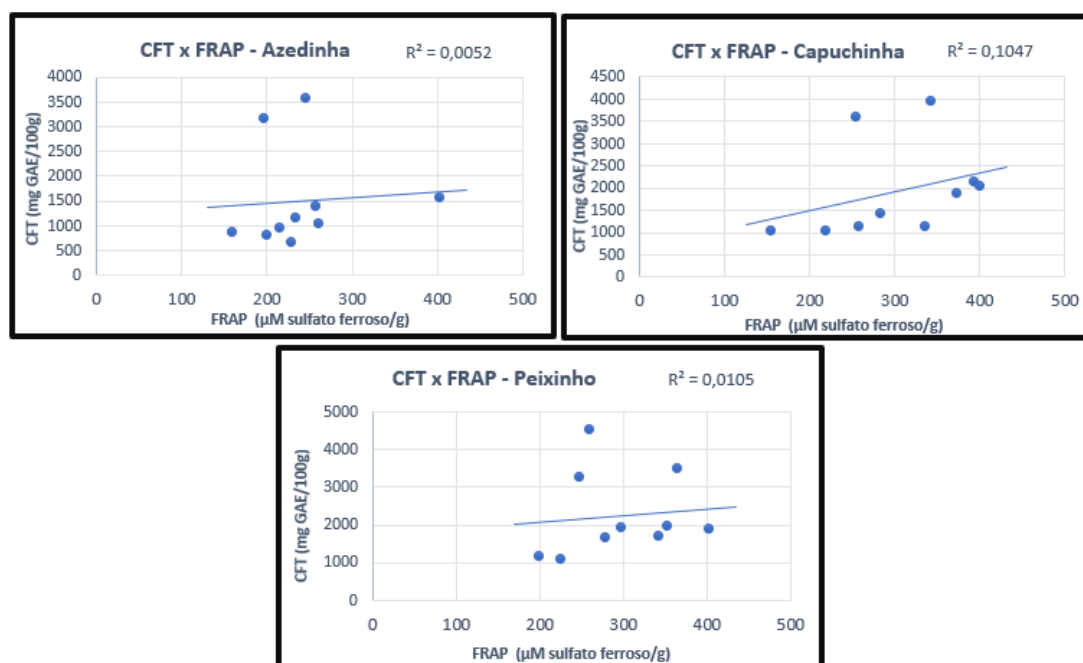
Portanto, os extratos provenientes dos métodos nº 1 da azedinha, nº 1 e 8 da capuchinha, nº 3 e 8 do peixinho apresentaram a maior capacidade antioxidante nas análises pelo método de DPPH, mesmo não apresentando os maiores teores compostos fenólicos.

Figura 17 – Correlação entre compostos fenólicos totais e DPPH



Na figura 18, observa-se também que não houve correlação linear entre os resultados de compostos fenólicos totais e FRAP para a maioria dos extratos, visto que os valores de correlação apresentados pela azedinha, capuchinha e peixinho ($R^2 = 0,0052$), ($R^2 = 0,1047$) e ($R^2 = 0,0105$), respectivamente, são muito baixos.

Figura 18 – Correlação entre compostos fenólicos totais e FRAP



As diferenças entre os melhores resultados encontrados para a análise de compostos fenólicos totais e para as análises de capacidade antioxidante podem ser explicadas, visto que as análises de capacidade antioxidante medem o efeito combinado de muitos antioxidantes que podem estar presentes nos extratos, não apenas de compostos fenólicos. A capacidade antioxidante de uma matriz vegetal não depende estritamente da concentração de fenólicos, mas sobretudo do potencial que cada molécula tem para agir como antioxidante, o que depende tanto da sua estrutura química quanto das interações moleculares que cada estrutura faz com outros constituintes do alimento, sejam eles macronutrientes ou micronutrientes (Altunkaya et al., 2009; Hidalgo; Sánchez-Moreno; De Pascual-Teresa, 2010; Panya et al., 2012).

Uma provável explicação pode estar também na composição fenólica de cada extrato e o fato de a capacidade antioxidante ocorrer por múltiplas reações e mecanismos distintos de seus constituintes antioxidantes (Tabart *et al.*, 2009). Ademais, cada composto fenólico pode contribuir de maneira diferente para a capacidade antioxidante geral, o que pode gerar uma variação significativa entre os ensaios antioxidantes (Heim; Tagliaferro; Bobilya, 2002).

Os compostos fenólicos são conhecidos por seus múltiplos benefícios para a saúde. Eles têm sido associados ao auxílio no tratamento de várias condições médicas, incluindo câncer, diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares (Manivannan *et al.*, 2018). Adicionalmente, os compostos fenólicos podem ter um impacto positivo na microbiota intestinal. Eles podem ajudar no equilíbrio, reduzindo assim o risco de várias doenças crônicas associadas à disbiose intestinal, como obesidade e doenças inflamatórias (Quatrin *et al.*, 2019).

As diferentes características e mecanismo de ação dos compostos bioativos, os reagentes, os princípios dos métodos extrativos e até mesmo, possíveis erros de análises são as possíveis explicações para que um mesmo extrato não apresente os melhores resultados em todas as análises (Melo *et al.*, 2006).

5.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS EXTRATOS POR UPLC.

Após obtenção dos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho, estes foram analisados por cromatografia líquida de ultra eficiência, por detector DAD para a identificação e quantificação dos grupos dos ácidos fenólicos e flavonoides presentes nas amostras, após serem extraídos com diferentes métodos de extração. Os teores

mais elevados de ácidos fenólicos totais e flavonoides da azedinha foram obtidos por meio do método de extração nº 5, $235,63 \pm 7,65$ mg/100g e $306,81 \pm 22,01$ mg/100g, respectivamente.

As condições de extração dos métodos nº 1,6,4,8,10 e 3 proporcionaram as melhores condições de extração para os ácidos fenólicos para a capuchinha (média de $847,56 \pm 37,07$ mg/100g) sem diferença significativa ($P < 0,05$) entre eles e os métodos nº 1 e 5 apresentaram em média $26,93 \pm 1,14$ mg/100g de flavonoides. O emprego dos métodos nº 4,8,1,3,6 e 10 possibilitou os teores mais elevados de ácidos fenólicos para o peixinho com uma média de $528,06 \pm 19,40$ mg/100g e os métodos nº 1 e 5 apresentaram $52,50 \pm 6,78$ mg/100g de flavonoides. Analisando estes resultados foi possível observar que para as amostras capuchinha e peixinho, alguns métodos foram similares quanto eficiência de extração de ácidos fenólicos.

5.5 PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS OBTIDOS PELO DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Foram elaboradas duas curvas de calibração, curva A composta por dois padrões (ácido clorogênico e catequina) analisada pelo método A e a curva B composta por nove padrões (ácido caféico, ácido ferúlico, ácido p-coumárico, apigenina, campferol, epicatequina, miricetina, quercetina e rutina) analisada pelo método B. Para a quantificação dos compostos fenólicos fracionados, utilizaram-se as áreas dos picos de cada um deles e estabeleceram-se as curvas de calibração dos padrões injetados vide Tabela 14 e 15.

Tabela 14 - Curva de calibração de padrões (Método A) de compostos fenólicos usados na quantificação dos compostos presentes nos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho

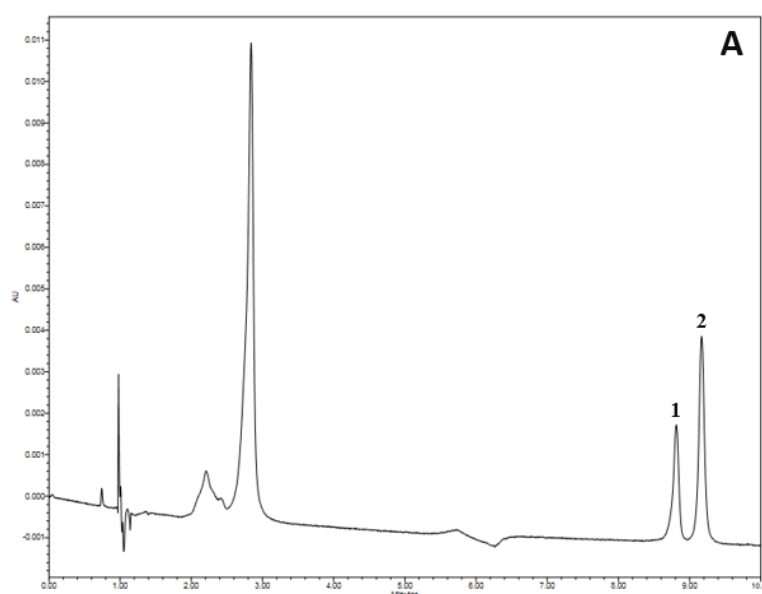
Nome do composto	Concentração (µg/mL)	Equação da reta	T _R (min)	Comprimento de onda (nm)	R ²
Catequina	1-7	y=2854,5x	8,57	279	0,9991
Ácido Clorogênico	1-7	y=12119x	8,91	325	0,9994

Tabela 15 - Curva de calibração de padrões (Método B) de compostos fenólicos usados na quantificação dos compostos presentes nos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho

Nome do composto	Concentração (µg/mL)	Equação da reta	T _R (min)	Comprimento de onda (nm)	R ²
Ácido Caféico	1-7	y=18660x	3,48	322	0,999
Epicatequina	1-7	y=2473,6x	4,17	277	0,9986
Ácido p-coumárico	1-7	y=26351x	6,43	309	0,999
Ácido Ferrúlico	1-7	y=20008x	9,18	322	0,9993
Rutina	1-7	y=7802,5x	12,68	354	0,9994
Miricetina	1-7	y=13489x	13,56	372	0,9949
Quercetina	1-7	y=12270x	15,58	372	0,996
Apigenina	1-7	y=27344x	18,48	338	0,9989
Campferol	1-7	y = 27987x	19,26	366	0,9938

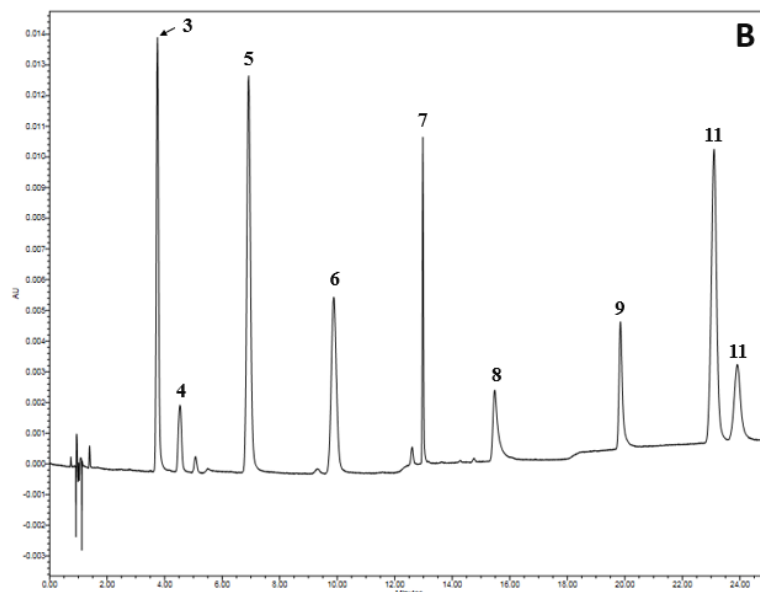
As Figuras 15 e 16 representam os cromatogramas oriundos das curvas de calibração padrão A e B, respectivamente.

Figura 19 - Cromatograma (A) – Curva de calibração padrão (Método A)



(1) Catequina; (2) Ácido clorogênico

Figura 20 - Cromatograma (B) – Curva de calibração padrão (Método B)

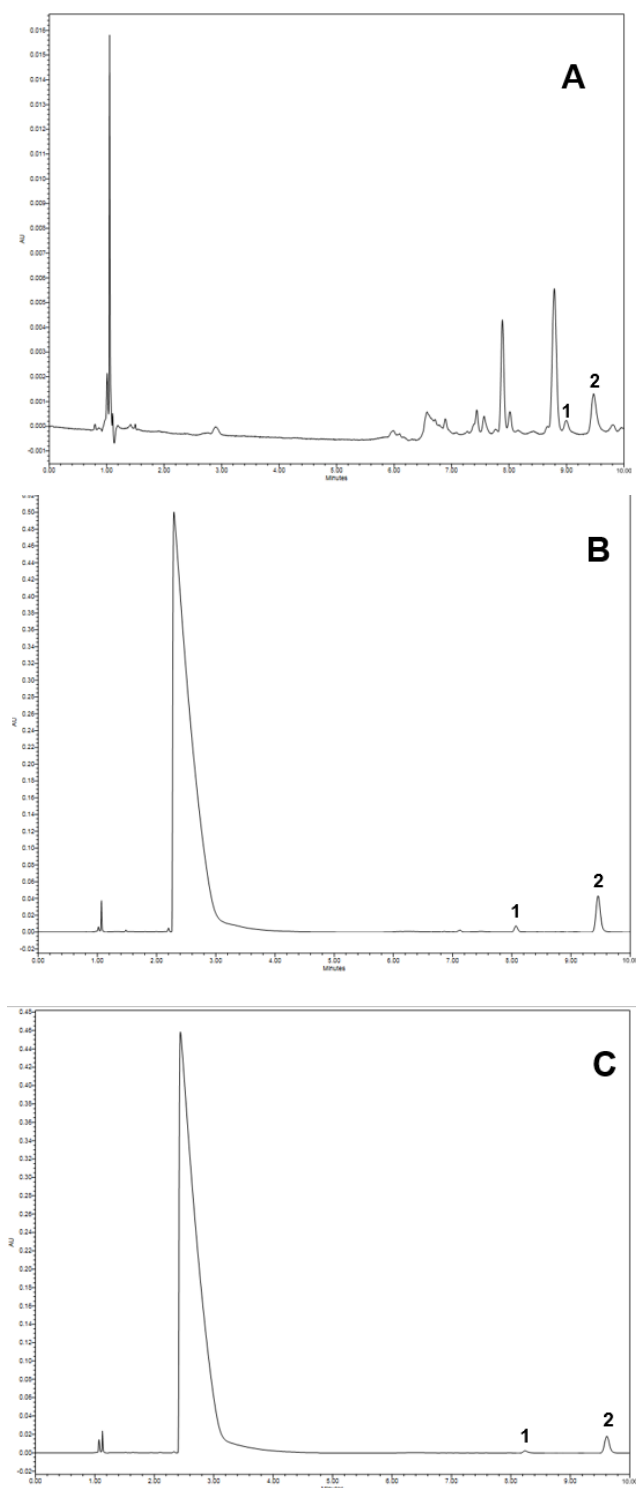


(3) Ácido Caféico; (4) Epicatequina; (5) Ácido p-coumárico; (6) Ácido Ferúlico; (7) Rutina; (8) Miricetina; (9) Quercetina; (10) Apigenina; (11) Campferol.

A identificação dos compostos baseou-se na comparação dos tempos de retenção e espectros UV-VIS com os padrões. A quantificação foi realizada por calibração com 11 padrões externos de compostos fenólicos por dois métodos distintos (A e B). Dentre os 11 padrões estudados, 10 compostos foram identificados nos diferentes extratos, obtidos das três plantas empregando-se os dez diferentes métodos de extração. As condições extrativas dos métodos utilizados no presente estudo não contribuíram para a extração e identificação do campferol nas três plantas.

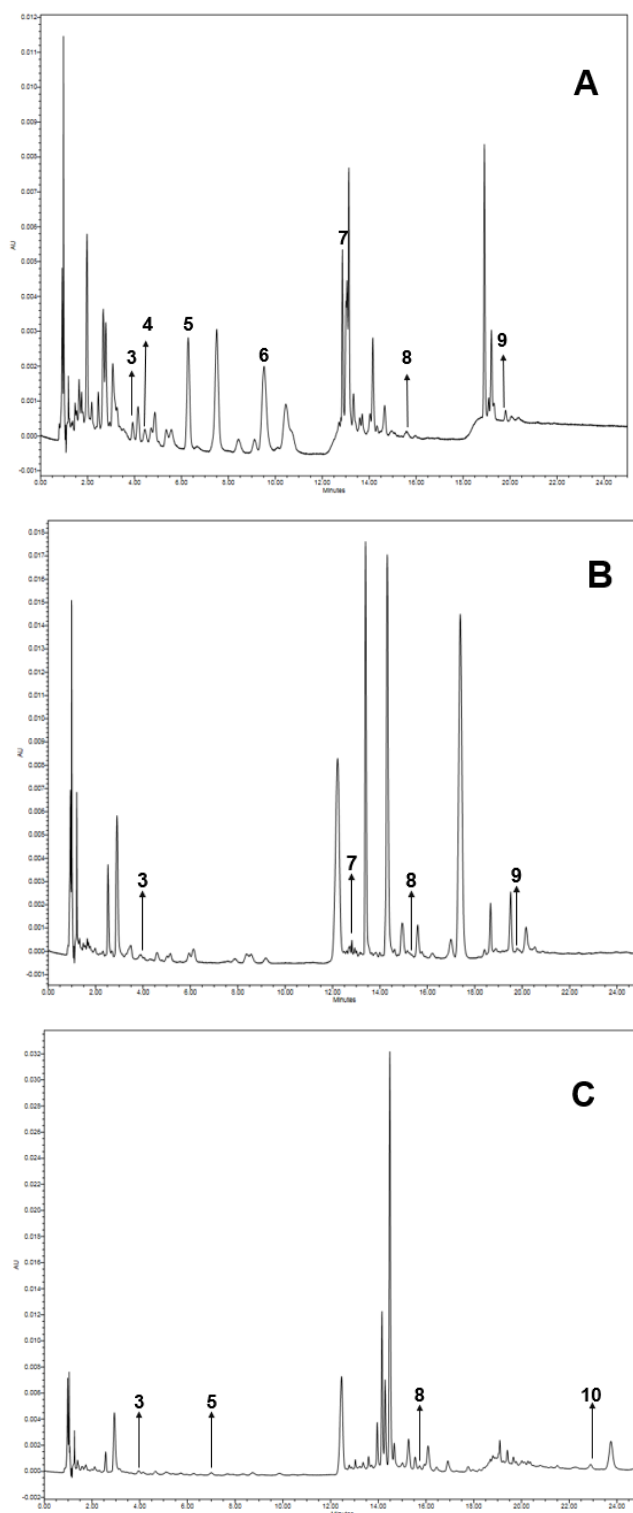
Nas Figuras 17 e 18 são apresentados os cromatogramas dos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho obtidos pelos métodos A e B de análise de compostos fenólicos. Observando os cromatogramas apresentados verificou-se a presença de muitos picos sem identificação, portanto, a atividade antioxidante dos extratos certamente não está relacionada apenas aos ácidos fenólicos identificados. O aparecimento de muitos picos sem identificação pode ser explicado pela não purificação deste extrato. De acordo com Manach e Donovan, (2004) e Shahidi et al. (2007), os compostos fenólicos presentes nos vegetais encontram-se majoritariamente na forma de glicosídeos, isto é, ligados a açúcares, necessitando de tratamentos prévios que rompam essas ligações para permitir uma melhor identificação dos compostos. Além disso, são necessárias técnicas com melhor poder de resposta para que se possa reconhecer a real composição dos compostos fenólicos ligados, não apenas das agliconas.

Figura 21 – Cromatograma do perfil de compostos fenólicos referente ao método A (271nm)



(1) Catequina, (2) Ácido clorogênico. (A) Extrato de azedinha - método nº 5, (B) Extrato de capuchinha - método nº 1, (C) Extrato de peixinho - método nº 4

Figura 22 - Cromatograma do perfil de compostos fenólicos referente ao método B (277nm).



(3) Ácido caféico, (4) Epicatequina, (5) Ácido p-coumárico, (6) ácido ferúlico, (7) Rutina, (8) Miricetina, (9) quercetina, 10 (Apigenina). (A) Extrato de azedinha - método nº 5, (B) Extrato de capuchinha - método nº5, (C) Extrato de peixinho - método nº 5.

Os resultados da determinação por cromatografia líquida de ultra eficiência dos compostos fenólicos individuais presentes nos diferentes extratos das três PANC estão apresentados na Tabela 16.

Epicatequina (mg/100g)	Ra	ND	ND	ND	ND	14,23±2,90	ND	ND	ND	ND	ND
	Tm	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Sb	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Rutina (mg/100g)	Ra	172,82±4,4 _{3abc}	152,47±2,7 _{4bcd}	178,20±6,8 _{5ab}	155,70±6,8 _{5bc}	169,02±11,4 _{1abc}	185,64±15,14 _{ab}	132,40±2,3 _{3e}	190,40±5,3 _{6a}	142,66±8,0 _{4de}	167,63±1,8 _{5bc}
	Tm	2,86±0,19 ^a	1,74±0,04 ^d	2,10±0,09 ^c _d	2,79±0,08 ^a _b	0,98±0,25 ^e	2,43±0,37 ^a _{bc}	2,02±0,15 ^d _c	2,33±0,23 ^a _{bc}	2,28±0,12 ^b _c	2,37±0,05 ^a _{bc}
	Sb	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Miricetina (mg/100g)	Ra	4,81±0,31 ^a _b	4,08±0,26 ^b _c	4,56±0,50 ^a _b	5,01±0,22 ^a	2,21±0,12 ^e	4,20±0,22 ^b _c	3,19±0,27 ^d	4,76±0,25 ^a _b	3,48±0,27 ^c _d	4,18±0,15 ^b _c
	Tm	1,29±0,10 ^a _{bc}	1,13±0,15 ^b _c	1,29±0,12 ^a _{bc}	1,14±0,12 ^a _{bc}	0,98±0,29 ^c	1,25±0,17 ^a _{bc}	1,13±0,08 ^b _c	1,52±0,00 ^a _b	1,55±0,12 ^a	1,23±0,11 ^a _{abc}
	Sb	6,10±0,26 ^a _b	1,77±0,12 ^e	3,72±0,46 ^c _d	5,25±0,55 ^b	6,51±0,38 ^a	4,34±0,19 ^c	3,25±0,08 ^d	3,85±0,31 ^c _d	1,98±0,04 ^e	3,15±0,11 ^d
Quercetina (mg/100g)	Ra	ND	0,53±0,03 ^b	ND	ND	4,50±0,28 ^a	ND	ND	ND	ND	ND
	Tm	1,11±0,16 ^{bc}	1,05±0,17 ^b _c	1,32±0,08 ^b	1,18±0,12 ^b	13,26±1,15 _a	1,14±0,37 ^b _c	1,06±0,04 ^b _c	-	0,84±0,10 ^b _c	0,88±0,02 ^b _c
	Sb	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Apigenina (mg/100g)	Ra	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Tm	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Sb	51,21±1,03 _a	7,01±0,81 ^e	18,76±1,03 _{de}	34,19±7,28 _{bc}	41,18±3,86 _{ab}	33,29±3,53 _{bc}	26,09±0,79 _{cd}	18,11±10,4 _{3de}	9,96±0,14 ^e	24,72±2,10 _{cd}

Valores expressos na mesma linha seguidos de letras diferentes indicam diferença estatística ($p \leq 5\%$) pelo teste de Tukey. Valores médios $\pm$ desvio padrão ($n = 3$). Resultados expressos em base seca. ND – Não determinado. Métodos de extração: 1 (Metanol a 50% e acetona a 70%, 30 min. de US); 2 (Etanol a 80%, 10 min. de US); 3 (Metanol a 85%, 10 min. de agitação a 120 rpm, a 42 °C); 4 (Metanol a 50% acidif. c/ ácido acético até pH 2 e acetona a 70%); 5 (Metanol 80% acidif. c/ 1% ácido clorídrico e acetona a 70%, 30 min. de US); 6 (Acetonitrila e água acidificada c/ ácido acético 2%, 50:50, 5 min. de US, 15 min. de agitação a 120 rpm, a 25 °C); 7 (Água, acetona e etanol, v/v/v, 45 min. de agitação a 120 rpm, a 45 °C); 8 (Metanol a 80%); 9 (Acetona a 80%) e 10 (Metanol a 50% e acetona a 70%).

No geral, a maioria dos métodos que promoveram a extração de elevados teores de ácidos fenólicos e flavonoides, tinham como solvente extrator uma solução aquosa de metanol em diferentes concentrações, com exceção ao método nº 6, cuja solvente extrator era uma solução de acetonitrila com água acidificada. Neste sentido, Herrera-Pool et al. (2021), encontraram diferenças significativas na recuperação de compostos fenólicos específicos nas análises cromatográficas, sendo que a extração com metanol a 50% em banho ultrassônico foi adequada para uma melhor recuperação de ácidos fenólicos, e o uso de acetona a 80%, empregando-se o ultrassom e também com o uso do banho-maria, mostrou-se mais favorável para a recuperação de flavonoides. Estes resultados diferem dos encontrados no presente trabalho, pois, embora o método nº 9, cuja solução extratora é acetona a 80%, tenha extraído flavonoides como catequina, rutina, miricetina e apigenina, seus extratos não apresentaram os teores mais elevados. Neste sentido, foi observado que nem sempre um método será capaz de extrair um maior número de compostos fenólicos e em maiores concentrações, a exemplo do que foi observado quando se empregou o método nº 9. A extração nestas condições permitiu identificar 9 compostos fenólicos, mas estes foram quantificados em teores mais baixos comparando-se a outros métodos de extração do presente trabalho.

As misturas de solventes polares também podem ser usadas para a recuperação de compostos fenólicos. Diferentes solventes, como água, acetona, metanol, etanol, acetonitrila, sozinho ou misturados, podem ser usados para a obtenção de alto rendimento de fenólicos, mas a escolha pode influenciar na composição final e na atividade antioxidante do extrato (Heleno et al., 2015; Khoddami; Wilkes; Roberts, 2013; Martins et al., 2015). Solventes como o metanol possui uma polaridade significativamente menor ao comparar com a água e isso favorece a solubilidade e a difusão dos compostos fenólicos pela diminuição da constante dielétrica do solvente. Os solventes polares apresentam melhor eficiência no processo de solvatação em decorrência das interações (pontes de hidrogênio) entre os sítios polares dos compostos e o solvente (Thouri et al., 2017).

Enquanto o uso de solventes orgânicos puros pode provocar à desidratação, o colapso das células vegetais, e ainda a desnaturação das

proteínas da parede celular. Esses fatores juntos podem dificultar a extração eficiente de compostos fenólicos (Garcia-Castello *et al.*, 2015). A mistura da água, um solvente altamente polar, com solventes de menor polaridade pode formar uma combinação mais eficiente para a extração (Peixoto Araujo *et al.*, 2019). A água pode ainda atuar como um agente capaz de entumecer a matriz vegetal, aumentando a superfície de contato, enquanto o metanol, por exemplo, induz a ruptura da ligação entre os solutos e a matriz (Şahin; Şamli, 2013).

Ainda neste contexto, a solubilidade de compostos fenólicos em diferentes solventes relaciona-se a diferentes parâmetros e não apenas a sua solubilidade, como por exemplo a estereoquímica dos compostos, que diz respeito aos aspectos tridimensionais das moléculas, e as forças intermoleculares entre eles e o solvente (Katsampa *et al.*, 2015). A extração pode variar de acordo com a natureza da matriz da amostra e das propriedades químicas dos fenólicos desejados (nº de anéis aromáticos e grupos hidroxila em sua estrutura, polaridade e concentração) (Justino *et al.*, 2022).

É necessário salientar ainda a interação do solvente com o sistema de extração, visto que as características físicas do solvente afetam a cavitação, pois as cavidades são mais facilmente produzidas quando é utilizado um solvente de alta pressão com baixa viscosidade e baixa tensão superficial (Corbin *et al.*, 2015).

Outro ponto importante é a adição de ácidos a solução extratora. Ácidos, como ácido clorídrico, acético e fórmico, são frequentemente usados para acidificar o ambiente e melhorar a eficiência da extração (Tabart *et al.*, 2011; Vagiri *et al.*, 2012). Foi identificado que o pH é um fator crítico que influencia a eficiência da extração visto seu impacto na solubilidade do analito e na densidade de carga dos extratos e solventes (Gao *et al.*, 2012).

Um trabalho desenvolvido por Xia *et al.* (2024) que buscava extrair ácidos fenólicos de *Prunella vulgaris*, uma planta medicinal e alimentícia, observou que quando o pH era 1, o rendimento de extração do ácido rosmarínico aumentava, demonstrando que a mudança no pH pode exercer um grande efeito na taxa de extração dos ácidos fenólicos. Isso poderia explicar o fato de que os fenólicos possuem uma tendência a assumir formas moleculares sob condições ácidas

($\text{pH} < \text{pK}_a$), o que permite que eles sejam mais facilmente extraídos (Gopal *et al.*, 2020).

O presente trabalho utilizou três métodos cuja solução extratora era adicionada de ácidos, nos métodos nº 4 e 6, houve a adição de ácido acético e o pH das soluções extratoras ficaram em $2,00 \pm 0,01$ e $2,82 \pm 0,01$, respectivamente, enquanto o método nº 5, houve adição de ácido clorídrico e a solução extratora apresentou um pH de $1,01 \pm 0,01$. Estes métodos apresentaram bons resultados de extração para ácidos fenólicos (método nº 4 e 6) e flavonoides (método nº 5).

Outro parâmetro que podem ter contribuiu para a extração de maior número de compostos pelos métodos nº 1 e 6 é a utilização do banho ultrassônico. A extração assistida por ultrassom é capaz de induzir uma série de compressões e rarefações nas moléculas do solvente de extração, gerando a formação de bolhas, em função de mudanças de temperatura e pressão, que podem ajudar a liberar os compostos fenólicos das células vegetais, tornando a extração mais eficiente (Shirsath; Sonawane; Gogate, 2012).

Diversos mecanismos estão relacionados ao ultrassom como a fragmentação devido as colisões entre partículas e ondas ultrassônicas, que levam a redução do tamanho das partículas, favorecendo a transferência de massa e o acesso rápido do solvente aos materiais celulares das plantas (Chemat; Zill-E-Huma; Khan, 2011; Mason; Paniwnyk; Lorimer, 1996). A erosão que potencializa a acessibilidade do solvente ao implodir as bolhas na superfície da matriz vegetal (Chemat *et al.*, 2017; Petigny *et al.*, 2013). A sonocapilaridade e a sonoporação, responsáveis por melhorar a penetração do líquido através dos canais produzidos pela implosão da bolha e a alteração da permeabilidade das membranas celulares, nesta ordem. Além do cisalhamento que colapsa a bolha de cavitação no fluido, devido ao fenômeno da oscilação (Chemat *et al.*, 2017).

Vale destacar ainda, que o ultrassom é uma técnica rápida com mínima degradação dos compostos fenólicos quando comparado a outros métodos (Vinatoru, 2001), aumenta a taxa de solubilidade dos compostos no solvente usado na extração, reduzindo assim o volume de solvente necessário para alcançar a recuperação completa dos compostos fenólicos. No entanto, longos

períodos de sonicação, superiores a 40 minutos, com um nível de energia acima de 20 kHz, podem prejudicar a extração, devido à diminuição da área e da taxa de difusão e ao aumento da distância de difusão (Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021). Trabalho conduzido por Annegowda et al. (2010), que investigou a influência da sonicação no conteúdo fenólico e na atividade antioxidante das folhas de *Terminalia catappa* L, demonstrou que o rendimento da extração, bem como os fenólicos totais e flavonoides totais aumentaram rapidamente de 20 a 40 minutos de sonicação e começaram a diminuir conforme a sonicação foi prolongada. Os autores acreditam que isso se deve à decomposição dos compostos por sonicação prolongada ou em função do efeito de enxágue inicial da sonicação, que facilitou a liberação da maior parte dos constituintes ativos dentro das células para o solvente ao longo dos primeiros 40 minutos.

Outro fator que pode melhorar a extração é a combinação de técnicas extrativas quando uma única técnica não é suficiente, portanto, a junção de diferentes métodos pode ser adequada para extrair com mais eficiência, fornecendo acesso a compostos fenólicos adicionais (Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2018; Osorio-Tobón, 2020). Este sinergismo de ação foi executado no método nº 6, combinando o banho ultrassônico com a agitação, o que contribuiu com o processo extrativo.

Em relação à temperatura, o aumento deste parâmetro correlaciona-se com melhorias nos rendimentos de extração em razão da indução de rupturas de ligações da matriz (Celli; Ghanem; Brooks, 2015), aumento da solubilidade do composto, taxa de difusão do solvente, transferência de massa e redução da viscosidade e tensão do solvente (Hossain *et al.*, 2011).

Portanto, as temperaturas de 35 °C alcançadas nos métodos nº 1 e 6 e 42°C para o método nº 3, podem influenciaram positivamente o processo de extração. Carrera et al. (2012) avaliaram a influência dos efeitos da temperatura de extração (0–75°C) na extração de compostos fenólicos totais em uvas e observaram que a temperatura de 10°C produziu recuperações de compostos fenólicos totais superiores com diferenças significativas ($p < 0,05$) quando comparadas as temperaturas de 20°C, 50°C e 75°C. Os autores explicam que a recuperação deve aumentar com o aumento da temperatura de extração, no entanto, os processos de degradação também aumentaram devido ao oxigênio

e à atividade enzimática pelo menos a 30 – 40°C. Outro ponto discutido pelos autores é que o uso de temperaturas mais altas podem provocar altas perdas de solvente, alterando a proporção sólido/líquido, produzindo então baixas repetibilidades.

A utilização de altas temperaturas pode ainda diminuir a constante da taxa de extração, devido à redução na intensidade da cavitação como resultado da menor tensão superficial e do aumento da pressão de vapor das bolhas de cavitação (Tao; Zhang; Sun, 2014).

Enfim, em relação à união dos parâmetros acima citados, e considerando-se a amostra de azedinha, a utilização de uma solução extratora aquosa de metanol a 80% acidificado com ácido clorídrico juntamente com a etapa de 30 minutos de banho ultrassônico foram preponderantes para que o método nº 5 fosse o mais eficiente para a extração de ácidos fenólicos na presente matriz.

Os resultados dos teores de flavonoides presentes nas três amostras em função dos diferentes métodos de extração empregados, apresentaram-se mais homogêneos conforme pode ser observado na Tabela 16. Os métodos de extração nº 1 e 5 apresentaram-se mais eficientes para as três PANC. Interessante observar que ambos os métodos possuíam uma etapa de 30 minutos de banho ultrassônico, enquanto diferiam-se em relação as suas soluções extradoras e quantidade de ciclos de extração. No método nº 1 empregou-se uma solução aquosa de metanol a 50% juntamente com solução aquosa de acetona a 70% e quatro ciclos de extração, enquanto no método nº 5 foi utilizada uma solução de metanol a 80 acidificado com HCl e dois ciclos de extração.

Trabalho desenvolvido por Vieira et al. (2022), que comparou diferentes extratos de folhas de chuchu preparados com maceração, micro-ondas e ultrassom, observou que este último apresentou melhor eficácia de extração de compostos fenólicos totais. Um estudo realizado Chen; Yang (2020) que após a extração por ultrassom examinou a estrutura morfológica da superfície das folhas de kiwi, observou a destruição celular, enquanto a maceração resultou apenas em poros celulares rompidos ligeiramente, o que poderia explicar a baixa eficiência de extração por maceração.

Dentre os compostos analisados, o ácido clorogênico ($T_R = 9,2$ min) foi o ácido fenólico majoritário extraído pelos 10 métodos de extração para as três amostras. As condições de extração dos métodos nº 1,3,4,6,8 e 10 proporcionaram as melhores extrações de ácido clorogênico, sem diferença significativa entre eles ($P < 0,05$) para a capuchinha e o peixinho. Vale destacar que em todos estes métodos foram utilizadas soluções aquosas de metanol (concentrações variadas, com ou sem adição ácido), exceto o método nº 6, que usou solução aquosa de acetonitrila com ácido acético. Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) entre os teores de ácido clorogênico encontrado nos extratos de azedinha obtidos pelos dez métodos utilizados.

O ácido clorogênico, amplamente presente no café e em diversas frutas, tem sido associado à prevenção de doenças. Observa-se uma relação inversa entre o consumo desses alimentos ricos em ácido clorogênico e a incidência de certas condições de saúde. Isso sugere que o ácido clorogênico pode desempenhar um papel na prevenção de doenças como diabetes, doenças cardíacas e outras condições relacionadas ao estresse oxidativo (Garambone; Rosa, 2008).

Em relação aos teores de ácido caféico ($T_R = 3,77$ min) os resultados variaram de acordo com método de extração. Os teores mais elevados foram observados para o método de extração nº 5 para o extrato de azedinha, enquanto os métodos de nº 5 e 8 apresentaram teores de ácido caféico mais elevados para peixinho, sem que houvesse diferença significativa ($P < 0,05$) entre eles. Os métodos de extração nº 1,3,7,10,9,8 e 5 apresentaram os teores mais elevados de ácido caféico para os extratos de capuchinha, sem diferença significativa entre eles ($P < 0,05$).

Há indícios de que os ácidos clorogênico e caféico, ambos encontrados nas três PANC deste estudo, reduzem a produção de espécies reativas de oxigênio induzida pelos três estimulantes H2O2, PMA e FMLP de maneira dependente da concentração. O H2O2 é um composto-chave no metabolismo de radicais livres, pois pode ser transformado em outros que geram espécies reativas de oxigênio na célula, já o PMA é um éster de forbol que atua como um promotor de tumor e o FMLP é um peptídeo quimiotático liberado por bactérias

durante a infecção, todos estes estimulam a geração de geram espécies reativas de oxigênio por mecanismos diferentes (Pérez-García; Adzet; Cañigual, 2000). Estão ainda relacionados com a proteção ao estresse oxidativo induzido in vitro, nas células hepáticas de ratos ampliando assim as indicações da importância bioativa das PANC (Gebhardt, 1998).

Em relação ao ácido p-coumárico ($T_R = 6,95$ min), mais uma vez o método de extração nº 5 apresentou o teor mais elevado para azedinha. Enquanto os métodos de extração nº 10,3,6 e 1 apresentaram os teores mais elevados para capuchinha e peixinho. O ácido p-coumárico é encontrado principalmente em frutas, vegetais e gramíneas na forma de ácido esterificado ou livre (Mussatto; Dragone; Roberto, 2007). Este composto possui atividades antioxidantes, antimicrobianas, antitumorais e anti-inflamatórias, o que revela seu grande potencial para a aplicação nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêuticas (Kheiry *et al.*, 2019).

As condições extrativas dos métodos nº 1,3,4,5,8 e 10 contribuíram para a quantificação de teores mais elevados de ácido ferúlico ($T_R = 9,93$) na azedinha, sem que houvesse diferença significativa entre eles ($P < 0,05$). O método de extração nº 6 extraiu teores mais elevados deste ácido para a amostra de peixinho. As condições extrativas empregadas nos métodos de extração nº 2,5,8 e 9 não contribuíram de forma eficiente para a extração de ácido ferúlico em condições suficientes para serem quantificados.

Sytar *et al.* (2018) realizaram a extração usando 0,20mg de peixinho e 0,75 mL de metanol 70% acidificado com ácido fosfórico em um banho de água ultrassônico no gelo e quantificaram ácido clorogênico (0,2mg/100g base seca), ácido p-coumárico (0,6 mg/100g base seca) e ácido ferúlico (0,1 mg/100g base seca), resultados inferiores aos encontrados neste trabalho. Já Benedec *et al.* (2023) investigaram os teores de compostos fenólicos em peixinho, utilizando etanol a 70% e ultrassom por 30 minutos, utilizando a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem e foi quantificado ácido clorogênico (201,9 mg/ 100), ácido p-coumárico (0,44 mg/100g), ácido ferúlico (0,35 mg/100g) e epigenina (2,73mg/100g), todos expresso em peso seco. Tais resultados são inferiores aos melhores resultados apresentados neste trabalho,

mas eles se aproximam a alguns resultados, como por exemplo, o emprego do método nº 5 (metanol a 50% e acetona a 70%) que contribuiu para a obtenção de extratos de peixinho com 222,25 mg/100g de ácido clorogênico, o método nº 9 (acetona a 80%) que permitiu a quantificação de 1,16 mg/100g de ácido p-coumárico, já o método nº 1 (metanol a 50% e acetona a 70%) proporcionou a quantificação de 0,76mg/100g de ácido ferúlico e o método nº 2, que utilizou solução extratora de etanol a 80% propiciou a quantificação de 7,01 mg/100g de epigenina. Vale destacar que o trabalho de Benedec *et al.* (2023), investigou a presença de rutina, mas não foi detectado, semelhantemente ao presente trabalho, onde nenhum dos extratos apresentaram rutina.

O ácido ferúlico está presente em sementes e folhas, tanto em sua forma livre quanto conjugado covalentemente aos polissacarídeos da parede celular da planta, glicoproteínas, poliaminas, lignina e ácidos graxos hidroxilados(Kumar; Pruthi, 2014). Exibe uma ampla variedade de atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antialérgica, hepatoprotetora e anticancerígena(KROON; WILLIAMSON, 1999).

Estudos indicam que o consumo de ácidos hidroxicinâmicos inibe consideravelmente a absorção de glicose e aumenta a produção hormonal de GPL-1, propondo um papel potencial desses ácidos fenólicos na prevenção do diabetes tipos 2 (Bassoli et al., 2008; Johnston et al., 2005; Johnston; Clifford; Morgan, 2002, 2003; Mccarty, 2005).

Kuceova et al., (2011) investigaram o teor de ácido p-coumárico, ácido ferúlico, ácido caféico, rutina e catequina em flores de azedinha usando metanol a 90% (2 mL/g) para extração por 30 minutos a 4°C, com três ciclos de extração. Neste estudo apenas catequina foi quantificada (7,54 mg/100g, base seca) enquanto no presente trabalho, todos os compostos foram identificados nas folhas de azedinha. Já Feduraev et al. (2022) ao investigarem os teores dos ácidos clorogênico, caféico, p-coumárico e catequina, encontrou os seguintes teores de ácido clorogênico e ácidos p-coumárico 121 mg/100 g e 15 mg/100 g em base seca, respectivamente. Tais valores estão bem próximos aos encontrados neste trabalho.

Em relação aos flavonoides, identificamos 6 compostos diferentes (catequina, epicatequina, rutina, miricetina, quercetina e apigenina). Os flavonoides são reconhecidos por seus benefícios à saúde e propriedades funcionais. Eles representam a maior classe de compostos fenólicos encontrados na natureza. Esses compostos são uma parte essencial da dieta humana e são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas (Karak, 2019; Pires *et al.*, 2019; Vuolo; Lima; Maróstica Junior, 2019) .

As maiores concentrações de catequina ($T_R = 8,84$ min) foram obtidas por meio das condições extrativas do método nº 5 para a azedinha e do método nº 1 para capuchinha. Em contrapartida, em nenhum dos extratos de peixinho foi possível quantificar a catequina. Quanto epicatequina ($T_R = 4,55$), esta foi quantificada apenas no extrato de método nº 5 da azedinha. A apigenina ($T_R = 23,10$ min) foi identificada apenas nos extratos do peixinho, com destaque para os métodos de nº 1 e 5, entre os quais não houve diferença significativa.

Estudo conduzido por Bahadori et al. (2020) investigou os teores de vários compostos fenólicos presentes nas folhas, caules e flores de peixinho, por meio de decocção com água fervente, e dentre os compostos quantificados estavam catequina, epicatequina, rutina e campferol, compostos que não foram encontrados no presente trabalho, o que sugere que as condições extrativas dos dez métodos não foram suficientes para extrair tais compostos. Isso destaca a importância de otimizar as condições de extração para obter um perfil mais completo dos compostos fenólicos presentes nas plantas.

Elevados teores de rutina foram obtidos pelos métodos de extração nº 1,3,5,6 e 8 para a azedinha, entre os quais não houve diferença significativa ($P < 0,05$). Já para a capuchinha, os teores mais elevados resultam dos extratos obtidos pelos métodos nº 1,4,6,8 e 10, sem diferença significativa ($P < 0,05$) entre eles.

Didini (2019) analisou amostras de folhas de ora-pro-nobis, por meio de um planejamento fatorial completo, tendo como variáveis independentes a concentração de metanol em solução aquosa (20%, 50% e 80%) e a temperatura (40 °C, 70 °C e 100 °C) usadas para a extração da amostra fresca, com o tempo

de extração fixado em 30 minutos em banho-maria. A autora identificou que a solução extratora metanol a 80%, a 100°C possibilitou extrair e posteriormente quantificar elevados teores de rutina, bem como o maior resultado para o teor total de compostos fenólicos. Enquanto os menores teores de rutina e compostos fenólicos totais foram quantificados nos extratos provenientes da solução extratora metanol a 50% e acetona a 70°C. Já no presente trabalho, não houve diferença significativa entre os maiores teores de rutina encontrados em cinco dos dez métodos analisados.

A influência da temperatura e da agitação sobre a extração da rutina e apigenina em folhas de *Cnidioscolus quercifolius*, conhecido popularmente por faveleiro, foi investigada por meio de um planejamento fatorial, e concluiu que a temperatura favorece a extração de rutina, mas prejudica a extração de apigenina, que também é prejudicada pela agitação, sugerindo que diferentes condições de temperatura e agitação podem ser empregadas na extração de flavonoides a depender do tipo de substâncias que se deseja extrair (Torres *et al.*, 2018).

Todos os métodos de extração foram capazes de extrair e proporcionar a quantificação da miricetina ($T_R = 15,48$ min) em todas as plantas. Os métodos nº 3, 8, 1 e 4 extraíram elevados teores de miricetina para a azedinha, sem diferença significativa entre eles ($P < 0,05$). Enquanto, as condições de extração dos métodos nº 4, 10, 6, 1, 3, 8 e 9 contribuíram para obtenção de extratos de capuchinha com elevados teores deste flavonoide. Os métodos nº 1 e 5 proporcionaram as melhores condições de extração de miricetina para o peixinho. A miricetina é um flavonol universal derivado de plantas, como frutas e vegetais (Semwal *et al.*, 2016), sendo bem reconhecida pela sua atividade biológica e medicinal (Zhang *et al.*, 2020a).

A quercetina ($T_R = 19,85$ min) foi extraída em maior quantidade também pelo método nº 5, tanto para azedinha quanto para a capuchinha. Enquanto para o peixinho, nenhum dos extratos foi capaz de extrair quercetina.

O campferol é um flavonoide encontrado em muitas plantas alimentícias, como brócolis, repolho, couve, escarola entre outros. O consumo de alimentos que contenham este composto tem se associado positivamente com a redução

do risco de desenvolvimento de vários distúrbios, como câncer e doenças do coração (M. Calderon-Montano *et al.*, 2011). Um trabalho investigou a presença de campferol em extrato etanólico de folhas de capuchinha pela análise de espectrometria de massas com ionização por electrospray e as impressões digitais no modo negativo mostraram distribuições características do campferol (Gasparotto Junior *et al.*, 2011). No entanto, as condições de extração dos métodos do presente trabalho não foram eficientes para extrair e quantificar o campferol ($T_R = 23,91$) em nenhuma das três PANC.

Um trabalho que buscava otimizar os métodos de extração para caracterização de compostos fenólicos em frutos de damasco, realizou extrações metanólicas e etanólicas sobre as mesmas condições otimizadas para avaliar o efeito desses solventes na extração e caracterização fenólica e observou que para a maioria dos compostos fenólicos, o metanol extraiu quantidades mais altas, mas o etanol apresentou algumas taxas de extração superiores ao metanol, como por exemplo, ácido clorogênico (Iglesias-Carres *et al.*, 2019). Diferentemente, no presente trabalho, os extratos que continham etanol não se destacaram quanto às quantificações de compostos fenólicos, apresentando sempre os menores valores quando comparados aos demais métodos.

Em um trabalho com flores de lichia, a acetona se mostrou mais eficiente na extração de polifenóis em comparação com metanol, água e etanol (Liu *et al.*, 2009). Enquanto, o método nº 9, cuja solução extratora era acetona a 80%, esteve entre os maiores resultados apenas para ácido caféico e miricetina extraídos das folhas de capuchinha.

Extratos de *Eugenia brasilienses* Lam. e *Myrcianthes pungens*, duas frutas nativas do Brasil popularmente conhecidas por grumixama e guabiju respectivamente, foram preparados com água acidificada e metanol acidificado, com intuito de caracterizar o perfil fenólico destas frutas por meio da quantificação por HPLC. Os resultados demonstraram que a concentração de compostos fenólicos identificados nos extratos metanólicos acidificados foram superiores aos encontrados nos extratos de água acidificada (Tischer *et al.*, 2023).

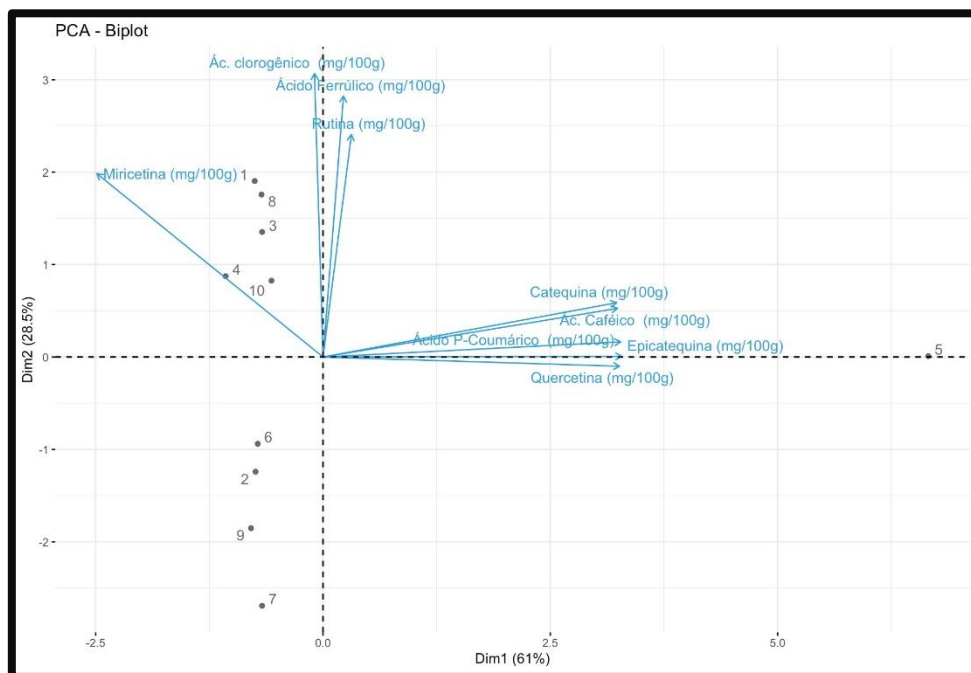
Portanto, não há um único solvente que seja capaz de extrair todas as classes de compostos fenólicos de uma amostra simultaneamente, logo há solventes que extraem melhor um tipo de composto do que outro (Mokrani; Madani, 2016).

No geral, todos os métodos foram capazes de extrair compostos fenólicos das PANC, sendo que alguns métodos demonstraram ser mais eficientes do que outros. De acordo com os resultados das análises por cromatografia líquida, verificou-se que todos os extratos continham ácidos fenólicos e flavonoides, sendo que as maiores concentrações foram encontradas nos extratos com metanol e acetonitrila, enquanto os extratos que continham etanol e acetona, apresentaram resultado inferiores para ácido fenólicos e flavonoides.

5.6 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais foi empregada para obter uma visão abrangente do desempenho dos diferentes métodos extrativos. A PCA é um método exploratório, que oferece uma visão geral das análises e permite chegar a conclusões significativas para possíveis tomadas de decisão com base nos resultados observados, reduzindo a dimensionalidade do conjunto de dados, proporcionando uma análise estatística com menos variáveis, em que as principais informações são mantidas (Ferreira *et al.*, 2019). Embora a PCA em si não possa ser usada como uma ferramenta de classificação, ela pode indicar uma tendência que é importante para visualizar o espaço dimensional (Xiao *et al.*, 2015). Com intuito de avaliar, de forma geral, o comportamento dos métodos de extração para cada matriz vegetal por meio dos resultados obtidos na quantificação dos compostos fenólicos por cromatografia, as Figuras 23, 24 e 25 apresentam a análise de componentes principais dos extratos de azedinha, capuchinha e peixinho, respectivamente.

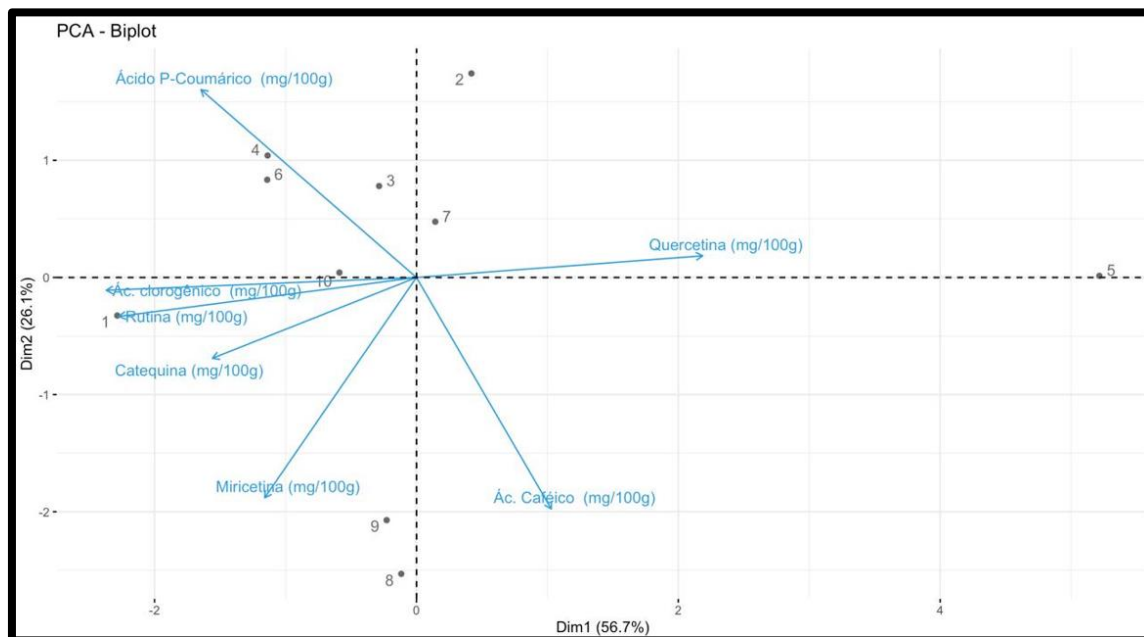
Figura 23 – Gráfico de PCA de ácidos fenólicos e flavonoides nos extratos de azedinha



O primeiro componente principal (DM1) explicou 61% da variação entre os extratos, enquanto o segundo (DM2) explicou 28,5% da variância e juntas os dois componentes correspondem a 89,5% da variância total.

De acordo com a Figura 23, é possível observar que o ácido caféico, o ácido p-coumárico, a catequina, a epicatequina e a quercetina se correlacionam positivamente e juntos caracterizam a posição do método nº 5, visto que esta amostra apresenta os maiores valores de extração para estes compostos fenólicos. Já a miricetina tem uma correlação negativa com as demais variáveis, sendo que ela caracteriza a posição dos métodos nº 1,3,4 e 8, visto que estes métodos apresentaram os maiores valores para extração de miricetina. Já o ácido clorogênico, o ácido ferúlico e a rutina se correlacionam positivamente e caracterizam a posição dos métodos nº 1,3,4,8 e 10, visto que estas amostras apresentam os maiores valores de extração para estes compostos fenólicos. Já para os métodos nº 2,6,7 e 9, estes apresentaram baixa tendência de extração dos compostos analisados, portanto estão agrupados com proximidade.

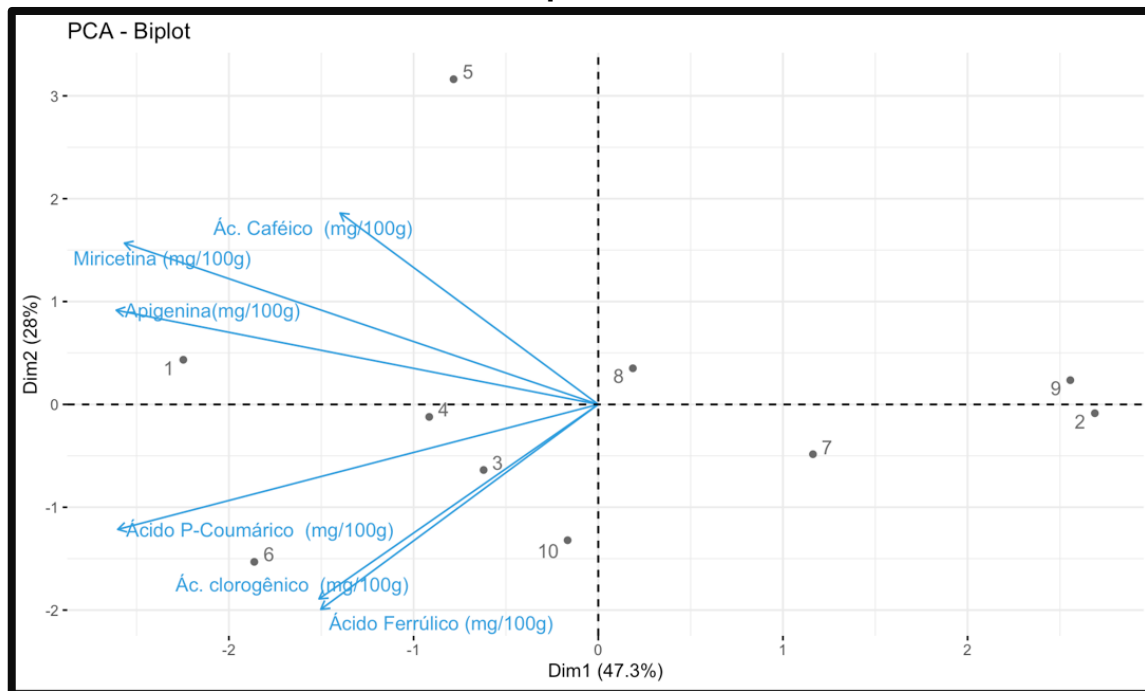
Figura 24 - Gráfico de PCA de ácidos fenólicos e flavonoides nos extratos de capuchinha



O primeiro componente principal (DM1) explicou 56,7% da variação entre os extratos, enquanto o segundo (DM2) explicou 26,1 % da variância e juntas os dois componentes correspondem a 82,8% da variância total.

Observa-se na Figura 24 que o ácido p-coumárico, o ácido clorogênico, a rutina, a catequina e a miricetina correlacionam-se positivamente e juntos caracterizam as posições dos métodos nº 1, 3, 4, 6, 8, 9 e 10, visto que estas amostras apresentam maiores valores de extração para estes compostos. O ácido caféico e a quercetina correlacionam se positivamente, sendo que esta caracteriza a posição do método nº 5, visto que esse método apresenta o maior valor de quercetina.

Figura 25 – Gráfico de PCA de ácidos fenólicos e flavonoides nos extratos de peixinho



O primeiro componente principal (DM1) explicou 47,3% da variação entre os extratos, enquanto o segundo (DM2) explicou 28% da variância e juntas os dois componentes correspondem a 75,3% da variância total.

De acordo com a Figura 25, é possível observar que o ácido caféico, a miricetina e a epigenina se correlacionam positivamente, e juntos caracterizam as posições dos métodos nº 1, 5 e 8, visto que estas amostras apresentam maiores valores de extração para estes compostos. Já o ácido p-coumárico, o ácido clorogênico, o ácido ferúlico correlacionam-se positivamente e juntos caracterizam as posições dos métodos nº 1, 3, 4, 6 e 10, visto que estas amostras apresentam maiores valores de extração para estes compostos. Podemos inferir ainda que os métodos de extração nº 2, 6, 7 e 9 possuem uma baixa tendência de extração dos compostos fenólicos.

Ao analisar os gráficos de PCA é possível visualizar como os compostos fenólicos obtidos por meio dos diferentes métodos de extração podem contribuir para a variância nestes extratos e como eles se agrupam com base nessas contribuições. Cada método de extração pode ser analisado de acordo com uma posição relativa aos vetores das variáveis para assim demonstrar a sua

composição de compostos fenólicos. Isso nos ajuda a compreender melhor a eficácia de cada método de extração e a natureza dos compostos fenólicos que eles são capazes de extrair.

6 CONCLUSÃO

O teor de compostos fenólicos totais, a capacidade antioxidante e o perfil de compostos fenólicos foram influenciados pelas diferentes condições de extração dos métodos utilizados neste trabalho. No entanto, não foi possível observar uma única condição de extração ideal em comum para todas as espécies estudadas, o que pode ser atribuído ao fato de que cada espécie possui um perfil específico de compostos fenólicos. Além disso, a disposição dos compostos presentes na matriz alimentar e a interação desses com outras moléculas também podem causar variações nos valores da capacidade antioxidante.

Observou-se que, de maneira geral, os métodos cujas soluções extratoras continham metanol, contribuiu para a extração e quantificação de teores mais elevados de compostos fenólicos quando comparado aos métodos que tinham como agente extrator soluções aquosas de acetonitrila, etanol e/ou acetona. Ademais, a acidificação das soluções e o uso do banho ultrassônico contribuíram para a melhor eficiência extrativa dos métodos.

Por fim, a avaliação dos compostos fenólicos totais, pelo método de Folin-Ciocalteu e da capacidade antioxidante, avaliada pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP, bem como a investigação do perfil e teor de compostos fenólicos de todos os extratos obtidos pelos dez métodos extrativos, comprovou o potencial de compostos bioativos dessas plantas. Adicionalmente, os resultados apresentados por este trabalho corroboram a necessidade da realização de mais estudos que estimem a composição fenólica de diferentes PANC para que se tenha um panorama mais amplo sobre os compostos presentes nessas espécies, e assim revele os atributos funcionais destas, subsidiando sua inserção na alimentação da população e consequente valorização econômica

SUGESTÕES PARA PESQUISAS FUTURAS

- ✓ Analisar atividade microbiana dos extratos das diferentes PANC;
- ✓ Avaliar os efeitos da digestão gastrointestinal in vitro sobre o perfil químico de compostos fenólicos das amostras de PANC.

REFERÊNCIAS

- ADO, M. A. *et al.* Chemical constituents and biological activities of *Callicarpa maingayi* leaves. **South African Journal of Botany**, [s. l.], v. 104, p. 98–104, 2016.
- AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 75–81, 2002.
- AJILA, C. M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 1006–1011, 2007.
- AJILA, C.M.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 102, n. 4, p. 1006–1011, 2007.
- ALARA, O. R. *et al.* *Vernonia cinerea* leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 122, p. 533–544, 2018.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current research in food science**, [s. l.], v. 4, p. 200–214, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33899007/>. Acesso em: 4 jun. 2024.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; UKAEGBU, C. I. Soxhlet extraction of phenolic compounds from *Vernonia cinerea* leaves and its antioxidant activity. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, [s. l.], v. 11, p. 12–17, 2018.
- ALIPANAHPOUR DIL, E. *et al.* A ferrofluidic hydrophobic deep eutectic solvent for the extraction of doxycycline from urine, blood plasma and milk samples prior to its determination by high-performance liquid chromatography-ultraviolet. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1613, p. 460695, 2020.

ALIPANAHPOUR DIL, E.; ASFARAM, A.; SADEGHFAR, F. Magnetic dispersive micro-solid phase extraction with the CuO/ZnO@Fe₃O₄-CNTs nanocomposite sorbent for the rapid pre-concentration of chlorogenic acid in the medical extract of plants, food, and water samples. **The Analyst**, [s. l.], v. 144, n. 8, p. 2684–2695, 2019.

ALIREZALU, K. *et al.* Phytochemical constituents, advanced extraction technologies and techno-functional properties of selected Mediterranean plants for use in meat products. A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 100, p. 292–306, 2020.

ALMEIDA, M. E. F. de; CORRÊA, A. D. Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 42, n. 4, p. 751–756, 2012.

ALTIERI, M. A. Os quelites: usos, manejo e efeitos ecológicos na agricultura camponesa. *In*: [S. l.: s. n.], 2016. p. 30. Disponível em: https://aspta.redelivre.org.br/files/2019/09/Agriculturas_V13N2-Artigo05.pdf. Acesso em: 4 jun. 2024.

ALTUNKAYA, A. *et al.* Antioxidant activity of lettuce extract (*Lactuca sativa*) and synergism with added phenolic antioxidants. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 115, n. 1, p. 163–168, 2009.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [s. l.], v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

ANNEGOWDA, H. *et al.* Influence of sonication on the phenolic content and antioxidant activity of *Terminalia catappa* L. leaves. **Pharmacognosy Research**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 368, 2010.

APAK, R. *et al.* Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, [s. l.], v. 85, n. 5, p. 957–998, 2013.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 11, n. 11, p. 419–421, 2000.

ARTS, M. J. T. J. *et al.* Antioxidant capacity of reaction products limits the applicability of the Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) assay. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 42, n. 1, p. 45–49, 2004.

ASFARAM, A. *et al.* Simple and selective detection of quercetin in extracts of plants and food samples by dispersive-micro-solid phase extraction based on core-shell magnetic molecularly imprinted polymers. **New Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 42, n. 19, p. 16144–16153, 2018.

ATMANI, Dina *et al.* Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 112, n. 2, p. 303–309, 2009.

AZEVEDO, T. D. DE. **Propriedades nutricionais, antioxidantes, antimicrobianas e toxicidade preliminar do Peixinho da Horta (Stachys byzantina K. Koch)**. 2018. - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

AZMIR, J. *et al.* Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, [s. l.], v. 117, n. 4, p. 426–436, 2013.

BAHADORI, M. B. *et al.* The health benefits of three Hedgenettle herbal teas (Stachys byzantina, Stachys inflata, and Stachys lavandulifolia) - profiling phenolic and antioxidant activities. **European Journal of Integrative Medicine**, [s. l.], v. 36, p. 101134, 2020.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BARBIERI, R. L.; STMPF, E. R. T. **Origem e Evolução de Plantas Cultivadas**. 1^oed. Brasília: Embrapa, 2008.

BARREIRA, T. F. *et al.* Diversidade e equitabilidade de Plantas Alimentícias Não Convencionais na zona rural de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s. l.], v. 17, n. 4 suppl 2, p. 964–974, 2015.

BASSOLI, B. K. *et al.* Chlorogenic acid reduces the plasma glucose peak in the oral glucose tolerance test: effects on hepatic glucose release and glycaemia. **Cell Biochemistry and Function**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 320–328, 2008.

BEDLOVIČOVÁ, Z. *et al.* A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 14, p. 3191, 2020.

BELLO, O. M. *et al.* Wild vegetable *Rumex acetosa* Linn.: Its ethnobotany, pharmacology and phytochemistry – A review. **South African Journal of Botany**, [s. l.], v. 125, p. 149–160, 2019.

BELLO, O.M. *et al.* Wild vegetable *Rumex acetosa* Linn.: Its ethnobotany, pharmacology and phytochemistry – A review. **South African Journal of Botany**, [s. l.], v. 125, p. 149–160, 2019.

BENEDEC, D. *et al.* *Stachys* Species: Comparative Evaluation of Phenolic Profile and Antimicrobial and Antioxidant Potential. **Antibiotics**, [s. l.], v. 12, n. 11, p. 1644, 2023.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 239, n. 1, p. 70–76, 1996.

BIESAGA, M.; PYRZYŃSKA, K. Stability of bioactive polyphenols from honey during different extraction methods. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 136, n. 1, p. 46–54, 2013.

BLASI, F. *et al.* Seasonal variations in antioxidant compounds of *Olea europaea* leaves collected from different Italian cultivars. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, [s. l.], v. 89, p. 202–207, 2016.

BOUDET, A. M. Evolution and current status of research in phenolic compounds. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 68, n. 22–24, p. 2722–2735, 2007.
Disponível em: Acesso em: 20 maio 2024.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

BRASIL. **Manual de Hortaliças Não-Convencionais**. Brasília: MAPA/ACS, 2010.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, [s. l.], v. 56, n. 11, p. 317–333, 1998.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. The Role of Phenolic Compounds in the Fight against Cancer – A Review. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. 1236–1258, 2013.

CARRATÚ, B.; SANZINI, E. Sostanze Biologicamente Attive Presenti Negli Alimenti Di Origine Vegetale. **Ann Ist Super Sanità**, [s. l.], 2005.

CARRERA, C. *et al.* Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta**, [s. l.], v. 732, p. 100–104, 2012.

CARTEA, M. E. *et al.* Phenolic Compounds in Brassica Vegetables. **Molecules**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 251–280, 2010.

CASQUETE, R. *et al.* Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [s. l.], v. 31, p. 37–44, 2015.

CECCANTI, C. *et al.* Comparison of Three Domestications and Wild-Harvested Plants for Nutraceutical Properties and Sensory Profiles in Five Wild Edible Herbs: Is Domestication Possible?. **Foods**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 1065, 2020.

CELLI, G. B.; GHANEM, A.; BROOKS, M. S.-L. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (*Lonicera caerulea* L.) using Response Surface Methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 27, p. 449–455, 2015.

CERDÁ-BERNAD, D. *et al.* Saffron bioactives crocin, crocetin and safranal: effect on oxidative stress and mechanisms of action. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 62, n. 12, p. 3232–3249, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2020.1864279>. Acesso em: 5 jun. 2024.

CHEMAT, F. *et al.* Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 34, p. 540–560, 2017.

CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA; KHAN, M. K. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011.

CHEN, Y.-H.; YANG, C.-Y. Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity for the Valorization of *Elaeocarpus serratus* L. Leaves. **Processes**, [s. l.], v. 8, n. 10, p. 1218, 2020.

CHEUNG, L. M.; CHEUNG, P. C. K.; OOI, V. E. C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 81, n. 2, p. 249–255, 2003.

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry Reviews**, [s. l.], v. 11, n. 2–3, p. 153–177, 2012.

CHIRINOS, R. *et al.* Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers. **Separation and Purification Technology**, [s. l.], v. 55, n. 2, p. 217–225, 2007. Disponível em: Acesso em: 5 jun. 2024.

CLEMENTE-VILLALBA, J. *et al.* Valorization of Wild Edible Plants as Food Ingredients and Their Economic Value. **Foods**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 1012, 2023.

CORBIN, C. *et al.* Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 26, p. 176–185, 2015.

CORNARA, L. *et al.* Characterization of Ingredients Incorporated in the Traditional Mixed-Salad of the Capuchin Monks. **Plants**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 301, 2022.

CRAFT, B. D. *et al.* Phenol-Based Antioxidants and the In Vitro Methods Used for Their Assessment. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 148–173, 2012.

CROFT, K. D. The Chemistry and Biological Effects of Flavonoids and Phenolic Acids. **Annals of the New York Academy of Sciences**, [s. l.], v. 854, n. 1, p. 435–442, 1998.

CUI, J. *et al.* Extraction, purification, structural character and biological properties of propolis flavonoids: A review. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 157, p. 105106, 2022.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010a.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010b.

DAL'RIO, I.; MATEUS, J. R.; SELDIN, L. Unraveling the *Tropaeolum majus* L. (Nasturtium) Root-Associated Bacterial Community in Search of Potential Biofertilizers. **Microorganisms**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 638, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/3/638/htm>. Acesso em: 15 maio 2024.

D'ARCHIVIO, M. *et al.* Polyphenols, dietary sources and bioavailability. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, [s. l.], v. 43, n. 4, p. 348–361, 2007.

DAVIDOV-PARDO, G.; AROZARENA, I.; MARÍN-ARROYO, M. R. Stability of polyphenolic extracts from grape seeds after thermal treatments. **European Food Research and Technology**, [s. l.], v. 232, n. 2, p. 211–220, 2011.

DAWIDOWICZ, A. L.; OLSZOWY, M. Mechanism change in estimating of antioxidant activity of phenolic compounds. **Talanta**, [s. l.], v. 97, p. 312–317, 2012.

DE MORAIS, J. S. *et al.* Antioxidant activity and bioaccessibility of phenolic compounds in white, red, blue, purple, yellow and orange edible flowers through a simulated intestinal barrier. **Food Research International**, [s. l.], v. 131, p. 109046, 2020.

DE SOUZA, T. C. L. *et al.* A study of the bioactive potential of seven neglected and underutilized leaves consumed in Brazil. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 364, p. 130350, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881462101356X>.

DIDINI, C. N. **PERFIL QUÍMICO E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS ENCONTRADAS NO RIO DE JANEIRO**. 2019. Dissertação (Mestre em Nutrição Humana) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <https://ppgn.ufrj.br/wp-content/uploads/2022/06/Camila-das-Neves-Didini-dissertacao.pdf>. Acesso em: 14 jul. 2024.

DIL, E. A.; GHAEDI, M.; ASFARAM, A. Application of hydrophobic deep eutectic solvent as the carrier for ferrofluid: A novel strategy for pre-concentration and determination of mefenamic acid in human urine samples by high performance liquid chromatography under experimental design optimization. **Talanta**, [s. l.], v. 202, p. 526–530, 2019.

DOMINGUEZ-LÓPEZ, I.; PÉREZ, M.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Total (poly)phenol analysis by the Folin-Ciocalteu assay as an anti-inflammatory biomarker in biological samples. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], p. 1–7, 2023.

DUMA, M. *et al.* **LEAF VEGETABLES AS SOURCE OF PHYTOCHEMICALS**. [S. l.: s. n.], 2014.

DURLING, N. *et al.* Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 101, n. 4, p. 1417–1424, 2007.

FAN, M. *et al.* Relationships of dietary flavonoid structure with its tyrosinase inhibitory activity and affinity. **LWT**, [s. l.], v. 107, p. 25–34, 2019.

FANG, X. *et al.* Simultaneous extraction, identification and quantification of phenolic compounds in *Eclipta prostrata* using microwave-assisted extraction combined with HPLC–DAD–ESI–MS/MS. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 188, p. 527–536, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615007712>.

FEDURAEV, P. *et al.* Variability of Phenolic Compound Accumulation and Antioxidant Activity in Wild Plants of Some *Rumex* Species (Polygonaceae). **Antioxidants**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 311, 2022.

FELIX ÁVILA, P. *et al.* *Annona crassiflora* suppresses colonic carcinogenesis through its antioxidant effects, bioactive amines, and phenol content in rats. **Food Research International**, [s. l.], v. 175, p. 113666, 2024.

FERREIRA, S. L. C. *et al.* Multivariate optimization techniques in food analysis – A review. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 273, p. 3–8, 2019.

FIDELIS, M. *et al.* Response surface optimization of phenolic compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* [Mart.] O.Berg) seeds: Antioxidant, antimicrobial, antihyperglycemic, antihypertensive and cytotoxic assessments. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 142, p. 111439, 2020.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 80, n. 13, p. 1925–1941, 2000.

FREIRE, J. M. *et al.* Quantificação de compostos fenólicos e ácido ascórbico em frutos e polpas congeladas de acerola, caju, goiaba e morango. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 43, n. 12, p. 2291–2295, 2013.

GALANAKIS, C. M. *et al.* Control of microbial growth in bakery products fortified with polyphenols recovered from olive mill wastewater. **Environmental Technology & Innovation**, [s. l.], v. 10, p. 1–15, 2018.

GANJOO, R. *et al.* Activated Carbon: Fundamentals, Classification, and Properties. *In*: ACTIVATED CARBON. [S. l.]: The Royal Society of Chemistry, 2023. p. 1–22.

GAO, W. *et al.* Preparation of cyano-functionalized multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction sorbent for preconcentration of phenolic compounds in environmental water. **Journal of Separation Science**, [s. l.], v. 35, n. 15, p. 1967–1976, 2012.

GARAMBONE, E.; ROSA, G. Possíveis benefícios do ácido clorogênico à saúde. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 18, n. 2, p. 229–235, 2008. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/49599747>.

GARCIA, A. Á.; CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundario de plantas. **Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 119–145, 2009.

GARCIA-CASTELLO, E. M. *et al.* Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. **LWT - Food Science and Technology**, [s. l.], v. 64, n. 2, p. 1114–1122, 2015.

GASPAROTTO JUNIOR, A. *et al.* Antihypertensive effects of isoquercitrin and extracts from *Tropaeolum majus* L.: Evidence for the inhibition of angiotensin converting enzyme. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 134, n. 2, p. 363–372, 2011.

GEBHARDT, R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in primary cultured rat hepatocytes by artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, [s. l.], v. 286, n. 3, p. 1122–1128, 1998.

GEORGE, J. *et al.* Evaluation of Antioxidant Capacity (ABTS and CUPRAC) and Total Phenolic Content (Folin-Ciocalteu) Assays of Selected Fruit, Vegetables, and Spices. **International Journal of Food Science**, [s. l.], v. 2022, p. 1–18, 2022.

GIÃO, M. S. *et al.* Effect of particle size upon the extent of extraction of antioxidant power from the plants *Agrimonia eupatoria*, *Salvia* sp. and *Satureja montana*. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 117, n. 3, p. 412–416, 2009.

GOMES, S. M. *et al.* Biodiversity is overlooked in the diets of different social groups in Brazil. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 7509, 2023.

GOPAL, K. *et al.* Supramolecular solvent combined with dispersive solid phase extraction based magnetic silicone surfactant activated charcoal adsorbent for extraction of phenolic compounds from industrial wastewater. **Microchemical Journal**, [s. l.], v. 157, p. 105110, 2020.

GOYENECHE, R. *et al.* Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (*Raphanus sativus* L.) leaves and roots. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 16, p. 256–264, 2015.

GRANATO, D. *et al.* Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 80, p. 266–279, 2016. Disponível em: Acesso em: 5 jun. 2024.

GRUTZMANN ARCARI, S. *et al.* Polyphenolic compounds with biological activity in guabiroba fruits (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) by comprehensive two-dimensional liquid chromatography. **Electrophoresis**, [s. l.], v. 41, n. 20, p. 1784–1792, 2020.

HAGERMAN, A. E. *et al.* High Molecular Weight Plant Polyphenolics (Tannins) as Biological Antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 46, n. 5, p. 1887–1892, 1998.

HAMINIUK, C. W. I. *et al.* Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 46, n. 7, p. 1529–1537, 2011.

HAMINIUK, C. W. I. *et al.* Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 47, n. 10, p. 2023–2044, 2012a.

HAMINIUK, C. W. I. *et al.* Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 47, n. 10, p. 2023–2044, 2012b.

HAMINIUK, C. W. I. *et al.* Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, [s. l.], v. 47, n. 10, p. 2023–2044, 2012c.

HAO, Z. *et al.* Exploring the Extraction Methods of Phenolic Compounds in Daylily (*Heemerocallis citrina* Baroni) and Its Antioxidant Activity. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 9, p. 2964, 2022.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 13, n. 10, p. 572–584, 2002.

HELENO, S. A. *et al.* Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 173, p. 501–513, 2015.

HENRIQUEZ, C.; ALIAGA, C.; LISSI, E. Formation and decay of the ABTS derived radical cation: A comparison of different preparation procedures. **International Journal of Chemical Kinetics**, [s. l.], v. 34, n. 12, p. 659–665, 2002.

HERRERA-POOL, E. *et al.* Effect of solvent polarity on the Ultrasound Assisted extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from habanero pepper leaves (*Capsicum chinense*) and its identification by UPLC-PDA-ESI-MS/MS. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 76, p. 105658, 2021.

HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; DE PASCUAL-TERESA, S. Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 3, p. 691–696, 2010.

HOSSAIN, M. B. *et al.* Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram (*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 126, n. 1, p. 339–346, 2011.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. **The chemistry behind antioxidant capacity assays**. [S. l.: s. n.], 2005.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

HURTADO-FERNÁNDEZ, E. *et al.* Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 53, n. 5, p. 1130–1160, 2010.

IGLESIAS-CARRES, L. *et al.* Optimization of extraction methods for characterization of phenolic compounds in apricot fruit (*Prunus armeniaca*). **Food & Function**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 6492–6502, 2019.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 2011.

IKAWA, M. *et al.* Utilization of Folin–Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 51, n. 7, p. 1811–1815, 2003.

ILYASOV, I. R. *et al.* ABTS/PP Decolorization Assay of Antioxidant Capacity Reaction Pathways. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 1131, 2020.

IQBAL, Y. *et al.* Extraction and characterization of polyphenols from non-conventional edible plants and their antioxidant activities. **Food Research International**, [s. l.], v. 157, p. 111205, 2022.

IWASHINA, T. **Flavonoid Properties of five Families newly Incorporated into the Order Caryophyllales (Review)** *Bull. Natl. Mus. Nat. Sci., Ser. B.* [S. l.: s. n.], 2013.

JACOB, M. C. M.; ARAÚJO DE MEDEIROS, M. F.; ALBUQUERQUE, U. P. Biodiverse food plants in the semiarid region of Brazil have unknown potential: A systematic review. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. e0230936, 2020.

JAKUBCZYK, K. *et al.* Garden nasturtium (*Tropaeolum majus* L.) - a source of mineral elements and bioactive compounds. **Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny**, [s. l.], v. 69, n. 2, p. 119–126, 2018.

JESUS, B. *et al.* PANCs - PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS, BENEFÍCIOS NUTRICIONAIS, POTENCIAL ECONOMICO E RESGATE DA CULTURA: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. **Enciclopédia Biosfera**, [s. l.], v. 17, n. 33, 2020.

JOHNSTON, K. *et al.* Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. **FEBS Letters**, [s. l.], v. 579, n. 7, p. 1653–1657, 2005.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 78, n. 4, p. 728–733, 2003.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Possible role for apple juice phenolic compounds in the acute modification of glucose tolerance and gastrointestinal hormone secretion in humans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 82, n. 15, p. 1800–1805, 2002.

JUSTINO, H. de F. M. *et al.* Uso de tecnologias não convencionais para extração de compostos bioativos de subprodutos de frutas e vegetais: revisão. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 11, n. 14, p. e44111435488, 2022.

KARAK, P. BIOLOGICAL ACTIVITIES OF FLAVONOIDS: AN OVERVIEW. **Internacional Journal Pharmaceutical Sciences and Research**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 1567–1574, 2019.

KATSAMPA, P. *et al.* A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box–Behnken experimental design and kinetics. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 77, p. 535–543, 2015.

KAUFMANN, B.; CHRISTEN, P. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. **Phytochemical Analysis**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 105–113, 2002.

KHEIRY, M. *et al.* p-Coumaric Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Lung Inflammation in Rats by Scavenging ROS Production: an In Vivo and In Vitro Study. **Inflammation**, [s. l.], v. 42, n. 6, p. 1939–1950, 2019.

KHODDAMI, A.; WILKES, M.; ROBERTS, T. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. **Molecules**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 2328–2375, 2013a.

KHODDAMI, A.; WILKES, M.; ROBERTS, T. Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. **Molecules**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 2328–2375, 2013b.

KHURANA, S. *et al.* Polyphenols: Benefits to the Cardiovascular System in Health and in Aging. **Nutrients**, [s. l.], v. 5, n. 10, p. 3779–3827, 2013.

KIM, D.; LEE, C. Y. Extraction and Isolation of Polyphenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 6, n. 1, 2002.

KINUPP, V. F. **PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO-CONVENCIONAIS DA REGIÃO METROPOLITANA DE PORTO ALEGRE, RS.** 2007. 590 f. - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/12870>. Acesso em: 3 jun. 2024.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. de. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 28, n. 4, p. 846–857, 2008.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. 1. ed. [S. l.]: Nova Odessa: Plantarum, 2014. v. 1

KOŁTON, A. *et al.* Biosynthesis Regulation of Folates and Phenols in Plants. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 291, p. 110561, 2022. Disponível em: Acesso em: 5 jun. 2024.

KORPELAINEN, H.; PIETILÄINEN, M. Sorrel (*Rumex acetosa* L.): Not Only a Weed but a Promising Vegetable and Medicinal Plant. **Botanical Review**, [s. l.], v. 86, n. 3–4, p. 234–246, 2020.

KROON, P. A.; WILLIAMSON, G. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 79, n. 3, p. 355–361, 1999.

KUCEKOVA, Z. *et al.* Phenolic Compounds from *Allium schoenoprasum*, *Tragopogon pratensis* and *Rumex acetosa* and Their Antiproliferative Effects. **Molecules**, [s. l.], v. 16, n. 11, p. 9207–9217, 2011.

KUMAR, M. *et al.* Guava (*Psidium guajava* L.) Leaves: Nutritional Composition, Phytochemical Profile, and Health-Promoting Bioactivities. **Foods**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 752, 2021.

KUMAR, N.; PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. **Biotechnology Reports**, [s. l.], v. 4, p. 86–93, 2014.

KUSKOSKI, E. M. *et al.* Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 726–732, 2005.

LABANCA, R. A.; OLIVEIRA, G. B.; ALMINGER, M. Berries: Cultivation and environmental factors effects on the phenolic compounds content. **African Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 12, n. 19, p. 1602–1606, 2017.

LEAL, M. L.; ALVES, R. P.; HANAZAKI, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 6, 2018a.

LEAL, M. L.; ALVES, R. P.; HANAZAKI, N. Knowledge, use, and disuse of unconventional food plants. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 6, 2018b.

LEITE, A. C. *et al.* Cloud Point Extraction of Chlorophylls from Spinach Leaves Using Aqueous Solutions of Nonionic Surfactants. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 590–599, 2018.

LIBERATO, P. da S.; LIMA, D. V. T. de; SILVA, G. M. B. da. PANCs - PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E SEUS BENEFÍCIOS NUTRICIONAIS. **ENVIRONMENTAL SMOKE**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 102–111, 2019.

LIM, Y. Y.; LIM, T. T.; TEE, J. J. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 103, n. 3, p. 1003–1008, 2007.

LIU, G. *et al.* Antioxidant capacity of phenolic compounds separated from tea seed oil in vitro and in vivo. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 371, p. 131122, 2022. Disponível em: Acesso em: 5 jun. 2024.

LIU, S. *et al.* Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (Litchi chinensis Sonn.) flowers. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 114, n. 2, p. 577–581, 2009.

LIU, Z. *et al.* Direct and interference-free determination of thirteen phenolic compounds in red wines using a chemometrics-assisted HPLC-DAD strategy for authentication of vintage year. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 9, n. 22, p. 3361–3374, 2017.

LIU, X. *et al.* Identification of phenolics in the fruit of emblica (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 109, n. 4, p. 909–915, 2008.

LUTHRIA, D. L. Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 107, n. 2, p. 745–752, 2008.

LUTHRIA, D. L.; PASTOR-CORRALES, M. A. Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 19, n. 2–3, p. 205–211, 2006.

M. CALDERON-MONTANO, J. *et al.* A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 298–344, 2011.

MADEIRA, N. R. ; *et al.* **MANUAL DE PRODUCAO DE HORTALICAS TRADICIONAIS**. 1. ed. Brasília: Manual, 2013. v. 1 Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/212745/1/MANUAL-DE-PRODUCAO-DE-HORTALICAS-TRADICIONAIS.pdf>. Acesso em: 5 jun. 2024.

MANACH, C. *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 79, n. 5, p. 727–747, 2004.

MANACH, C.; DONOVAN, J. L. Pharmacokinetics and Metabolism of Dietary Flavonoids in Humans. **Free Radical Research**, [s. l.], v. 38, n. 8, p. 771–785, 2004.

MANIAN, R. *et al.* The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 107, n. 3, p. 1000–1007, 2008.

MANIVANNAN, A. *et al.* Biochemical and nutritional characterization of coconut (*Cocos nucifera* L.) haustorium. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 238, p. 153–159, 2018.

MARTINELLI, S. S.; CAVALLI, S. B. Alimentação saudável e sustentável: uma revisão narrativa sobre desafios e perspectivas. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s. l.], v. 24, n. 11, p. 4251–4262, 2019.

MARTINELLO, M.; MUTINELLI, F. Antioxidant Activity in Bee Products: A Review. **Antioxidants**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 71, 2021.

MARTINS, N. *et al.* Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 74, p. 648–670, 2015.

MASON, T. J.; PANIWNYK, L.; LORIMER, J. P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. S253–S260, 1996.

MCCARTY, M. F. A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. **Medical Hypotheses**, [s. l.], v. 64, n. 4, p. 848–853, 2005.

MEIJA, J. *et al.* **Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report)**. [S. l.]: Walter de Gruyter GmbH, 2016.

MELO, E. de A. *et al.* Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s. l.], v. 26, n. 3, p. 639–644, 2006.

MEREGALLI, M. M. *et al.* Conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of bioactive compounds from red araçá peel (*Psidium cattleianum* Sabine). **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 5800–5809, 2020.

MICHIELS, J. A. *et al.* Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 130, n. 4, p. 986–993, 2012. Disponível em: Acesso em: 6 jun. 2024.

MILIÃO, G. L. *et al.* Unconventional food plants: Nutritional aspects and perspectives for industrial applications. **Future Foods**, [s. l.], v. 5, p. 100124, 2022.

MILLER, N. J. *et al.* A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, [s. l.], v. 84, n. 4, p. 407–412, 1993.

MINIGHIN, E. C. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) Como Alternativa Dietética para Fenilcetonúricos**. BELO HORIZONTE: [s. n.], 2023.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 130, n. 4, p. 1036–1043, 2012.

MOKRANI, A.; MADANI, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. **Separation and Purification Technology**, [s. l.], v. 162, p. 68–76, 2016.

MOLLICA, A. *et al.* A Study on Chemical Characterization and Biological Abilities of *Alstonia boonei* Extracts Obtained by Different Techniques. **Antioxidants**, [s. l.], v. 11, n. 11, p. 2171, 2022.

MORTON, L. W. *et al.* Chemistry And Biological Effects Of Dietary Phenolic Compounds: Relevance To Cardiovascular Disease. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, [s. l.], v. 27, n. 3, p. 152–159, 2000.

MOTILVA, M.-J.; SERRA, A.; MACIÀ, A. Analysis of food polyphenols by ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: An overview. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1292, p. 66–82, 2013.

MOURA, I. O. *et al.* Chemical Characterization, Antioxidant Activity and Cytotoxicity of the Unconventional Food Plants: Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) Leaf, Major Gomes (*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.) and Caruru (*Amaranthus deflexus* L.). **Waste and Biomass Valorization**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 2407–2431, 2021.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 3380, 2021a.

MUNTEANU, I. G.; APETREI, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 7, p. 3380, 2021b.

MUSSATTO, S. I.; DRAGONE, G.; ROBERTO, I. C. Ferulic and p-coumaric acids extraction by alkaline hydrolysis of brewer's spent grain. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 25, n. 2, p. 231–237, 2007.

MYERS, N. *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** **2000** **403:6772**, [s. l.], v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/35002501>. Acesso em: 4 jun. 2024.

NABAVI, S. M. *et al.* Flavonoid biosynthetic pathways in plants: Versatile targets for metabolic engineering. **Biotechnology Advances**, [s. l.], v. 38, p. 107316, 2020.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of chromatography. A**, [s. l.], v. 1054, n. 1–2, p. 95–111, 2004.

NASCIMENTO, L. E. S. *et al.* Phytochemical profile of different anatomical parts of jambu (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen): A comparison between

hydroponic and conventional cultivation using PCA and cluster analysis. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 332, p. 127393, 2020.

NGUYEN, T.-V.-L. *et al.* Comparison of Phytochemical Contents, Antioxidant and Antibacterial Activities of Various Solvent Extracts Obtained from 'Maluma' Avocado Pulp Powder. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 24, p. 7693, 2021.

NIETO, J. A. *et al.* Valorisation of Grape Stems as a Source of Phenolic Antioxidants by Using a Sustainable Extraction Methodology. **Foods**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 604, 2020.

NOREEN, H. *et al.* Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant *Coronopus didymus*. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. 792–801, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28942828/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

OKOYE, T. C. *et al.* Safe African Medicinal Plants for Clinical Studies. *In*: TOXICOLOGICAL SURVEY OF AFRICAN MEDICINAL PLANTS. [S. l.]: Elsevier, 2014. p. 535–555.

OLIVEIRA, A. C. de *et al.* Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

OROIAN, M.; DRANCA, F.; URSACHI, F. Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from propolis. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 70–78, 2020.

OROIAN, M.; URSACHI, F.; DRANCA, F. Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 64, p. 105021, 2020.

OSMAN, A. M.; WONG, K. K. Y.; FERNYHOUGH, A. ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent

adducts. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 346, n. 1, p. 321–329, 2006.

OSORIO-TOBÓN, J. F. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. **Journal of food science and technology**, [s. l.], v. 57, n. 12, p. 4299–4315, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33087945/>. Acesso em: 5 jun. 2024.

PADILHA, A. F. **ANÁLISE BIBLIOMÉTRICA DA PRODUÇÃO CIENTÍFICA SOBRE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIOANAIS - PANC**. Pato Branco: [s. n.], 2021.

PALIOTO, G. F. *et al.* Composição centesimal, compostos bioativos e atividade antioxidante de frutos de *Morinda citrifolia* Linn (noni) cultivados no Paraná. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 59–66, 2015.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, [s. l.], v. 5, p. e47, 2016.

PANYA, A. *et al.* Interactions between α -Tocopherol and Rosmarinic Acid and Its Alkyl Esters in Emulsions: Synergistic, Additive, or Antagonistic Effect?. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 41, p. 10320–10330, 2012.

PEIXOTO ARAUJO, N. M. *et al.* Enzymatic treatment improves the antioxidant and antiproliferative activities of *Adenanthera pavonina* L. seeds. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 18, p. 101002, 2019.

PEREIRA, R. C. **Compostos Fenólicos na Saúde Humana: do Alimento ao Organismo**. Lavras: [s. n.], 2014. Disponível em: www.editora.ufla.br.

PEREIRA, V. *et al.* HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. **Journal of Separation Science**, [s. l.], v. 33, n. 9, p. 1204–1215, 2010.

PERES, R. L. *et al.* ACHILLEA MILLEFOLIUM-ASTERACEAE: ESTUDO FITOQUÍMICO, ESPECTROFOTOMÉTRICO E DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA (COLLETOTRICHUM MUSAE). **Revista Eletrônica de Farmácia**, [s. l.], v. VI, n. 3, p. 81–93, 2009.

PÉREZ, M.; DOMINGUEZ-LÓPEZ, I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 71, n. 46, p. 17543–17553, 2023.

PÉREZ-GARCÍA, F.; ADZET, T.; CAÑIGUERAL, S. Activity of artichoke leaf extract on reactive oxygen species in human leukocytes. **Free Radical Research**, [s. l.], v. 33, n. 5, p. 661–665, 2000.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. *et al.* Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 274–285, 2008.

PETIGNY, L. *et al.* Batch and Continuous Ultrasound Assisted Extraction of Boldo Leaves (Peumus boldus Mol.). **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 14, n. 3, p. 5750–5764, 2013.

PINELO, M. *et al.* Solvent effect on quercetin antioxidant capacity. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 88, n. 2, p. 201–207, 2004.

PIRES, T. C. S. P. *et al.* Antioxidant and antimicrobial properties of dried Portuguese apple variety (Malus domestica Borkh. cv Bravo de Esmolfe). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 240, p. 701–706, 2018.

PIRES, T. C. S. P. *et al.* Edible flowers: Emerging components in the diet. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 93, p. 244–258, 2019.

PIRES, H. C. V. **USO DE CARTILHA EDUCATIVA COMO FERRAMENTA DE DIVULGAÇÃO DAS PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANCS) COMO OPÇÃO ALTERNATIVA NO CADAPIO DO INSTITUTO FEDERAL DO PIAUÍ (IFPI)-CAMPUS URUÇUÍ URUÇUÍ**. 2020. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Uruçuí, 2020. Disponível em: http://bia.ifpi.edu.br:8080/jspui/bitstream/123456789/1216/1/2020_tcc_hcvpires.pdf. Acesso em: 3 jun. 2024.

POLESI, R. G. *et al.* **AGROBIODIVERSIDADE E SEGURANÇA ALIMENTAR NO VALE DO TAQUARI, RS: PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS E FRUTAS NATIVAS** *Revista Científica Rural*. [S. l.: s. n.], 2017.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 2009. - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005a.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005b.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 48, n. 8, p. 3396–3402, 2000.

QUATRIN, A. *et al.* Characterization and quantification of tannins, flavonols, anthocyanins and matrix-bound polyphenols from jaboticaba fruit peel: A comparison between *Myrciaria trunciflora* and *M. jaboticaba*. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 78, p. 59–74, 2019.

QUEIROZ, E. de R. **Frações de Lichia: Caracterização Química e Avaliação de Compostos Bioativos**. Lavras: [s. n.], 2012.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Revisión Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. **Nutr Hosp**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 76–89, 2012a.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Revisión Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. **Nutr Hosp**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 76–89, 2012b.

RADÜNZ, M. *et al.* Glucosinolates and phenolic compounds rich broccoli extract: Encapsulation by electrospraying and antitumor activity against glial tumor cells. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [s. l.], v. 192, p. 111020, 2020. Disponível em: Acesso em: 5 jun. 2024.

RALET, M.-C. *et al.* Polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties of sugar beet pectins differing in their degrees of methylation and acetylation. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 191–201, 2003.

RAMFUL, D. *et al.* Polyphenolic content and antioxidant activity of Eugenia pollicina leaf extract in vitro and in model emulsion systems. **Food Research International**, [s. l.], v. 44, n. 5, p. 1190–1196, 2011.

RAPOSO, F.; BORJA, R.; GUTIÉRREZ-GONZÁLEZ, J. A. A comprehensive and critical review of the unstandardized Folin-Ciocalteu assay to determine the total content of polyphenols: The conundrum of the experimental factors and method validation. **Talanta**, [s. l.], v. 272, p. 125771, 2024.

REIS, F. de C. **COMPONENTES DE PRODUÇÃO DE CAPUCHINHA (Tropaeolum majus L.), INFLUENCIADOS PELA APLICAÇÃO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM UM LATOSSOLO VERMELHO DISTRÓFICO**. [S. l.: s. n.], 2006.

REIS GIADA, M. de L. Food Phenolic Compounds: Main Classes, Sources and Their Antioxidant Power. *In: OXIDATIVE STRESS AND CHRONIC DEGENERATIVE DISEASES - A ROLE FOR ANTIOXIDANTS*. [S. l.]: InTech, 2013.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 20, n. 7, p. 933–956, 1996.

ROBARDS, K. *et al.* Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 66, n. 4, p. 401–436, 1999.

RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and phenolic compounds from *Solanum sessiliflorum*, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 61, n. 12, p. 3022–3029, 2013a.

RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and Phenolic Compounds from *Solanum sessiliflorum*, an Unexploited Amazonian Fruit, and Their Scavenging Capacities against Reactive Oxygen and Nitrogen Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 61, n. 12, p. 3022–3029, 2013b.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 92, n. 2, p. 235–254, 2005.

ROHR, G. E.; MEIER, B.; STICHER, O. Analysis of procyanidins. *In: [S. l.: s. n.]*, 2000. p. 497–570.

ROSS, J. A.; KASUM, C. M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects and safety. **Annual Review of Nutrition**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 19–34, 2002.

ROSSATO, A. E. *et al.* **Fitoterapia Racional: Aspectos Taxonômicos, Agroecológicos, Etnobotânicos e Terapêuticos**. 1ªed. Florianópolis, SC: Diretoria da Imprensa Oficial e Editora de Santa Catarina, 2012. v. 1

RUFINO, M. do S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 4, p. 996–1002, 2010. Disponível em: Acesso em: 31 maio 2024.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS +**. Fortaleza: [s. n.], 2007.

RUFINO, M. D. S. **PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE FRUTAS TROPICAIS BRASILEIRAS NÃO TRADICIONAIS**. 2008. 237 f. - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró/RN, 2008.

RUMBAOA, R. G. O.; CORNAGO, D. F.; GERONIMO, I. M. Phenolic content and antioxidant capacity of Philippine sweet potato (*Ipomoea batatas*) varieties. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 113, n. 4, p. 1133–1138, 2009.

RUSAK, G. *et al.* Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 110, n. 4, p. 852–858, 2008.

RYAN, D. *et al.* Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea* L. **Scientia Horticulturae**, [s. l.], v. 92, n. 2, p. 147–176, 2002.

ŞAHİN, S.; ŞAMLI, R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 595–602, 2013.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 76, n. 2, p. 270–276, 1998.

SÁNCHEZ-RANGEL, J. C. *et al.* The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 5, n. 21, p. 5990, 2013.

SANTOS, M. C. P. dos. **Caracterização do Potencial Funcional de Produto e Subproduto de Frutas e Hortaliças**. Rio de Janeiro: [s. n.], 2017.

SANTOS, DiegoT.; VARDANEGA, R.; DE ALMEIDA, M. A. Intensification of bioactive compounds extraction from medicinal plants using ultrasonic irradiation. **Pharmacognosy Reviews**, [s. l.], v. 8, n. 16, p. 88, 2014.

SARTORI, V. C. *et al.* **Plantas Alimentícias Não Convencionais - PANC: resgatando a soberania alimentar e nutricional**. 1ºed. Caxias do Sul, RS: Editora da Universidade de Caxias do Sul, 2020a.

SARTORI, V. C. *et al.* **Plantas Alimentícias Não Convencionais – PANC : resgatando a soberania alimentar e nutricional**. Caxias do Sul, Rio Grande do Sul: Educs, 2020b.

SEMWAL, D. *et al.* Myricetin: A Dietary Molecule with Diverse Biological Activities. **Nutrients**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 90, 2016.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C. M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 4, p. 1212–1220, 2007.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. [S. l.: s. n.], 2006.

SHARMA, O. P.; BHAT, T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 113, n. 4, p. 1202–1205, 2009.

SHIRSATH, S. R.; SONAWANE, S. H.; GOGATE, P. R. Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, [s. l.], v. 53, p. 10–23, 2012.

SILVA, M. A. L. da *et al.* Household availability of foods from Brazilian biodiversity. **Cadernos de Saúde Pública**, [s. l.], v. 39, n. 6, 2023.

SILVA, L. F. L. E. *et al.* Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s. l.], v. 90, n. 2, p. 1775–1787, 2018.

SILVA, M. de O. *et al.* Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. **Molecules**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 46, 2020.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Análise de fenóis totais e outros substratos de oxidação e antioxidantes por meio do reagente folin-ciocalteu. *In*: [S. l.: s. n.], 1999. p. 152–178.

SKOOG, D. A. ; H. F. J. ; N. T. A. **QUIMICA_ANALITICA_SKOOG**. [S. l.]: 2002, 2002.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J. (Joseph J. **Introduction to modern liquid chromatography**. [S. l.]: Wiley, 1979.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 71–81, 2002.

SOUZA, H. de A. *et al.* Capacidade antioxidante de flores de capuchinha (*Tropaeolum majus* L.). **REVISTA PONTO DE VISTA**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 73–84, 2020.

SOUZA, J. V. A.; LIBERATO, M. da C. T. C.; TEIXEIRA, L. D. da S. Do mato à mesa: um estudo bibliográfico acerca do potencial nutricional das plantas alimentícias não-convencionais: *Portulaca oleracea* L. e *Tropaeolum majus* L./ From the bush to the table: a bibliographic study on the nutritional potential of non-conventional food plants: *Portulaca oleracea* L. and *Tropaeolum majus* L. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 40017–40040, 2021.

STEGĂRUȘ, D. I. *et al.* Phytochemical analysis and biological activity of three stachys species (Lamiaceae) from romania. **Plants**, [s. l.], v. 10, n. 12, 2021.

SUCUPIRA, N. R. *et al.* **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits**263 UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde. [S. l.: s. n.], 2012.

SUEDAN, M. A. S. L. *et al.* Physicochemical and sensory analysis of common sorrel (*Rumex acetosa* L.). **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 462–468, 2021.

SULTANA, B.; ANWAR, F.; PRZYBYLSKI, R. Antioxidant activity of phenolic components present in barks of *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, and *Eugenia jambolana* Lam. trees. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 104, n. 3, p. 1106–1114, 2007.

SYTAR, O. *et al.* Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], v. 25, n. 4, p. 631–641, 2018.

TABART, J. *et al.* Ascorbic Acid, Phenolic Acid, Flavonoid, and Carotenoid Profiles of Selected Extracts from *Ribes nigrum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 59, n. 9, p. 4763–4770, 2011.

TABART, J. *et al.* Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 113, n. 4, p. 1226–1233, 2009.

TAO, Y.; ZHANG, Z.; SUN, D.-W. Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 1461–1469, 2014.

TAVANANDI, H. A.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Recovery of chlorophylls from spent biomass of *Arthrospira platensis* obtained after extraction of phycobiliproteins. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 271, p. 391–401, 2019.

TEH, S.-S.; BIRCH, E. J. Effect of ultrasonic treatment on the polyphenol content and antioxidant capacity of extract from defatted hemp, flax and canola seed cakes. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 346–353, 2014.

THOURI, A. *et al.* Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 248, 2017.

TISCHER, B. *et al.* Bioactive compounds, antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of native fruits from Brazil. **PLOS ONE**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. e0285625, 2023.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de verduras e legumes consumidos no Brasil**. Piracicaba: [s. n.], 2010. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-20102010-101541/publico/Ana_Paula_Tiveron.pdf. Acesso em: 30 maio 2024.

TIWARI, B. K. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 71, p. 100–109, 2015.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 81, n. 9, p. 853–876, 2001.

TOMEI, R.; SALVADOR, M. METODOLOGIAS ANALÍTICAS ATUAIS PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PRODUTOS NATURAIS. *In:* ,

2007, São José dos Campos. **XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**. São José dos Campos: [s. n.], 2007. p. 1963–1967.

TORRES, D. *et al.* INFLUÊNCIA DO MÉTODO EXTRATIVO NO TEOR DE FLAVONOÍDES DE *Cnidoscolus quercifolius* POHL (EUPHORBIACEAE) E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE. **Química Nova**, [s. l.], 2018.

TUENTER, E. *et al.* Development of a classification model for the antigenotoxic activity of flavonoids. **Bioorganic Chemistry**, [s. l.], v. 98, p. 103705, 2020.

VAGIRI, M. *et al.* An Optimized Method for Analysis of Phenolic Compounds in Buds, Leaves, and Fruits of Black Currant (*Ribes nigrum* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 60, n. 42, p. 10501–10510, 2012.

VALVERDE, I. M.; PERIAGO, M. J.; GASPAR, R. **Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta**. [S. l.: s. n.], 2000. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/262551532>. .

VELÁZQUEZ-MARTÍNEZ, V. *et al.* Effect of Different Extraction Methods and Geographical Origins on the Total Phenolic Yield, Composition, and Antimicrobial Activity of Sugarcane Bagasse Extracts. **Frontiers in Nutrition**, [s. l.], v. 9, 2022.

VIEIRA, E. F. *et al.* Valorization of Phenolic and Carotenoid Compounds of *Sechium edule* (Jacq. Swartz) Leaves: Comparison between Conventional, Ultrasound- and Microwave-Assisted Extraction Approaches. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 21, p. 7193, 2022.

VILLELA-CASTREJÓN, J.; ANTUNES-RICARDO, M.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Bioavailability and anti-inflammatory activity of phenolic acids found in spray-dried nejayote after its in vitro digestion. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 39, p. 37–43, 2017.

VINATORU, M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. **Ultrasonics Sonochemistry**, [s. l.], v. 8, n. 3, p. 303–313, 2001.

VOGT, T. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010.

VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Phenolic Compounds. *In*: BIOACTIVE COMPOUNDS. [S. l.]: Elsevier, 2019. p. 33–50.

WANG, J. *et al.* Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 106, n. 2, p. 804–810, 2008.

WANG, T.; LI, Q.; BI, K. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 12–23, 2018.

WATERHOUSE, A. L. Determination of Total Phenolics. *In*: CURRENT PROTOCOLS IN FOOD ANALYTICAL CHEMISTRY. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2003.

XIA, B.-H. *et al.* Green and Efficient Extraction of Phenolic Components from Plants with Supramolecular Solvents: Experimental and Theoretical Studies. **Molecules**, [s. l.], v. 29, n. 9, p. 2067, 2024.

XIAO, Z. *et al.* Effect of cultivar and variety on phenolic compounds and antioxidant activity of cherry wine. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 186, p. 69–73, 2015.

XIE, J.; SCHAICH, K. M. Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) Assay for Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 62, n. 19, p. 4251–4260, 2014.

XU, C. C. *et al.* Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. **Chinese journal of natural medicines**, [s. l.], v. 15, n. 10, p. 721–731, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29103457/>. Acesso em: 4 jun. 2024.

XU, B. J.; CHANG, S. K. C. A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 72, n. 2, 2007.

YANG, B. *et al.* Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit — A review. **Food Research International**, [s. l.], v. 44, n. 7, p. 1837–1842, 2011.

ZANETTI, G. *et al.* Análise morfo-anatômica de *Tropaeolum majus* L. (*Tropaeolaceae*). **IHERINGIA Sér. Bot., Porto Alegre**, [s. l.], n. 2, 2004. p. 173–178.

ZHANG, G. *et al.* Ethanol extracts from *Cinnamomum camphora* seed kernel: Potential bioactivities as affected by alkaline hydrolysis and simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, [s. l.], v. 137, p. 109363, 2020.

ZHANG, Q. *et al.* Identification of Six Flavonoids as Novel Cellular Antioxidants and Their Structure-Activity Relationship. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2020, p. 1–12, 2020.

ZHANG, D. *et al.* Mechanistic studies of inhibition on acrolein by myricetin. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 323, p. 126788, 2020.

ZHAO, J. *et al.* Advanced development in analysis of phytochemicals from medicine and food dual purposes plants used in China. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1218, n. 42, p. 7453–7475, 2011.

by Extraction Solvents. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 72, n. 2, 2007.

YANG, B. *et al.* Extraction and pharmacological properties of bioactive compounds from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit — A review. **Food Research International**, [s. l.], v. 44, n. 7, p. 1837–1842, 2011.

ZANETTI, G. *et al.* Análise morfo-anatômica de *Tropaeolum majus* L. (*Tropaeolaceae*). **IHERINGIA Sér. Bot., Porto Alegre**, [s. l.], n. 2, 2004. p. 173–178.

ZHANG, G. *et al.* Ethanol extracts from *Cinnamomum camphora* seed kernel: Potential bioactivities as affected by alkaline hydrolysis and simulated gastrointestinal digestion. **Food Research International**, [s. l.], v. 137, p. 109363, 2020.

ZHANG, Q. *et al.* Identification of Six Flavonoids as Novel Cellular Antioxidants and Their Structure-Activity Relationship. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2020, p. 1–12, 2020.

ZHANG, D. *et al.* Mechanistic studies of inhibition on acrolein by myricetin. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 323, p. 126788, 2020.

ZHAO, J. *et al.* Advanced development in analysis of phytochemicals from medicine and food dual purposes plants used in China. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1218, n. 42, p. 7453–7475, 2011.