

UNIVERSIDADE CESUMAR
PROGRAMA DE MESTRADO EM TECNOLOGIAS LIMPAS – PPGTL

DENISE BERTIN CARNEVALLI

COMPARAÇÃO DO RENDIMENTO E DA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO EXTRATO BRUTO DA *Pereskia acuelata* Miller
OBTIDOS POR MÉTODOS DE EXTRAÇÃO MAIS LIMPOS

MARINGÁ,
2022

DENISE BERTIN CARNEVALLI

COMPARAÇÃO DO RENDIMENTO E DA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO EXTRATO BRUTO DA *Pereskia acuelata* Miller
OBTIDOS POR MÉTODOS DE EXTRAÇÃO MAIS LIMPOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Limpas da Universidade Cesumar, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIAS LIMPAS.

Orientador: José Eduardo Gonçalves
Coorientadora: Rúbia Carvalho Gomes Corrêa

MARINGÁ,
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

C289c Carnevalli, Denise Bertin.

Comparação do rendimento e da composição química do extrato bruto da *Pereskia acuelata* Miller obtidos por métodos de extração mais limpos / Denise Bertin Carnevalli. – Maringá-PR: UNICESUMAR, 2022.

127 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Gonçalves.

Coorientadora: Profa. Dra. Rúbia Carvalho Gomes Corrêa.

Dissertação (mestrado) – Universidade Cesumar - UNICESUMAR, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, Maringá, 2022.

1. *Ora-pro-nóbis*. 2. Caracterização química. 3. Compostos fenólicos. 4. Tecnologias limpas. 5. Antioxidante. I. Título.

CDD – 664.8

Roseni Soares – Bibliotecária – CRB 9/1796
Biblioteca Central UniCesumar

Ficha catalográfica elaborada de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DENISE BERTIN CARNEVALLI

**COMPARAÇÃO DO RENDIMENTO E DA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DO EXTRATO BRUTO DA *Pereskia acuelata* Miller
OBTIDOS POR MÉTODOS DE EXTRAÇÃO MAIS LIMPOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologias Limpas da Universidade Cesumar, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM TECNOLOGIAS LIMPAS pela comissão julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. José Eduardo Gonçalves
Universidade Cesumar (Presidente)

Prof^a. Dr^a. Francielli Gasparotto
Universidade Cesumar

Prof^a. Dr^a. Cristiane Mengue Feniman Moritz
Universidade Estadual de Maringá

Aprovado em: 25 de fevereiro de 2022.

AGRADECIMENTOS

Nada seria tão importante, se não estivesse sempre ao lado da presença de Deus.

Aqueles que sempre estiveram ao meu lado

Ao Professor Dr. Wilson Matos por ceder espaço na Fazenda da Universidade Cesumar (UNICESUMAR), para coleta do material, colaborando para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Doutor José Eduardo Gonçalves, pois sem a sua orientação, paciência e muita disposição em ensinar, este trabalho não seria possível.

À Laura Mardigan, que sempre esteve presente, me auxiliando e me ensinando nos percalços do curso.

Aos companheiros do Laboratório LIABQ (Laboratório de Análises Biológicas e Química) Cíntia, Zé Bello, Rhaira, Rodrigo, Douglas.

Aos funcionários Marcia e Bruno, da secretaria de Pós-graduação em Tecnologias Limpas, por estarem sempre à disposição quando houve necessidade.

Ao ICETI, à CAPES pelo suporte financeiro.

“Mesmo quando tudo parece desabar,
Cabe a mim decidir entre rir ou chorar,
ir ou ficar, desistir ou lutar;
porque descobri no caminho incerto da vida,
que o mais importante é DECIDIR”.

Cora Coralina

RESUMO

Nos últimos anos houve um aumento significativo na comunidade científica por compostos bioativos de origem natural com alta capacidade antioxidante. As Plantas Alimentícias Não Convencionais (Pancs) têm sido largamente estudadas por causa de suas atividades anti-inflamatórias e antioxidantes. A espécie *Pereskia acuelata* Miller, conhecida como ora-pro-nóbis (OPN), é uma planta que possui alto teor de proteína, alto teor de fibras e compostos antioxidantes. Diversos métodos de extração como fluído supercrítico, técnica de maceração e extração por ultrassom, podem ser aplicados para extrair compostos químicos (alcalóides, fenólicos, triterpenóides, entre outros). Alguns desses métodos atendem aos princípios da química verde, diminuindo a geração de resíduos e prevenindo riscos ambientais, devido à utilização de solventes de menor impacto ambiental e/ou em volumes reduzidos. O objetivo deste trabalho foi realizar diferentes formas de extração, analisando qual destes propõe métodos mais limpos, emitindo menos resíduos a natureza. As análises cromatográficas (Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas – CG-EM e Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa (LC-EM/EM) são técnicas extremamente eficientes e versáteis para efetuar a separação, identificação e quantificação de espécies químicas. As amostras de folhas da planta foram levadas ao Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas (LIABQ), sendo seco em local ventilado a temperatura ambiente. Foram realizados três tipos de extração do material vegetal seco: fluído supercrítico, extração por maceração e extração assistida por ultrassom. Os extratos foram caracterizados quanto a composição em compostos voláteis por CG-EM e em compostos menos voláteis via LC-EM. Os diferentes extratos foram analisados em relação ao potencial antioxidante pelos métodos químicos ABTS, DPPH e FRAP. Os dados coletados foram submetidos à análise exploratória multivariada, por meio da análise de componentes principais (ACP), a qual permitiu a avaliação em conjunto dos compostos químicos majoritários e da classe química de todos os compostos presentes nos extratos de OPN. Foi obtida a forma gráficaa (BIPLOT), que auxiliou caracterizar os grupos das variáveis analisadas. Foi possível realuzar um estudo fitoquímico no qual observou uma mistura hidrocarbônica apolar rica em triacontano, esteróides, flavonóides e diterpeno com destaque para os ácidos (málico, ferúlico, palmítico, linoleico, glucônico), bem como fitol, campesterol, γ -sitosterol e ácido silícico. A análise estatística exploratória multivariada foi realizada por meio de análise de componentes principais (compostos químicos majoritários, classe química e toxicidade do solvente), elegendo o etanol como melhor solvente para o processo de EAU. A partir dos resultados obtidos, se observou que a OPN possui grande

quantidade de compostos bioativos em sua estrutura celular, lembrando que o processo de extração assistida por ultrassom representa uma técnica com grande capacidade de extração desses compostos. Para a análise da atividade antioxidante foram testados três métodos diferentes utilizando 5 métodos de extração diferente (ultrassom etanol, fluido 100 bar, fluido 50 bar, maceração 2 horas, maceração 4 horas). O método maceração por 2 horas apresentou uma melhor resposta de extração de compostos antioxidantes frente ao método DPPH, o método FRAP; o extrato obtido pelo fluido supercrítico 100 bar, apresentou melhor resultado de compostos antioxidantes, já para o método de ABTS o extrato realizado pela maceração de 4 horas mostrou uma absorbância mais alta. As folhas de *Pereskia aculeata* demonstraram um potencial forte para compostos antioxidantes através da extração de métodos diferentes de extração. Os resultados obtidos pelo método de extração assistida por ultrassom apontaram que através do método e os solventes utilizados, obtiveram boas fontes de compostos bioativos, demonstrando também que as duas formas de caracterização química promoveram um resultado mais completo acerca da composição química da ora-pro-nóbis, dados até então pouco explorados pela comunidade científica. Além disso, o método extrativo e solvente destacado, o etanol, possuem características que resultam em menor produção de resíduos tóxicos. Logo, o método e condições escolhidas para a extração de compostos bioativos das folhas de ora-pro-nóbis demonstram eficiência para o propósito exposto, além de atender requisitos da química verde.

Palavras-chave: *Ora-pro-nóbis*, Caracterização química, Compostos fenólicos, Tecnologias limpas, Antioxidante.

ABSTRACT

In recent years, there has been a significant increase in the scientific community for bioactive compounds of natural origin with high antioxidant capacity. Plants (Unconventional Food Plants) started to be rescued and have been studied because of their anti-inflammatory and antioxidant activities. The species *Pereskia aculeata* Miller, known as ora-pro-nóbis (OPN), is a plant that has a high content of high-quality protein and high content of fibers and other compounds. Several methods such as supercritical fluids, maceration technique and ultrasound extraction can be applied for the extraction of chemical compounds such as alkaloids, phenolics, triterpenoids, spheroidal glycosides, among others, due to the use of solvents and/or in reduced volumes. The present work aims to characterize the objective of this work was to carry out different forms of extraction, analysing which of these propose cleaner methods, emitting less waste. Chromatographic analyzes (Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry - GC-MS and Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-MS/MS) are extremely efficient and versatile techniques to perform the separation, identification and quantification of chemical species. The samples of the leaves were taken to the Interdisciplinary Laboratory of Biological and Chemical Analysis (LIABQ), being dried in a ventilated place at room temperature. Three types of dry plant material were performed: supercritical fluid, extraction by hydrodistillation/maceration and ultrasound-assisted extraction characterized in terms of composition in volatile compounds by GC-MS and in less volatile compounds by LC-MS. The extracts were characterized for their composition in volatile compounds by GC-MS and less volatile compounds by LC-MS. The different extracts were analyzed in relation to the antioxidant potential by the chemical methods ABTS, DPPH and FRAP. The collected data were submitted to multivariate exploratory analysis, through principal component analysis (PCA), which allowed the joint evaluation of the major chemical compounds and the chemical class of all compounds present in the OPN extracts. The result of the analysis is being presented in graphic form (BIPLOT), helping to characterize the groups of variables analyzed. It was possible to carry out a phytochemical study in which a nonpolar hydrocarbon mixture rich in triacontane, steroids, flavonoids and diterpene was observed, with emphasis on acids (malic, ferulic, palmitic, linoleic, gluconic), as well as phytol, campesterol, γ -sitosterol, and silicic. The exploratory multivariate statistical analysis was performed using principal component analysis (major chemical compounds, chemical class and solvent toxicity), choosing ethanol as the best solvent for UAE process. From the results obtained, it was observed that OPN has a large number of bioactive compounds in its cellular structure, remembering that the ultrasound-

assisted extraction process represents a technique with great capacity for extracting these compounds. For the analysis of antioxidant activity, three different methods were tested using 5 different extraction methods (ultrasound ethanol, 100 bar fluid, 50 bar fluid, 2 hours maceration, 4 hours maceration). The 2-hours maceration method showed a better extraction response of antioxidant compounds compared to the DPPH method, the FRAP method; the extract obtained by supercritical fluid at 100 bars, showed the best result of antioxidant compounds, as for ABTS method, the extract performed by 4-hour maceration showed a higher absorbance. *Pereskia aculeata* leaves demonstrated a strong potential for antioxidant compounds through different extraction methods. The results obtained by the ultrasound-assisted extraction methods showed that through the method and the solvents used, they obtained good sources of bioactive compounds, also demonstrating that the two forms of chemical characterization showed a more complete result about the chemical composition of ora-pro-nobis, data was little explored by the scientific community. Besides that, the extractive method and solvent highlighted, ethanol, has characteristics that result in less production of toxic residues. Therefore, the method and conditions chosen for the extraction of bioactive compounds from the leaves of ora-pro-nobis, demonstrated efficiency for the exposure purpose, in addition to meeting the requirements of green chemistry.

Keywords: Ora-pro-nobis, Chemical characterization, Phenolic compounds, Clean technologies, Antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Plantação de Ora-pro-nóbis (A); Folhas e Caule (B); Flor (C); Fruto (D).	17
FIGURA 2: Hierarquia taxanômica da espécie <i>Pereskia Aculeata Miller</i>	27
FIGURA 3: Ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i> Miller): (A) – Folhas; (B) – Caule lignificado com espinhos em forma de agulha; (C) – Flores e (D) – Frutos imaturos.	30
FIGURA 4: Fórmulas estruturais dos compostos fenólicos: A – Ácido gálico; B – Ácido caféico; e C – Procianidinas.	33
FIGURA 5: Análise de componentes principais biplot da relação do solvente utilizado na obtenção do extrato bruto das folhas <i>P. aculeata</i> , com rendimento e produção de resíduo.	57
FIGURA 6: Cromatogramas dos extratos brutos das folhas de <i>P. aculeata</i> obtidos por extração assistida por ultrassom. (A) Acetato de Etila; (B) Diclorometano; (C) Metanol; (D) Etanol.	58

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Fonte de dados utilizados na pesquisa	29
TABELA 2: Comparativo entre diferentes métodos de extração, caracterização química e compostos principais obtidos a partir de Ora-pro-nóbis, por diferentes autores. 36	
TABELA 3: Condições aplicadas na EAU das folhas de P. aculeata.	56
TABELA 4: Identificação dos compostos voláteis encontrados no extrato de P. aculeata obtidos com diferentes solventes.	60
TABELA 5: Estatística descritiva dos extratos de P. aculeata.	63
TABELA 6: Estatística ocorrência de correlação (Matrix de Correlação).....	63
TABELA 7: Relação de métodos de extração com o rendimento e geração de resíduos.	86
TABELA 8: Composição química dos extratos obtidos por métodos de extração diferentes das folhas de Pereskia aculeata Miller.....	87
TABELA 9: Atividade Antioxidante de extrato ora-pro-nóbis obtidos por diferentes métodos de extração.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS

PANCS	Plantas Alimentícias Não Convencionais
UAE	Extração Assistida por ultrassom
OPN	Ora-Pro-Nóbis
FSC	Fluído Supercrítico
FAO/WHO	Food and Agriculture Administration
CBA	Compostos Bioativos
UV	Ultravioleta
CF	Compostos Fenólicos
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHA	Butilhidroxianisol
FDA	Food and Drug Administration
DPPH	Radical (2,2-difenil-1- picril-hidrazil)
ABTS	Radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
CO²	Dióxido de Carbono
EFS	Extração de Fluído Supercrítico
OMS	Organização Mundial de Saúde
LPS	Laboratório de Processos de Separação
UEM	Universidade Estadual de Maringá
CL-EM	Cromatografia Líquida com Espectrometria de Massas
CL-EM/EM	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas triplo quadrupolo
OqO	Triplo-quadrupolar
MRM	Monitoramento de Reações Múltiplas
EM/EM	Espectrometria de Massas triplo quadrupolo
IR	Índice de Retenção
ACP	Análise de Componentes Principais

SUMÁRIO

1.	Introdução	13
2.	Objetivos.....	15
2.1.	OBJETIVO GERAL	15
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3.	Revisão de Literatura.....	15
3.1.	PANC's	15
3.2.	ORA-PRO-NÓBIS (<i>Pereskia acuelata</i> Miller).....	16
3.3.	COMPOSTOS BIOATIVOS	18
3.4.	MÉTODOS DE EXTRAÇÃO BASEADOS EM TECNOLOGIAS LIMPAS.....	19
3.5.	ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS	22
4.	Artigo 1	25
1.	INTRODUÇÃO	27
1.	Metodologia	28
2.	Resultados e Discussão.	29
3.	Conclusão	37
5.	Normas da revista – Artigo 01.....	48
	REVISTA RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT	48
	Diretrizes do autor.....	48
	Declaração de privacidade.....	49
6.	ARTIGO 2.....	50
1.	Introdução.....	52
2.	Experimental	53
2.1.	Material vegetal	53
2.2.	Extração assistida por ultrassom (EUA)	54
2.3.	Análise cromatográfica a gás acoplada a espectrometria de massas (GC-EM)	54
2.4.	Análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas de ionização por eletrospray (CL-EM/EM)	55
2.5.	Análise Estatística.....	55
3.	Resultados e Discussões.....	55
3.1.	Comportamento do método de extração e solventes de escolha	55
3.2.	AnáliseS cromatogrÁficas.....	58
3.3.	Análise Estatística.....	63
4.	Conclusão	64
7.	Normas da revista – Artigo 02.....	70
	Instruções para autores.....	70
	Preparando seu papel.....	70
	Estrutura	70
	Limites de palavras.....	70

Diretrizes de estilo	70
Formatação e modelos.....	73
Serviços de edição Taylor & Francis	74
Lista de verificação: o que incluir	75
Usando material de terceiros	76
Enviando seu artigo	77
Política de Compartilhamento de Dados	77
Taxas de Publicação	78
Opções de direitos autorais.....	78
Conformidade com agências de financiamento	78
Minhas obras de autoria	78
8. ARTIGO 3.....	79
Introdução	81
Material e Métodos	82
Resultados e Discussão.....	85
Conclusão	91
9. NORMAS DO ARTIGO 3	98
10. Considerações Finais	113
BIBLIOGRAFIA	114
CRUZ, T., SANTOS, J., CARMO, M., HELLSTRÖM., PIHLAVA, J., AZEVEDO, L., GRANATO, D., MARQUES, M. Otimização da extração de compostos bioativos de folhas de ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i> Miller) e suas atividades antioxidantes e anti- hemolíticas <i>in vitro</i> . Química de Alimentos. Vol. 361, 2021. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130078	116
NACZK, M.; SHAHID, F. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography. V. 1054, issue 1-2, p. 95-111,2004. Disponível em:	121

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido largamente utilizadas na medicinal tradicional, além do seu uso na etnomedicina mundial (HAO, 2019). Podendo ser utilizadas em formulações fitoterápicas, essas plantas estão completamente inseridas no patrimônio cultural de diversas pessoas e países, e podem estar associadas à manutenção da boa saúde (MANAF, DAUD, 2016).

Historicamente, as plantas têm sido selecionadas para o desenvolvimento de drogas, por causa dos compostos biologicamente ativos, podendo apresentar em sua composição classe de compostos tais como alcalóides e terpenóides, que têm sido utilizados na medicina tradicional. Assim, a presença destes compostos bioativos em elevada concentração em vegetais pode servir de indicador para uso em possíveis formulações fitoterápicas e, consequentemente, no tratamento de diversas doenças (ALLKIN et al., 2016). Pesquisadores têm demonstrado que vegetais com folhas verdes contêm compostos bioativos importantes, tais como: β -caroteno, ácido ascórbico, riboflavina, ácido fólico, sais minerais, também apresentam altos teores de polifenóis, ácidos fenólicos, flavonóides e compostos aromáticos (KOBORI, C. et al, 2008; KIM et al., 2013).

Na última década, a comunidade científica aumentou seu interesse nos compostos antioxidantes dentro da área da indústria de alimentos e nutracêuticos, por observar o papel vital na sua capacidade de reduzir processos oxidativos (WANG et al., 2013). As hortaliças não-convencionais são pouco exploradas em solo brasileiro. Fazem parte de uma cultura não organizada, mas cuja cadeia produtiva tem papel importante na complementação da alimentação e economia de populações de baixa renda. Por desempenharem papel na expressão cultural de determinados locais, estas plantas estão presentes na culinária típica de algumas regiões (SANTOS et al., 2012; SOUZA, 2009; BRASIL, 2010).

Dentro das hortaliças não-convencionais, encontra-se a *Pereskia aculeata* Miller, conhecida no Brasil como ora-pro-nóbis, também chamada groselha de barbados, que é nativa dos países latino-americanos. Suas folhas são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diabetes, hipertensão, dores gástricas, úlceras, entre outras (SHARIF et al., 2013). As folhas da ora-pro-nobis (OPN) são importantes fontes de aminoácidos essenciais e de minerais como cálcio, ferro, manganês e zinco, além de vitaminas (A, C) e ácido fólico, sendo uma fonte complementar na dieta de muitos brasileiros (ALMEIDA e CORRÊA, 2012; TAKEITI et al., 2009).

Alguns métodos podem ser utilizados para a separação de compostos alcalóides, fenólicos, triterpenóides, glicosídeos esteroidais, etc. Os métodos mais comuns para a obtenção destes fitoquímicos são: refluxo, fluído supercrítico, maceração, técnica assistida por microondas, Soxhlet, e técnica assistida por ultrassom (SARVIN et al., 2018).

Segundo Song et al. (2019), Garmus et al. (2015) e Saha et al. (2017), para a análise química, principalmente análises cromatográficas, é extremamente importante a escolha de um método eficiente para extração de flavonóides de plantas herbais, pois a quantidade de compostos recuperados da planta *in situ* depende do método de extração selecionado. Desta forma, é essencial avaliar os métodos de extração, considerando que as plantas têm composição química bastante complexa e que comumente acontece a extração de várias classes de compostos. Além disso, algumas técnicas têm uma série de desvantagens por produzir resíduos de solventes tóxicos.

Alguns procedimentos alternativos de extração, assim como a extração assistida por ultrassom (UAE), que permitem extrações rápidas, eficientes e ambientalmente amigáveis, estão sendo utilizadas nesses tipos de análises (KRUG, J. & ROCHA, F, 2016; FERREIRA, B et al, 2020).

Já o método de extração por Fluído Supercrítico tem sido empregado nas extrações de plantas medicinais, por considerar que a instabilidade térmica dos princípios ativos e também ao alto grau de pureza em que estes são obtidos. Os FSC apresentam meios bem atrativos para o processamento de produtos de ocorrência natural devido a facilidade de recuperar o soluto e reciclar o solvente, a manipulação por ser simples da temperatura e/ou pressão, e a seletividade do processo na escolha do solvente e combinação solvente/cossolventes a serem utilizados (CONTADO, E et al, 2010., MOHAMED, 1997., LI & HARTLAND, 2002).

A maceração, por sua vez, parte do princípio de colocar em contato o solvente com o material vegetal preestabelecido a ser extraído, em recipiente fechado, a temperatura ambiente, de 2 a 14 dias (ANVISA, 1996; SIMÕES, 2002).

Em vários processos industriais a fase inicial da preparação de um produto exige a aplicação de uma técnica sólido-líquido em que se isola o material extraível contido nos mais variados tipos de matrizes vegetais (SIMÕES et al., 2003). Vários autores têm relatado diversos tipos de extração em plantas, que podem ser chamados de convencionais, utilizando solventes orgânicos, e as chamadas tecnologias limpas, considerados emergentes. Apesar de ainda não existir um protocolo universal adequado ou completamente satisfatório para a extração, as abordagens escolhidas para uma determinada matriz vegetal devem aliar a menor quantidade de resíduos gerados no processo com a maior eficiência de extração de compostos fenólicos.

No presente projeto foi feita a comparação do rendimento e da composição química do extrato bruto da ora-pro-nóbis (*Pereskia acuelata* Miller) obtidos por métodos diferentes de extração, sendo eles extração assistida por ultrassom, extração por fluído supercrítico e extração por maceração, além de realizar a extração e caracterização de compostos antioxidantes pelos métodos ABTS, FRAP, DPPH (convencionais e emergentes).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho foi realizar a extração das folhas de ora-pro-nóbis por diferentes métodos de extração.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Obter o extrato da ora-pro-nóbis pelo método de extração assistida por ultrassom, fluído supercrítico e hidro destilação/maceração;
- b) Caracterização da composição química dos extratos;
- c) Estabelecer os melhores métodos de extração para recuperação dos compostos bioativos de interesse (compostos fenólicos e antioxidantes);
- d) Avaliar qual o melhor método que emita menos resíduos à natureza.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. PANC's

Em várias regiões do mundo, a população ainda utiliza do método tradicional do uso de plantas com potencial medicinal para a atenção primária a saúde. Atualmente são registradas 28.187 espécies de plantas como uso medicinal (ALLKIN, 2017). A Mata Atlântica é reconhecida como um dos biomas da “Megadiversidade” biológica, tendo cerca de 16% da diversidade biológica do planeta (MESQUITA, 2011).

Em 2007, o Termo “Plantas Alimentícias Não Convencionais” (PANCs) foi associado a um potencial de variação alimentar, com diminuição dos impactos ambientais e a enaltecimento dos recursos naturais (KINUPP, 2007).

São consideradas PANCs seus frutos, folhas, flores, rizomas e outras partes das plantas de espécies nativas, ou exóticas, que podem ser consumidas pelo homem, em território brasileiro. Planta estas, quer sejam encontradas na natureza, quer sejam domesticadas e cultivadas comercialmente (KINUPP e LORENZI, 2014), podendo ser utilizadas na alimentação humana, sendo que algumas destas espécies possuem importância cultural, ecológica e econômica e estão sendo pouco utilizadas (KINUPP e BARROS, 2008).

As hortaliças não convencionais não são produzidas em escalas comerciais, e muitas espécies ainda são pouco exploradas na flora brasileira. Entretanto, esta pode ser uma fonte de renda alternativa, principalmente na agricultura familiar (MIRANDA, et al, 2009).

Os autores Kinupp e Barros (2008) explicam que uma ou mais partes destas plantas, a saber, as raízes, tubérculos, rizomas, talos, folhas, brotos, flores, frutos, sementes, o látex, a resina e também a goma, podem ser utilizadas para obtenção de óleos e gorduras comestíveis, também sendo utilizadas na substituição de corantes alimentares, conservantes, edulcorantes, sódio, amaciante de carnes e na fabricação de bebidas e a infusão destas plantas.

Em 2008 foi iniciada uma reorganização dos bancos de germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que terminou por decidir um novo destino as espécies de PANCs. O pesquisador Nuno Madeira mostrou a importância desta iniciativa, que representa a preservação de um patrimônio Genético que foi sendo esquecido ao longo do tempo (MACEDO, 2017).

3.2. ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Miller)

Pereskia aculeata Miller é uma planta da família Cactacea, conhecida pelo nome popular de OPN, podendo também ser chamada de trepadeira limão, carne-de-negro, carne-de-pobre. Sua origem se dá nas Américas, onde ocorre desde a Flórida até o Brasil (BRASIL, 2010).

A ora-pro-nóbis é de fácil cultivo, pois é uma planta rústica, perene e que se propaga facilmente. O método de plantio é o de utilização de estacas, porque sua eficiência é maior, encurtando o ciclo de sua produção (TOFANELLI e RESENDE, 2011).

A força do enraizamento, além da qualidade e da quantidade das estacas (sendo estas matrizes saudáveis e vigorosas), varia de acordo com o tipo da espécie, as condições ambientais, o modo de cultivar, além da condição interna da própria planta (MADEIRA et al., 2016).

Figura 1: Plantação de Ora-pro-nóbis (A); Folhas e Caule (B); Flor (C); Fruto (D).



Fonte: Acervo do autor

3.2.1. Composição Nutricional

As hortaliças chamadas de não convencionais são ótima alternativa alimentar devido ao seu potencial nutricional de macro e micronutrientes e sua fácil disseminação (ROCHA et al., 2008).

As folhas da ora-pro-nóbis são importantes fontes de aminoácidos essenciais, minerais como cálcio, ferro, manganês e zinco, vitaminas (A, C) e ácido fólico, sendo uma fonte complementar na dieta de muitos brasileiros (ALMEIDA, CORRÊA, 2012; TAKEITI et al., 2009).

A *Pereskia aculeata* Miller é uma planta que possui alto teor de proteína de alta qualidade além de alto teor de fibras. A ausência de toxicidade foliar da espécie faz dela uma fonte e alimento importante e útil (ALMEIDA-FILHO e CAMBRAIA, 1974). Análises de suas folhas mostram que elas contêm 25% de proteínas, sendo estas de alta digestibilidade (85%). A FAO/WHO (Food and Agriculture Organization) é quem faz a recomendação dos valores mínimos de proteínas e aminoácidos para se obter uma dieta equilibrada (SIERAKOWSKI et al., 1990), logo, pode se verificar que a ora-pro-nobis tem sua composição balanceada, pois suas folhas também possuem alto teor de aminoácidos essenciais, particularmente o aminoácido lisina, que é superior quando comparados com vários alimentos tais como a alface, couve, espinafre (ALMEIDA-FILHO e CAMBRAIA, 1974).

A principal fonte de energia para o homem vem dos carboidratos. Estes aparecem na natureza como produtos da fotossíntese. As folhas da *Pereskia aculeata* Miller contêm polissacarídeos que são altamente ramificados, sendo estes: arabinofuranose, arabinopirranose, galactopirranose, galactopiranosil, ácido urônico, e unidades de ramnopire (SIERAKOWSKI et al., 1990).

Os lipídios são moléculas com alta densidade energética. Geralmente aparecem em pequenas quantidades nas frutas e hortaliças (BROUN et al., 1999). A composição centesimal de ora-pro-nóbis encontrada por alguns autores foram de 3,22%, e 5,07%, 9,0% para lipídios (BEZERRA et al., 2016; ALMEIDA et al., 2014; RODRIGUES et al., 2015).

As folhas de *Pereskia aculeata* podem ser exploradas comercialmente como ingredientes funcionais, pois possuem 39,1% em base seca de fibra dietética total, e teores de 3,42 mg, 100g⁻¹ de cálcio, 1,9 mg 100g⁻¹ de magnésio, 46,4 mg 100g⁻¹ de manganês, 26,7 mg 100g⁻¹ de zinco e 2333UI 100g⁻¹ de vitaminas A, 185,8 mg 100g⁻¹ de vitamina C e 19,3 mg 100g⁻¹ de ácido fólico, segundo os autores acima citados.

3.3. COMPOSTOS BIOATIVOS

Compostos bioativos dos alimentos (CBA) são definidos como compostos extra nutricionais presentes geralmente em pequenas quantidades nos alimentos; quando ingeridos em quantidades significantes, exercem papel importante na proteção da saúde humana. Existem na natureza em grande quantidade, com uma variação na estrutura química bem ampla. Os compostos bioativos são divididos em classes diferentes, sendo os polifenóis, os carotenóides, e glicosinolatos os três principais grupos presentes em na dieta humana do dia a dia (HORST et al., 2016).

Embora existam estudos acerca da composição fitoquímica e atividades biológicas de extratos das folhas de *Pereskia aculeata* (GARCIA et al., 2019; GARCIA et al., 2020), informações sobre os compostos bioativos e capacidade antioxidante das frutas de ora-pro-nóbis ainda são escassas (SILVA, 2018).

3.3.1. Compostos Fenólicos

As plantas possuem uma grande variedade de metabólitos secundários altamente bioativos, que contêm um grupo fenol (grupo hidroxila funcional em anel aromático). Estas moléculas aromáticas, chamadas de compostos fenólicos, podem se acumular em todas as partes do vegetal, a saber, as raízes, caules, folhas, flores e frutos (LIU et al., 2019). Nas plantas são fundamentais para o crescimento e reprodução, sendo formados em condições de estresse como, infecções, ferimentos, radiações UV (ultravioleta), dentre outros, enquanto no ser humano podem exercer efeitos preventivos e/ou curativos em distúrbios fisiológicos, devido à sua ação antioxidante não enzimática.

Os compostos fenólicos (CF) atuam como agentes de defesa aos estresses causados aos vegetais e a frutos, conferindo maior adstringência, coloração e sabor a esses alimentos. Por possuírem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, e também por auxiliarem a realizar modulação intestinal, tem mostrado que tem efeitos benéficos na promoção da saúde, auxiliando na proteção de doenças como diabetes melitus, doenças cardiovasculares, câncer e doenças degenerativas (ARNOSO et al., 2019).

3.3.2. Atividade Antioxidante

Antioxidante, segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), é a substância que pode prevenir ou retardar a alteração oxidativa do alimento. Os antioxidantes do ponto de vista químico são compostos aromáticos que contém no mínimo um anel hidroxila. Podem ser sintéticos (BHA- butilhidroxianisol, e BHT- butilhidroxitolueno), sendo utilizados na indústria alimentícia, ou podem ser naturais, substâncias bioativas, tais como compostos fenólicos, organosulfurados e terpenos, estando estes na constituição de diversos alimentos. São encontrados na maior parte das vezes nos alimentos (frutas, legumes e hortaliças e cereais integrais), que exercem ações saudáveis sobre o organismo. A FDA (Food and Drug Administration) tem como regulação que antioxidantes são substâncias que quando utilizadas ajudam a preservar os alimentos, retardando a deterioração, rancidez, descoloração provenientes da autooxidação (WANKANNE, M., 2009).

Os fitocomponentes fenólicos são em grande parte responsáveis pela atividade antioxidante de matrizes vegetais (CORRÊA et al., 2019).

3.4. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO BASEADOS EM TECNOLOGIAS LIMPAS

Novas técnicas alternativas de extração para o isolamento de extratos ricos em fitoquímicos são ferramentas importantes para desenvolver processos de baixo impacto ambiental. Estas abordagens são consideradas tecnologias limpas por permitir a utilização de menores volumes de solventes e menores tempos de extração, além de serem em sua maioria tecnologias não-térmicas (que não consomem energia e ainda evitam a degradação de compostos termolábeis). A adoção destas técnicas emergentes ajuda a fechar o ciclo de uma economia circular de base biológica que tem o potencial de apoiar o alcance de metas sustentáveis em várias frentes (ZUIN et al., 2020).

Segundo Bendicho et al. (2012), o banho ultrassônico é uma maneira rápida e simples de extração, a qual atende a alguns dos princípios da química verde quando se diz respeito a

diminuição na geração de resíduos e na prevenção de riscos ambientais, devido ao fato da utilização de reagentes diluídos e/ou utilizados em volumes reduzidos. Esses atributos, atrelados a um baixo custo, quando também é comparado aos processos utilizando micro-ondas, faz com que o método de extração assistida por ultrassom seja uma alternativa muito viável no que diz respeito ao preparo de amostras.

A técnica de extração por fluido supercrítico apresenta muitos atrativos para o processamento de produtos de ocorrência natural de fácil oxidação, decorrente das várias características distintas, tais como a facilidade de recuperação do soluto e reciclagem do solvente com a simples manipulação de temperatura e/ou pressão, a possibilidade de direcionar a separação pela escolha a priori das condições termodinâmicas de temperatura e/ou a pressão. Com isso, a sintonia do poder de solvência do fluido usado na extração para uma determinada extração e/ou separação, e o controle da seletividade do processo pela escolha apropriada do solvente e da combinação solvente/cossolvente utilizados. Fluidos inertes não tóxicos, que não são inflamáveis, não são agressivos ao meio ambiente e com temperaturas críticas baixas, como dióxido de carbono, apresentam uma possibilidade da realização da extração e do fracionamento sem os riscos de deixar resíduos indesejáveis e/ou degradar termicamente os produtos obtidos, o que ocorre quando se extrai carotenóides pelo método convencional. Por isso, o método de extração de fluido supercrítico se torna uma alternativa viável de extração, principalmente usando dióxido de carbono como extrator (CONTADO et al., 2010).

O dióxido de carbono (CO_2) apresenta uma certa vantagem quando comparada aos métodos tradicionais de extração e separação, por ser inerte, solvente e não inflamável. Depois da água, ele é o elemento de menor custo, podendo ser novamente reutilizado, baixando assim, custo operacional (SERAFINI, 2001; CASSEL et al, 2008; MAUL et al, 1996).

O CO_2 é uma molécula apolar. Compostos orgânicos apolares ou levemente polares de baixo peso molecular, como ácidos fenólicos e flavonóides não glicosados geralmente são moderadamente solúveis, ao passo que, compostos altamente polares, com maior peso molecular, como açúcares, polissacarídeos, taninos são dificilmente solúveis no CO_2 supercrítico puro (TAYLOR, 1996; MUKHOPADHYAY, 2000; BRUNNER, 2005).

3.4.1. Extração Assistida por Ultrassom

A extração assistida por ultrassom se baseia na propagação das ondas ultrassônicas e das forças de cavitação resultantes, onde as bolhas geradas podem se chocar de forma intensa e gera pressão local causando a ruptura dos tecidos, favorecendo a liberação de substâncias

intracelulares no solvente (KNORR et al., 2004; SHALMASHI et al., 2009; GOULA, 2013). Não é uma técnica comumente utilizada na extração de óleos vegetais, porém, já existem relatos na literatura de sua utilização (THOE et al., 1998). A vantagem deste método é a simplicidade do equipamento na redução da quantidade dos reagentes que são utilizados, tendo também como vantagem a possibilidade de utilizar diferentes solventes para extração, além de diminuir o tempo para realizá-las (THOE et al., 1998; MULET et al., 2002; FREITAS, 2007; CARDOSO et al., 2014).

3.4.2. Extração Assistida por Fluido Supercrítico

O método de extração com fluido supercrítico pode ser definido como a solubilização de compostos de uma matriz sólida ou líquida em um solvente em condições supercríticas. Utilizam-se solventes acima de seus pontos críticos para extrair componentes solúveis de uma mistura. Ou seja, este método é empregado em condições de temperatura e pressão acima do ponto crítico, assegurando elevado poder de solvatação e coeficiente de difusão, baixa tensão superficial e viscosidade. Somam-se a isso os benefícios ambientais, porque se utiliza o CO₂ como solvente, que pode ser um processo mais limpo a natureza (PENEDO & COELHO, 1997; FREITAS et al., 2007; SILVEIRA et al., 2012; TIAN et al., 2012; SANTOS et al., 2013; KNEZ et al., 2014).

Segundo Da Silva et al. (2016), quando se faz o método de extração de EFS, aplicado a produtos naturais, esses terão como principais bioativos: os compostos antioxidantes (41% dos estudos), compostos com atividade antibacteriana (10% dos estudos), e compostos antitumorais (18% dos estudos).

O processo de EFS pode ser dividido em três estágios. A primeira etapa tem-se o período de taxa de extração constante, ou seja, a superfície externa das partículas é coberta por um soluto que está facilmente acessível, e onde a solubilidade é o mecanismo dominante de transferência de massa. Já a segunda etapa consiste em um período de redução da taxa de extração, onde a quantidade de soluto na superfície externa da matriz diminui e o mecanismo de difusão se inicia operando junto com a solubilidade. Na última etapa se tem uma baixa taxa de extração, onde a camada externa do soluto já foi removida quase que totalmente, e sua transferência de massa ocorre principalmente por difusão dentro de partículas sólidas (Da Silva et al., 2016).

3.4.3. Extração Assistida por Hidrodestilação/Maceração

Dentre os métodos existentes de extração de óleos essenciais, destilação a vapor, hidrodestilação, extração por solventes, o mais usual e recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é o de hidrodestilação, pelo baixo custo e praticidade. Para realização deste método são utilizados aparelhos Clevenger acoplados em balões onde o material vegetal é inserido juntamente com uma quantidade de água destilada que, após a fervura, o vapor contendo os compostos voláteis é arrastado até o condensador. A partir dessa etapa o óleo essencial e o vapor condensam e se separam por densidade. O teor e a composição química do óleo essencial obtido podem variar conforme o tempo e a espécie estudada (VENSKUTONIS, 2003; JANTAN et al., 2003).

A maceração explora o fenômeno de difusão do solvente através do tecido vegetal. Nesse procedimento, o material botânico deve ser dividido em pequenos fragmentos e ser deixado em contato com o solvente por um determinado tempo, que varia de três horas até três semanas, em temperatura ambiente. É necessário revolver em tempo determinado e, ao final, realizar a filtragem e prensagem. Este processo é não seletivo, lento, inviável para extrair todo o princípio ativo, porém preliminar para outros processos de extração como: percolação, infusão e decocção (FONSECA, 2005, HANDA et al, 2008; BRASIL, 2010).

Em suas modalidades, a maceração pode ser estática ou dinâmica. No primeiro caso, o contato do solvente com os fragmentos da planta é feito por um tempo estabelecido e em repouso. No caso da maceração dinâmica, a mistura em extração é mantida sob agitação por um tempo determinado (BRASIL, 2010).

Almeida et al, 2014 demonstrou que a OPN tem 28,99 gramas de proteínas/100 gramas de matéria seca, são, portanto, consideradas de alta qualidade, apresentando 85% de digestibilidade além de conter alto teores de aminoácidos essenciais.

3.5. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Entre os métodos de análise de misturas a cromatografia ocupa um lugar de destaque graças a sua versatilidade para efetuar a separação, identificação e quantificação de espécies químicas. A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura. Ela é constituída de uma fase móvel e outra estacionária. A fase móvel é utilizada para transportar a amostra sobre a fase estacionária, de modo que graças às diferentes propriedades dos componentes da mistura elas são separadas (COLLINS et al., 2006).

Comparando com os demais tipos de cromatografia, a cromatografia a gás possui excelente poder de separação ou resolução de constituintes voláteis e termicamente estáveis de uma mistura, possibilitando a análise de dezenas de substâncias presentes na amostra. Também possui um grau elevado de sensibilidade na detecção dos componentes, permitindo o estudo de substâncias em concentrações da ordem de nanogramas. Como característica importante da técnica, ela necessita de pequenas quantidades de amostra para a análise, correspondendo a uma grande vantagem na utilização deste método analítico (SKOOG, 2006; COLLINS, et al., 2006).

A cromatografia líquida é uma das técnicas mais utilizadas para separação, identificação e quantificação dos compostos fenólicos (NACZK & SHAHIDI, 2004). Com o avanço tecnológico foi possível usar suporte (fase estacionária) com partículas muito pequenas (diâmetro $<2,0\ \mu\text{m}$) e que possam suportar elevadas pressões. Devido à utilização de colunas com grande capacidade de separação (fase estacionária) aliada à fase móvel líquida, a técnica requer a utilização de equipamentos específicos, resultando em análises com melhor resolução, separações mais rápidas, menor consumo de fase móvel, menor quantidade de resíduos gerados e menor custo com solvente, sendo um método adequado para separação de espécies iônicas e/ou macromoléculas (MOLTIVA et al., 2013; DEGANI et al., 1998; PERES, 2002).

3.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A capacidade antioxidante de plantas pode ser feita por diferentes métodos de extração ou de quantificação. Geralmente, utiliza-se processos oxidativos que envolvem a adição de um agente iniciador para acelerar o processo, como agitação, temperatura, disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, ou metal de transição (ANTOLOVICH, et al, 2002).

O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, disposto na cor violeta estável, e possui absorção máxima na faixa de 515-520 nm. Quando fica presente a um doador de oxigênio, o radical é reduzido e a intensidade de absorção diminui. Quanto maior a doação de hidrogênio feito por esses compostos, a coloração vai ser modificada de violeta para amarela (DUARTE-ALMEIDA et al, 2006).

A atividade antioxidante de sequestro do radical DPPH (2,2 difenil-1-picrihidrazil) tem duas formas de se expressar, utilizar uma curva padrão com o antioxidante sintético Trolox, ou através de equações para determinação da atividade antioxidante, lembrando que o princípio das reações é o mesmo (BRAND- WILLIAMS et al, 1995).

Já o método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), costuma ser muito utilizado também entre as análises antioxidantes por ser uma análise que envolve a redução do Fe^{3+} a

Fe^{2+} . A reação ocorre na presença de 2,4,6-tri(2-piridil) -1,3,5-triazina (TPTZ) em condições ácidas, ocorrendo a formação de um complexo corado. O complexo férrico-tripiridiltriazina (FeIII-TPZ) se reduz a complexo ferroso (FeII-TPZ) na presença de antioxidante (RUFINO et al, 2006).

O método ABTS (2,2-azino-bis-(3-etil-6-ácido-sulfônico) vai determinar a atividade antioxidante total pela captura do radical ABTS^+ . O início da reação é parecido com o método DPPH, porém o radical ABTS^+ se forma no início da análise, lembrando que no método DPPH ele já é adquirido na sua forma radicalar. O radical DPPH é solúvel em solventes orgânicos, diferindo do método ABTS, pois o ABTS^+ é solúvel tanto em água como em solventes orgânicos, permitindo analisar as amostras lipofílicas e hidrofílicas (RUFINO et al, 2007).

4. ARTIGO 1

ORA PRO NÓBIS – CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ANALIZADOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO: UMA REVISÃO

Denise Bertin Carnevalli¹, Cintia Neves Ramos², Laura Paulino Mardigan³, Rúbia Correa Carvalho Gomes^{1,3}, José Eduardo Gonçalves^{1,3, *}

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Maringá-PR, Brasil.

²Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Av. Guedner 1610, 87050-390, Maringá-PR, Brasil

³Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR

*jose.goncalves@unicesumar.edu.br

Resumo

A ora-pro-nóbis (*Pereskia acuelata* Miller) tem tido grande destaque, pois suas folhas e frutos contêm compostos bioativos que podem apresentar propriedades químicas podendo ser utilizadas no abrandamento de processos inflamatórios na medicina tradicional. A planta ainda é pouco utilizada pelas indústrias químicas, alimentícia e farmacêutica. Alguns métodos de extração são utilizados para extrair compostos bioativos do extrato bruto de plantas, tais como maceração, fluído supercrítico e extração assistida por ultrassom que têm se destacado por atenderem aos princípios da química verde. A caracterização química dos extratos obtidos através da análise cromatográfica por CG-MS/MS e LC-MS/MS prova-se extremamente eficaz, pois possibilita a quantificação das variadas espécies químicas presentes no extrato, permitindo avaliar e comparar os resultados gerados em cada condição de extração escolhida. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo de revisão acerca da planta ora-pro-nobis. Para isto, foi realizado um estudo exploratório, por meio de levantamento teóricos em base de dados Science direct, Capes, Scielo, Pubmed, onde foi avaliado os métodos de extração, a caracterização química dos compostos avaliados e os compostos encontrados pelos autores. Conclui-se que realizar extração de plantas por diferentes métodos é um passo importante para as indústrias pois não existe nenhum estudo comparativo de diferentes métodos de extração da ora-pro-nóbis, identificando qual é o melhor método de extração com ótimo rendimento. A busca de estratégia de extrações diferentes, que estejam integradas a processos e produtos que consigam extrair de forma inteligente, minimizando desperdícios, demonstra um potencial inovador em pesquisas futuras.

Palavras-Chave: Análise cromatográfica; Compostos bioativos; Extração; Ora-pro-nóbis.

Abstract

The ora-pro-nobis has its origins in tropical America. It is found in Brazil from the Northeast to Rio Grande do Sul. The plant belongs to the Cactaceae family, to the genus *Pereskia*. Its leaves and fruits contain bioactive compounds that can have expectorant properties and can be used to mitigate inflammatory processes in traditional medicine. Despite its richness, the plant is still little used by the general population and the food and pharmaceutical industries. Some extraction methods are used to obtain bioactive compounds from the raw extract of plants, such as maceration, supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction that have stood out for meeting the principles of green chemistry. The chemical characterization of the extracts obtained through chromatographic analysis by CG-MS/MS and LC-MS/MS proves to be extremely effective, as it allows the quantification of the various chemical species present in the extract, allowing the evaluation and comparison of the results generated in each chosen extraction condition. The aim of this work is to carry out a review study on the plant *Pereskia aculeata* Miller. For this, an exploratory study was carried out, through a theoretical survey in the database Science direct, Capes, Scielo, Pubmed. It is concluded that extracting plants by different methods is an important step in industries, ensuring improvement in the quality of products, as well as there is no comparative study of different methods of extraction of ora-pro-nobis, identifying a better method with optimal Yield. The search for different extraction strategies, which are integrated with processes and products that can extract intelligently, minimizing waste, demonstrates an innovative potential in future research.

Keywords: Chromatographic analysis; Bioactive compounds; Extraction; Ora-pro-nobis.

Resumen

La ora-pro-nobis tiene su origen en la América tropical. Se encuentra en Brasil desde el noreste hasta Rio Grande do Sul. La planta pertenece a la familia Cactaceae, al género *Pereskia*. Sus hojas y frutos contienen compuestos bioactivos que pueden tener propiedades expectorantes y pueden usarse para mitigar procesos inflamatorios en la medicina tradicional. A pesar de su riqueza, la planta todavía es poco utilizada por la población en general y las industrias alimentaria y farmacéutica. Se utilizan algunos métodos de extracción para obtener compuestos bioactivos a partir del extracto crudo de plantas, como la maceración, el fluido supercrítico y la extracción asistida por ultrasonidos que se han destacado por cumplir con los principios de la química verde. La caracterización química de los extractos obtenidos mediante análisis cromatográfico por CG-MS / MS y LC-MS / MS resulta sumamente eficaz, ya que permite la cuantificación de las distintas especies químicas presentes en el extracto, permitiendo la evaluación y comparación de los resultados generados en cada condición de extracción elegida. El objetivo de este trabajo es realizar un estudio de revisión sobre la planta *Pereskia aculeata* Miller. Para ello, se realizó un estudio exploratorio, a través de un relevamiento teórico en la base de datos Science direct, Capes, Scielo, Pubmed. Se concluye que la extracción de plantas por diferentes métodos es un paso importante en las industrias, asegurando la mejora en la calidad de los productos, así como no existe un estudio comparativo de diferentes métodos de extracción de ora-pro-nobis, identificando un mejor método con óptimas Producción. La búsqueda de diferentes estrategias de extracción, que se integren con procesos y productos que puedan extraer de manera inteligente, minimizando los residuos, demuestra un potencial innovador en futuras investigaciones.

Palabras clave: Análisis cromatográfico; Compuestos bioactivos; Extracción; Ora-pro-nobis.

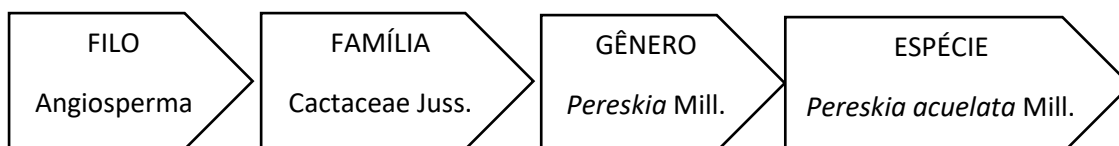
1. INTRODUÇÃO

A *Pereskia aculeata* Miller, conhecida no Brasil como ora-pro-nóbis (OPN) e outras plantas medicinais, têm sido largamente utilizadas na medicinal tradicional (HAO, DACHENG, 2019; BRASIL, 2010; TOFANELLI, M., RESENDE, S., 2011). A composição química da OPN tem alto teor proteico, vitamínico, rica em sais minerais, sendo ligadas a manutenção da saúde (MANAF, S, et al., 2016). As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANCs) ainda são pouco exploradas no Brasil, apesar da intensa biodiversidade do país, sendo a OPN uma dessas plantas (MIRANDA, M., et al, 2009; SANTOS, I, et al., 2012; SOUZA, M., 2009; CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL, 2011).

A *Pereskia aculeata* Miller foi a planta escolhida para o presente estudo, no qual foi realizado um estudo exploratório com base em levantamentos teóricos em base de dados Science direct, Capes, Scielo, Pubmed, tendo como descritores os métodos de extração, a caracterização química dos compostos avaliados, e os compostos encontrados pelos autores.

A *Pereskia aculeata* Miller tem a classificação botânica representada na Figura 2.

Figura 2: Hierarquia taxanômica da espécie *Pereskia Aculeata* Miller.



Fonte: KINNUO, 2006; ZAPPI et al,2020.

A OPN apresenta 20% de nutrientes na sua massa foliar, a depender de seu cultivo. São encontradas grandes quantidades dos aminoácidos lisina e triptofano (KAZAMA et al, 2012). É rica em fibras solúveis, importantes para o processo digestivo e intestinal. Possui vitaminas A, B e C, importantes para o processo imunológico, olhos e pele; além de minerais tais como ferro, cálcio e fósforo (ROCHA et al., 2008; SILVA JÚNIOR et al., 2010).

Estudos mostram compostos químicos caracterizados a partir do extrato bruto da *Pereskia aculeata* Miller. Compostos bioativos como taninos, flavonóides, fenólicos, inibidores de tripsina foram identificados (ALMEIDA et al, 2014), dentre eles estão α -caroteno, β -caroteno, luteína, estigmasterol, α -criptoxantina, β -criptoxantina, Sitosteroll (AGOSTINI-COSTA et al, 2014).

Alguns métodos utilizados para a obtenção do extrato bruto das plantas e separação de compostos bioativos são: fluído supercrítico, maceração, hidrodestilação, técnica assistida por

ultrassom (SARVIN, B., et al., 2018). Cada método apresenta especificações diferentes quanto ao processo extrativo, contudo todos os métodos possuem características que atendem aos princípios da Química Verde, devido à utilização de solventes de menor impacto ambiental e/ou em volumes reduzidos (OLIVEIRA et al., 2016; KNEZ et al., 2014; BRASIL, 2010).

A análise cromatográfica é extremamente importante para a caracterização química do extrato bruto obtido das plantas, pois, realiza a separação, identificação e possibilita a quantificação das variadas espécies químicas presente no extrato, permitindo avaliar e comparar os resultados gerados em cada técnica e condição de extração escolhida (NACZK; SHAHIDI, 2004; COLLINS, C., et al., 2006; GARMUS et al., 2015; SONG et al., 2019).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo de revisão acerca da planta ora pro nobis, descrevendo sua composição química, os diferentes métodos de extração utilizados para obtenção do extrato bruto, bem como a caracterização química obtida a partir do seu extrato especificando os principais compostos bioativos e antioxidantes obtidos.

1. METODOLOGIA

Para a realização do estudo de revisão, foi utilizado a metodologia PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*), recomendada por Liberati et al. (2009). Os textos inseridos no presente estudo seguiram as seguintes normas: texto integral original escrito em inglês, português e/ou espanhol; com acesso gratuito e/ou pago; artigos, teses ou dissertações. Os critérios escolhidos para exclusão foram: trabalhos de curso de graduação, trabalhos fora de linguagem definida. Foi estabelecido uma busca de trabalhos dos últimos dez anos.

As consultas para a montagem da base de dados para o presente artigo foram: Scielo, Science Direct, Pubmed, Capes, Redaly, e Portal Brasileiro de Teses e Dissertações (BDTD). Foi utilizado os seguintes descritores para a busca de dados: *Pereskia acuelata* Miller, ora-pro-nóbis, métodos de extrações, Maceração, fluído supercrítico, extração por ultrassom, cromatografia líquida, cromatografia gasosa, caracterização química, solventes, solventes biodegradáveis. As bases de dados e respectivos endereços eletrônicos estão dispostos na tabela 1.

Após pesquisa, foi feito a tabulação dos artigos em ordem de autor, quais os métodos utilizados em sua pesquisa, como foi realizado a caracterização química dos compostos, e quais os principais compostos encontrados em casa trabalho.

Tabela 1: Fonte de dados utilizados na pesquisa

Base de dados	Endereço Eletrônico utilizados
Scielo	Search.scielo.org
Science Direct	Sciencedirect.com
Pubmed	ncbi.nlm.nih.gov
Capes	Periódicos.capes.gov
Redaly	https://www.redalyc.org/
Portal Brasileiro de Teses e Dissertações	https://bdtd.ibict.br/vufind/

Fonte: Acervo do autor, 2022.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

A revisão tabulou 10 artigos, evidenciando diferentes abordagens quanto a extração e caracterização química da *Pereskia Aculeata* Miller na obtenção de compostos bioativos, proteínas e carboidratos, como é apresentado na Tabela 2.

O termo PANC foi criado em 2008 pelo biólogo Valdely Ferreira Kinnup e está associado a um potencial de variação alimentar com diminuição dos impactos ambientais e enaltecimento de recursos naturais. São consideradas PANCs seus frutos, folhas, flores, rizomas e outras partes das plantas de espécies nativas ou exóticas que podem ser consumidas pelos seres humanos em território brasileiro, quer sejam encontradas na natureza, quer sejam domesticadas e cultivadas comercialmente (KINUPP; LORENZI, 2014). Algumas destas espécies de plantas possuem importância cultural, ecológica e econômica (KINUPP; BARROS, 2008).

As Pangs também exercem o papel de alimentos funcionais, pois são compostas de vitaminas essenciais, antioxidantes, minerais, além de fibras, ou seja, todos nutrientes importantes a boa manutenção a saúde (KELEN et al, 2015). Dentre as PANCs pode-se citar a *Pereskia aculeata* Mille (Figura 2) que é composta por folhas, flores, caule e frutos (Kinnup, 2006). As plantas pertencentes a família Cactaceae geralmente possuem habitat natural desértico e semidesértico, ao qual lhes conferem adaptações peculiares importantes para a sobrevivência, devido à escassez de água e nutrientes, permitindo que sejam perenes mesmo aderidas a esses ambientes Xerofíticos (Altesor & Ezcurra, 2003).

Alguns de seus mecanismos de defesa estão associados aos compostos fitoquímicos presentes em suas estruturas, como alcalóides, flavonóides, terpenos, e taninos, substâncias associadas a atividades biológicas (Harlev et al., 2012).

O gênero *Pereskia* é considerado o menos avançado da família Cactaceae, possui 17 espécies divididas em dois sub-grupos, distribuídos principalmente nas regiões entre Brasil e México (Sharif et al., 2013). Estas plantas contêm caules lenhosos, folhas suculentas e flores distribuídas em cimeiras terminais (Souza, 2005; Kinupp, 2007).

A *Pereskia aculeata* Miller é considerada uma trepadeira arbustiva, suas folhas (Figura 2-a) apresentam coloração verde, formato simétrico, elíptico e de textura coriácea (Rosa & Souza, 2003). As flores (Figura 2-c) são pequenas e brancas, possuem fruto (Figura 2-d) com sementes imersas em uma massa gelatinosa, de cor que varia entre o amarelo e o vermelho quando maduros e verde quando imaturos (Rosa & Souza, 2003). No caule (Figura 2-b) há a presença de espinhos em forma de agulha, que nos ramos mais velhos crescem aglomerados (Brasil, 2010).

Figura 3: Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller): (A) – Folhas; (B) – Caule lignificado com espinhos em forma de agulha; (C) – Flores e (D) – Frutos imaturos.



Fonte: Adaptado de O BOM DAQUI (2014); ORATÓRIO ALIMENTOS (2014); SANTOS et al. (2012).

A espécie *Pereskia aculeata* Miller é conhecida por diversos nomes, groselheira-de-barbados, carne-de-pobre, lobrobó, sendo o mais comum ora-pro-nóbis (BRASIL, 2015; KINNUP & LORENZI, 2014). A planta é facilmente cultivada, pois é rústica, perene e que se propaga facilmente. O método de plantio é o de utilização de estacas, por conferir maior eficiência, encurtando o ciclo de sua produção (TOFANELLI e RESENDE, 2011). A força do enraizamento, além da qualidade e da quantidade das estacas (sendo estas, matrizes saudáveis

e vigorosas), varia de acordo com o tipo da espécie, as condições ambientais, o modo de cultivar, além da condição interna da própria planta (MADEIRA, N; et al, 2016).

As folhas, flores, caule e frutos da ora-pro-nóbis podem ser utilizados no preparo de alimentos (KINNUP & LORENZI, 2014) e para fins medicinais, pois confere poder emoliente, auxilia em tratamentos inflamatórios, de osteoporose, anemia ferropriva, hemorroidas, varizes, problemas intestinais, afecções na pele, além de apresentar função antifúngica e antibacteriana (SOUZA et al, 2016).

A ora-pro-nóbis apresenta 20% de nutrientes na sua massa foliar, a depender de seu cultivo. De modo geral é rica em proteínas, fibras e aminoácidos essenciais como lisina e triptofano (KAZAMA et al, 2012), destacando a lisina, pois o teor encontrado é superior quando comparados com outras hortaliças tais como a alface, couve, espinafre (ALMEIDA-FILHO e CAMBRAIA, 1974).

Na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO), 2011, tem-se que 100 gramas de feijão preto contém 4,5 gramas de proteína. Enquanto em 100 gramas de folhas trituradas em peso seco de ora-pro-nóbis, encontra-se 18,95 gramas de proteína, revelando maior valor quando comparado ao feijão (RODRIGUES et al, 2015). No estudo de Almeida et al, 2014, os autores encontraram teor de 28,99 g/100g de proteínas totais na farinha das folhas da ora-pro-nóbis. Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), é necessário que 15% da alimentação humana diária seja proveniente de Proteínas, o que equivale a 40 gramas ao dia, logo. Com aproximadamente 200 gramas da planta, é possível quase suprir as necessidades proteicas diárias recomendadas.

Para que o alimento seja considerado rico em fibras importantes para o processo digestivo e intestinal, este deve possuir 6 gramas de fibras / 100 gramas de produto (BRASIL, 2010). De acordo com Takeiti *et al* 2009, o conteúdo de fibras solúveis encontrados nas folhas secas de ora-pro-nóbis foi de 5,2 g/100g, valor aproximado ao indicado.

Considerando os microelementos, alguns estudos apontam as folhas de ora-pro-nóbis como boas fontes de minerais na dieta diária. Nos estudos de Takeiti *et al* 2009, e de Almeida *et al* 2014, foram encontrados altos níveis de ferro com 14,2 e 20,56 mg/100 g, sendo classificados como superiores aos níveis de espinafre e outros vegetais folhosos. Os mesmos estudos também mostram 3420 mg/100gr (TAKEITI et al., 2009) e 1346,67 mg/ 100gr (ALMEIDA et al., 2014) de cálcio em folhas secas da planta, sendo superiores aos valores encontrados no leite em pó integral (570mg/100g), queijos minas frescal (579 mg/100g), parmesão 992 mg/100g, segundo a tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011).

Além disso, a massa foliar da ora-pro-nóbis possui vitaminas A, B e C, importantes para o processo imunológico, olhos e pele (ROCHA et al., 2008; SILVA JÚNIOR et al., 2010). A ausência de toxicidade foliar faz dela um alimento importante e útil (ALMEIDA-FILHO e CAMBRAIA, 1974), caracterizando uma fonte complementar na dieta de muitos brasileiros (ALMEIDA e CORRÊA, 2012; TAKEITI et al., 2009).

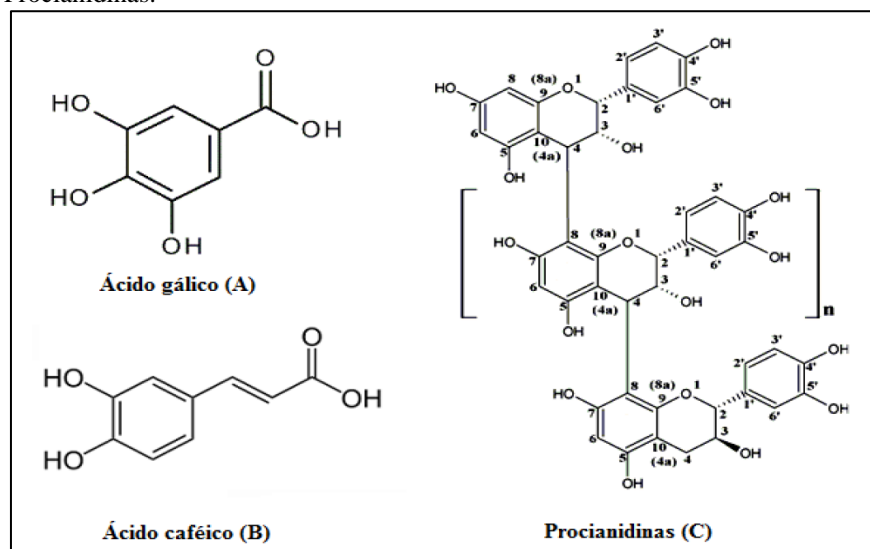
Estudos mostram compostos químicos caracterizados a partir do extrato bruto da *Pereskia acuelata* Miller. Compostos bioativos como taninos, flavonóides, fenólicos, inibidores de tripsina foram identificados (ALMEIDA et al., 2014), dentre eles estão α -caroteno, β -caroteno, luteína, estigmasterol, α -criptoxantina, β -criptoxantina, Sitosteroll (AGOSTINI-COSTA et al., 2012).

Compostos bioativos dos alimentos (CBA) são definidos como compostos extra nutricionais presentes geralmente em pequenas quantidades nos alimentos que possuem ampla variação quanto a estrutura química. Os CBA são divididos em classes diferentes, sendo os polifenóis, os carotenóides, e glicosinatos os três principais grupos presentes em na dieta humana do dia a dia (HORST et al., 2016).

De acordo com Sujhata *et al* (2017), compostos bioativos de modo geral têm as seguintes características: atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena, atividade androgênica, dermatitogênica, hipocolesterolêmico, coletérico, propriedades antioxidantes, antitumorais, antiespasmódico, vasodilatador, antidiabético, hepatoprotetor, hipoglicêmico, antihepatotóxico.

Dentre os compostos bioativos pode-se destacar os compostos fenólicos, moléculas que contêm um grupo fenol (grupo hidroxila funcional em anel aromático) e podem apresentar alto teor antioxidante. Estas moléculas aromáticas atuam como agentes de defesa aos estresses causados aos vegetais e a frutos, conferindo maior adstringência, coloração e sabor a esses alimentos (ARNOSO et al., 2019). Os fenólicos constituem um grupo com estruturas amplamente diversificadas, com mais de 8000 moléculas correntemente conhecidas, que podem variar desde moléculas fenólicas simples, como ácido gálico (Fig. 2A) e ácido caféico (Fig. 2B), até compostos altamente polimerizados, como as procianidinas (Fig. 2C) (CHEYNIER, 2012).

Figura 4: Fórmulas estruturais dos compostos fenólicos: A – Ácido gálico; B – Ácido caféico; e C – Procianidinas.



Fonte: Adaptado de OLIVEIRA; BASTOS, 2011; BATTESTIN et al., 2004; QUEIROZ et al., 2002.

Alguns métodos utilizados para a obtenção do extrato bruto das plantas e separação de compostos bioativos conforme pode se observar na figura 4 são: fluído supercrítico, maceração, hidrodestilação, técnica assistida por ultrassom (SARVIN, B., et al., 2018). Cada método apresenta especificações diferentes quanto ao processo extrativo, contudo todos os métodos possuem características que atendem aos princípios da Química Verde, devido à utilização de solventes de menor impacto ambiental e/ou em volumes reduzidos (OLIVEIRA et al., 2016; KNEZ et al., 2014; BRASIL, 2010).

A extração por hidrodestilação é muito usual e recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) pelo baixo custo e praticidade. Para realização deste método são utilizados aparelhos Clevenger ou Soxhlet acoplados em balões onde o material vegetal é inserido juntamente com uma quantidade de água destilada que, após a fervura, o vapor contendo os compostos voláteis é arrastado até o condensador, e a partir dessa etapa o extrato e o vapor condensam e se separam por densidade (VENSKUTONIS, P., 2003; JANTAN, I., et al. 2003).

A extração assistida por ultrassom se baseia na propagação das ondas ultrassônicas e das forças de cavitação resultantes, onde as bolhas geradas podem se chocar de forma intensa e gera pressão local causando a ruptura dos tecidos, favorecendo a liberação e penetração de substâncias intra-celulares no solvente, aumentando sua taxa de extração (KNORR, D., et al., 2004; SHALMASHI, A., et al., 2009; GOULA, A., 2013; SANTOS, et al, 2015). A vantagem deste método de extração é a simplicidade do equipamento, volumes reduzidos de solventes utilizados e/ou uso de solventes biodegradáveis, e ainda possibilidade de utilizar diferentes

solventes para o processo, além de baixo custo e tempo de extração (FREITAS, S., 2007; CARDOSO, W., et al., 2014).

O método de extração com fluido supercrítico pode ser definido como a solubilização de compostos de uma matriz sólida ou líquida em um solvente em condições supercríticas. Utilizam-se solventes acima de seus pontos críticos para extrair componentes solúveis de uma mistura. Ou seja, este método é empregado em condições de temperatura e pressão acima do ponto crítico, assegurando elevado poder de solvatação e coeficiente de difusão, baixa tensão superficial e viscosidade. Somam-se a isso os benefícios ambientais, porque se utiliza o CO₂ como solvente, que é um processo mais limpo a natureza (PENEDO e COELHO, 1997; FREITAS et al., 2007; SILVEIRA et al., 2012; TIAN et al., 2012; SANTOS et al., 2013; KNEZ et al., 2014). Segundo Da Silva et al. (2016), quando se faz o método de extração de EFS, aplicado a produtos naturais, esses terão como principais bioativos: os compostos antioxidantes (41% dos estudos), compostos com atividade antibacteriana (10% dos estudos), e compostos antitumorais (18% dos estudos).

A técnica de extração por Maceração explora o fenômeno de difusão do solvente através do tecido vegetal. Nesse procedimento, o material botânico deve ser dividido em pequenos fragmentos e submetido ao contato com o solvente por tempo determinado que pode variar de três horas até três semanas, na temperatura ambiente. É necessário revolver em tempo determinado e, ao final, realizar a filtragem e prensagem. O processo é não seletivo, lento, inviável para extrair todo o princípio ativo, porém preliminar para outros processos de extração como: percolação, infusão e decocção (FONSECA, S., 2005, HANDA, S., 2008; ANS 2010). Em suas modalidades, a maceração pode ser estática ou dinâmica. No primeiro caso, o contato do solvente com os fragmentos da planta é feito por um tempo estabelecido e em repouso. No caso da maceração dinâmica, a mistura em extração é mantida sob agitação por um tempo determinado, podendo aumentar o rendimento da extração (ANS 2010). A vantagem desta técnica, é o baixo custo e facilidade de operacional (FONSECA, S., 2005, HANDA, S., 2008).

A partir da obtenção do extrato bruto da ora-pro-nóbis utilizando algum método extrativo descrito, a análise cromatográfica é extremamente importante para a sua caracterização química, pois, realiza a separação, identificação e possibilita a quantificação das variadas espécies químicas presente no extrato, permitindo avaliar e comparar os resultados gerados em cada técnica e condição de extração escolhida (NACZK; SHAHIDI, 2004; COLLINS, C., et al., 2006; GARMUS et al., 2015; SONG et al., 2019). Trata-se de um método físico e químico em que separa os componentes de uma mistura, constituindo de uma fase móvel e outra estacionária (COLLINS, et al, 2006). Dois métodos de análise cromatográfica podem ser

utilizados para esta caracterização: CG- MS/MS (Cromatografia Gasosa acoplado ao detector por Espectrometria de Massas em Série, e LC- MS/MS (Cromatografia Líquida de alta eficiência acoplada a Espectrometria de massas Sequencial).

Comparada com os demais tipos de cromatografia, a cromatografia a gás possui excelente poder de separação ou resolução de constituintes voláteis e termicamente estáveis de uma mistura, possibilitando a análise de dezenas de substâncias presentes na amostra. Também possui um grau elevado de sensibilidade na detecção dos componentes permitindo o estudo de substâncias em concentrações da ordem de nanogramas. Como característica importante da técnica, ela necessita de pequenas quantidades de amostra para a análise, correspondendo a uma grande vantagem na utilização deste método analítico (SKOOG, D., 2006; COLLINS, C., et al., 2006).

A cromatografia líquida é uma das técnicas mais utilizadas para separação, identificação e quantificação dos compostos fenólicos (NACZK; SHAHIDI, 2004). Com o avanço tecnológico foi possível usar suporte (fase estacionária) com partículas muito pequenas (diâmetro $< 2,0 \mu\text{m}$) e que possam suportar elevadas pressões. Devido à utilização de colunas com grande capacidade de separação (fase estacionária) aliada à fase móvel líquida, a técnica requer a utilização de equipamentos específicos, resultando em análises com melhor resolução, separações mais rápidas, menor consumo de fase móvel, menor quantidade de resíduos gerados e menor custo com solvente, sendo um método adequado para separação de espécies iônicas e/ou macromoléculas (PERES, T., 2002).

Garcia et al. (2019) fizeram a caracterização química avançada das folhas orgânicas de *Pereskia aculeata* Miller. Os autores identificaram um total de dez compostos fenólicos no extrato hidroetanólico das folhas, sendo dois ácidos fenólicos (derivados do ácido caféico) e oito flavonóides (quercetina, kaempferol e derivados de glicosídeo de isorhamnetina). O ácido caféico foi o composto majoritário (correspondeu a mais de 49% do conteúdo fenólico do extrato), seguido pela quercetina-3-O-rutinosídeo (14,99%) e isorhamnetina-O-pentosídeo-O-rutinosídeo (9,56%). Este extrato ainda apresentou atividades biológicas importantes (potenciais antioxidantes e antimicrobianos) e teve sua ausência de toxicidade comprovada.

Tabela 2: Comparativo entre diferentes métodos de extração, caracterização química e compostos principais obtidos a partir da Ora-pro-nóbis, por diferentes autores.

AUTOR	MÉTODO DE EXTRAÇÃO	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA	COMPOSTOS PRINCIPAIS
GARCIA et al. (2019)	Shaker/ Liofilização	Cromatografia Líquida (CL-EM)	Ácido caféico; Quercetina-3-O-rutinosídeo; Isorhamnetina-O-pentosídeo-O-rutinosídeo
HOSCHER et al. (2019)	Aparelho Clevenger	Cromatografia Gasosa (CG-EM)	Fitol, isotorquatona, 2-hexil-(E)-cinnamaldeído, ácido linoleico
DIDINI, C. N. (2019)	Banho Maria	Cromatografia Líquida (CLAE-DAD-EM)	Ácido cafeico; Quercetina-3-O-rutinosídeo
FRANCISCO T. (2018)	Trituração	Cromatografia Líquida (CL-EM)	Aspartato; Treonina; Serina; Glutamato
DE SOUZA et al. (2017)	Maceração/ Soxhlet	Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	Fenóis; flavanoides; catequinas; alcaloides.
SOUZA et al. (2016)	Maceração	Cromatografia Gasosa (CG-EM)	Fitol; ácido linoleico; Linoleato de Metila
MARTIN et al. (2015)	Soxhlet	Cromatografia Gasosa (CG-EM) e Cromatografia Líquida (HPLC)	L-Arabinose; D-Galactose; L-Ramnose; Ácido D-Galacturônico
DE SOUZA, T. (2014)	Liofilização	Cromatografia Líquida (CL-EM)	Ácido Clorogênico; Ácido Caféico; Ácido Ferúlico
SOUZA et al. (2014)	Trituração	Cromatografia Gasosa (CG-EM)	1-Tetradeceno; 9-Decenilacetato; (E)- β -Ionona; n-Pentadecano
AGOSTINI-COSTA et al. (2012)	Maceração	Cromatografia Líquida (HPLC-PAD)	Luteína; α -criptoxantina/ Zeinoxantina; β -criptoxantina; α -caroteno

Fonte: Acervo do autor, 2022.

Em Hoscher et al. (2019), os autores realizaram a caracterização química das folhas de ora-pro-nóbis através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas para obtenção de óleo essencial. Através da análise, identificaram vinte substâncias, dentre elas as classes de sesquiterpenos (41,17%), diterpenos (5,88%), fenilpropanoides (23,5%). O estudo fitoquímico detalhado revelou como substâncias majoritárias foram fitol, isotorquatona, 2-hexil-(E)-cinnamaldeído, ácido linoleico. Além disso, os autores compararam diferentes métodos de secagem das folhas da planta quanto ao rendimento do óleo essencial obtido.

Contudo, apesar das vastas pesquisas acerca do extrato bruto e óleo essencial da *Pereskia aculeata* Miller, observa-se a ausência de um trabalho cuja abordagem compare

diferentes métodos de extração, utilizando diferentes solventes, com caracterização química por cromatografia gasosa e/ou líquida, a fim de otimizar o procedimento para obter compostos bioativos específicos. Além disso, existe uma carência quanto a utilização dos métodos de extração por ultrassom assistida e fluído supercrítico, sendo esses métodos muito eficazes e importantes para o quesito Química Verde, devido à utilização de solventes de menor impacto ambiental e/ou em volumes reduzidos (OLIVEIRA et al., 2016; SANTOS et al., 2013; KNEZ et al., 2014; BRASIL, 2010).

3. CONCLUSÃO

Foram analisados 127 artigos. Dentro destes, 10 foram destacados para padronir a tabela analisada, no qual foi feito uma tabela dispondo os autores, os métodos de extração utilizados, a caracterização química e os compostos encontrados nos trabalhos. A revisão dos artigos analisados neste trabalho destacou que a ora-pro-nóbis tem um grande potencial no setor industrial alimentício e farmacêutico. É importante entender qual método extrativo de plantas é mais eficaz na extração de compostos bioativos, fenólicos e antioxidantes. A melhor alternativa a ser escolhida é a que concilie processos de extração de produtos com baixo consumo de energia, operações unitárias reduzidas, menor consumo de solventes convencionais e/ou uso de solventes biodegradáveis, e que promovam maior rendimento, desenvolvendo dessa forma, uma condição extrativa mais limpa e eficiente. A grande preocupação das indústrias é justamente desenvolver tecnologias inovadoras que apresentem essas características. Portanto, buscar estratégias diferentes de extrações, integradas aos processos de tecnologias limpas, demonstra um potencial inovador em pesquisas futuras.

BIBLIOGRAFIA

- AGOSTINI-COSTA, T; PÊSSOA, G.; SILVA, D. Carotenoid composition of berries and leaves from a Cactaceae - *Pereskia* sp. **Journal of Functional Foods**, v. 2, p. 178-184, 2012.
- ALMEIDA-FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Miler). **Revista Ceres**, v. 21, p 105-111, 1974.
- ALMEIDA, M. E. F.; JUNQUEIRA, A. M. B.; SIMÃO, A. A.; CORRÊA, A. D. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, p. 431-439, junho/2014.
- ALTESOR, A.; EZCURRA, E. Functional morphology and evolution of stem succulence in cacti. **Journal of arid environments**, London, v. 53, n. 4, p. 557- 567, 2003.

ANASTAS, P., ZIMMERMAN, J. Design of Though 12 principles GREEN Engineering. **Environmental Science Technology**, v. 37, p. 94A–101A, 2003.

ANS 2010 ANS. **Farmacopeia Brasileira**. Vol. 01, pag. 546, 2010. Disponível em: www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm .

ARNOSO, B.; COSTA, G.; SCHIMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**. V.18; n. 01; pg. 39-48, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.33233/nb.v18i1.1432>

AZMIR, J.; ZAIDUL, I., RAHMAN, M., SHARIF, K., MOHAMED, A., SAHENA, F., JAHURUL, M., GAFOOR, K., NARULAINI, N., OMAR, A. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of food engineering**, v. 117, n 4, p. 426-436, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.

BERNARDO, C., ASCHERI, J., CARVALHO, C. Efeito do ultrassom na extração e modificação de amidos. **Ciência rural**, v. 46, n.4 p. 739-746, 2016. DOI <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150156>.

BESEGATTO, S., CAPELEZZO, A., SILVA, L., FERNANDES, S., COSTELLI, M., SAVIO, J., LOPES, T. Extração do óleo Essencial e Extrato do Grão de Café Verde com a Utilização de CO2 Supercrítico. **Conference: XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.5151/chemeng-cobeq2014-1303-20000-172583>

BOUKROUFA, M., BOUTEKEDJIRET, C., PETIGNY, L., RAKOTOMANOMANA, R., CHEMAT, F. Bio-refinery of orange peels waste: a new concept based on integrated green and solvent free extraction process using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 24, p. 72-79, 2015.

BRASIL, **Ministério da Saúde**. Alimentos Regionais Brasileiros. MAPA/ACS, Brasília – DF. 2015. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/livro_alimentos_regionais_brasileiros.pdf. Acesso em: 12/08/2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Corporativismo. **Manual de hortaliças não-convencionais**. P 62, 2010.

BRUM, S.; ARRUDA, L. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matéria-prima de origem vegetal e animal. **Química nova**, v.32, n.4, p. 849-854, 2009.

CARDOSO, W.; ALMEIDA, W., GEREMIAS, R., PUCKOSKI, A., ANGIOLETTI, E. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. **Revista de Iniciação Científica**. Vol. 12, pag. 1-12, Criciúma, Santa Catarina, 2014.

CASSEL, E.; VARGAS, R.; BRUN, G. Processos de Extração Supercrítica Aplicados a Produtos Naturais In: **Fundamentos de Tecnologia de Productos Fitoterapêuticos**. 2. Edição, p. 213-228, 2008.

CELEGUINI, R.M.S. Otimização de extração hidroalcoólica das furanocumarinas de dorstenia por maceração. **Revista Brasileira de Medicina**. v. 9, n.2, p.61-66, 2007.

CHEMAT, F.; CRAVOTTO, G. Microwave-assisted extraction for bioactive compounds: theory and practice. New **York: Springer**, 2013. Doi: 10.1007/798-1-4614-4830-3.

CHEYNIER, 2012 Cheynier, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochem Rev** 11, 153–177 (2012). <https://doi.org/10.1007/s11101-012-9242-8>

COLLINS, C. BRAGA, G.; BONATO, P. Fundamentos de cromatografia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.. 42, N. 02. In: Fundamentos de cromatografia, 2006. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000200018>.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL. *Megadiversidade*. 2011. Disponível em: <http://www.conservation.org.br/como/index.php?id=11>. Acesso em: 19/11/2021.

CONG-CONG, X. WANG, B., PU, Y., TAO, J., ZHANG, T. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 15, n. 10, p. 721-731, 2017. Doi: 10.1016/S1875-5364(17)30103-6.

DAI, J., MUMPER, R. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, v. 15, p. 7313-7352, 2010.

DE SOUZA, A. T.; ABREU G. A. Prospecção fitoquímica da hortaliça não convencional *Pereskia aculeata* Miller (ora-pró-nobis). **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**. Pato Branco, 2017.

DE SOUZA, T. C. Perfil de compostos fenólicos extraídos de folhas da ora-pró-nobis (*Pereskia aculeata* Miller). **Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos**. Campinas, 2014.

DININI, C. N. Perfil químico e capacidade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais encontradas no Rio de Janeiro. **Centro de Ciência da Saúde, Instituto de Nutrição Josué Castro, Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana**. Rio de Janeiro, 2019.

DUARTE, M; HAYASHI, S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Miller (Cactaceae). **Revista Brasileira de. Farmacognosia**, Braziliam Journal Pharmacognosy, v. 15, n. 2, 2005.

ESPÍNDOLA, Z, J; ANDRADE, T, E; HALL, J. Aplicação da Metodologia Produção Mais Limpa (P+L) como Sugestão de Redução de Resíduos Sólidos em Agroindústrias de Café. **VII Congresso Nacional de Excelência em Gestão**. Disponível em: <www.inovarse.org/sites/default/files/T11_0354_1857>. Acesso em: 17 maio. 2021.

FARHAT, A., FABIANO-TIXIER, A., EL-MAATAOUL, M., MAINGONNAT, J. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism. **Food Chemistry**, v. 125, p.255-261, 2011. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.07.110

FERREIRA, B., BEIK, J., ALVES, S., HENRIQUE, F., SAUER, E., CHORNOBAI, C., BOWLES, S., CHAVES, E. Extração Assistida por Ultrassom para determinação de lipídeos em alimentos: Um experimento em laboratório. **Química Nova**, v. 43, n. 9, p. 1320-1325, 2020. FONSECA, S. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. p. 62, 2005. Disponível em: www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF.

FRANCISCO, T. C. T. Análise de hidrolisados proteicos de *Pereskia aculeata* Miller (Ora-Pró-Nobis). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 39, suple.1, 2018.

FREITAS, S, SILVA, O.; MIRANDA, I.; COELHO, M. Extração e fracionamento simultâneo de óleo castanha-do-brasil com etanol. **Revista Ciência Tecnologia de Alimentos**. V. 27, sup. 01, p. 14 -17, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000500002>.

FREITAS, P., ALMEIDA, N., MONTEIRO, L., EVANGELISTA, M., CONEGUNDES, J., MACIEL, M., PINTO, N. Glycolic extracts of “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Miller): Evaluation of its phenolic content and antioxidant potential. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n.1, p.1748-1760, 2021.

FLOCH, F., TENA, M., RIOS, A., VALCÁRCEL, M. Supercritical fluid extraction of phenols compounds from olive leaves. **Talanta**, v. 46, p. 1123-130, 1998.

GARCIA, J., CORRÊA, R., BARROS, L., PEREIRA, C., ABREU, R., ALVES, M., CALHELHA, R., BRACHT, A., PERALTA, R. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302-208. 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.074>.

GARMUS, T., PAVIANI, L. Extraction of phenolic compounds from pepper-rosmarin (*Lippia sidoides* Cham.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 99, 68-75, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.01.016>. Acesso em: 19/11/2021.

GONÇALVES, J., CORRÊA, R., BARROS, L., DIAS, M., CALHELHA, R., CORREA, V., BRACHT, A., PERALTA, R., FERREIRA, I. Effects of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation on a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) extract rich in rosmarinic acid. **Food Chemistry**, v. 271, p 393-390, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.132>.

GOULA, A. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - Kinetic modeling. **Journal of food Engineering**. Vol. 117, pag. 492-498, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.009>. Acesso em: 19/11/2021.

HANDA S.; KHANUJA, S.; LONGO, G.; RAKESH, D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. **International Centre for Science and High Technology**. ICS-UNIDO, AREA Science Park. P. 266, 2008. Disponível em: https://www.unido.org/sites/default/files/200910/Extraction_technologies_for_medicinal_and_aromatic_plants_0.pdf

HAO, DA-CHENG. Genomics and Evolution of medicinal Plants. **Ranunculales Medicinal Plants**. Biodiversity, Chemodiversity and Pharmacotherapy. Pag. 1-33, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814232-5.00001-0>. Acesso em: 19/11/202.

HARLEV, E. et al. A. Anticancer attributes of desert plants: a review. **Anticancer Drug**, London, v. 23, n. 3, p. 255–271, 2012.

HERRERO, M., PLAZA, M., CIFUENTES, A., IBANEZ, E. Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography and in-vitro assays. **Journal of Chromatography A**, v.1217, p. 2512-2520, 2010.

HOSCHER, R. H. Cinética de secagem e composição química do óleo essencial das folhas de *Pereskia aculeata* Miller. **Universidade Federal da Grande Dourados Faculdade de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola**. Dourados, 2019.

HORST, M.; LAJOLO, F. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5ª ed. São Paulo (Barueri): Editora Manole, p. 949-987, 2016.

HUANG, Z.; SHI, X-h.; JIANG, W-j. Theoretical models for supercritical fluid extraction. **Journal of Chromatography A**, v.1250, p.2-26, 2012.

JUNIOR, F., MARQUEZI, L., SAKAI, O., TERHAAG, M. Efeitos de diferentes técnicas extrativas na obtenção da β -ecdisona proveniente de *Pfaffiaglomerata*: um estudo de revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, e 24610414147, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14147>.

JANTAN, I.; LING, Y., ROMLI, S., AYOP, N. A comparative study of the constituents of the essential oils of three *Cinnamomum* species from Malaysia. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.387-91, 2003.

KAZAMA, C., UCHIDA, D., CANZI, K., SOUZA, P. Involvement of arginine-vasopressin in the diuretic and hypotensive effects of *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.144, n.1, p.86-93, 2012. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.08.034>.

KELEN, M.; NOUHUYS, I.; KEHL, L.; BRACK, P.; SILVA, D. **Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas**. (1ª ed.). UFRGS, Porto Alegre, 2015.

KINUPP, V. Plantas alimentícias alternativas no Brasil, uma fonte complementar de alimento e renda. **Cadernos de Agroecologia**, v. 1, n. 1, 2006.

KINUPP, V. Plantas alimentícias não-convencionais da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS. 562 f. Tese (Doutorado). **Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade Agronomia**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KINUPP, V.; LORENZI, H. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: Guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. **São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 2014.

KINUPP, V., BARROS, I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência tecnologia de Alimentos**. V. 28. N. 4. Out/dez.2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400013>.

KNEZ, Ž.; Markočič, E.; Leitgeb, M.; Primožič, M.; Knez Hrnčič, M.; Škerget, M. Industrial applications of supercritical fluids: A review. **Energy**, v. 77, p. 235-243, 2014.

KNORR, D.; ZENKE, M.; HEINZ, V.; UN-LEE, D. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science & Technology**. V. 15. P. 261-266, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>

KOSAR, M.; OZEK, T.; GÖGER, F.; KURKCUOĞLU, M. Comparison of microwave assisted hydrodistillation and hydrodistillation methods for the analysis of volatile secondary metabolites. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 6, p. 491-495, 2005.

KUKULA-KOCH, W., ALIGIANNIS, N., HALABALAKI, M., SKALTSOUNIS, A., GLOWNIAK, K., KALPOUTZAKIS, E. Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb. **Food Chemistry**, v. 138, i. 1, p. 406-413, 2013. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.045>

KUSUMA, H.; MAHFUD, M. Kinetic studies on extraction of essential oil from sandalwood (*Santalum album*) by microwave air-hydrodistillation method. **Alexandria Engineering Journal**, v. 57, Issue 2, p. 1163-1172, 20187.

LI, X., CHEN, F., LI, S., JIA, J. An efficient homogenate-microwave-assisted extraction of flavonols and anthocyanins from blackcurrant marc: optimization using combination of Plackett-Burman design and Box-Behnken design. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 834-847, 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.09.063>.

LIEW, S., NGOH, G., YUSOFF, R., TEOH, W. Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 426-435, 2016. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065>

MADEIRA, N.; AMARO, G.; MELO R.; BOTREL, N.; ROCHINSKI, E. Cultivo de ora-pro-nóbis (*Pereskia*) em plantio adensado sob manejo de colheitas sucessivas. **Circular Técnica**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa. V.156, P. 07-08, 2016. ISSN 1415-3033. Disponível em: www.embrapa.com.br.

MANDAL, V.; MOHAN, Y.; HEMALATHA, S. Microwave assisted extraction – An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 1, p. 7-18, 2007.

MANAF, S.; MOHD, H.; DAUD.; ALIMON, A.; MUSTAPHA, N.; HAMDAN, R.; MUNIADY, K.; MOHAMED, N.; RAZAK, R.; HAMID, N. The Effects of *Vitex trifolia*, *Strobilanthes crispus* and *Aloe vera* Herbal-mixed Dietary Supplementation on Growth

Performance and Disease Resistance in Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.). **Journal of Aquaculture Research & Development**. Vol. 7, ISSUE 4, 2016. DOI: 10.4172/2155-9546.1000425.

MARAN, J., SIMAKUVAR, V., THIRUGANASAMBANDHAM, K., SRIDHAR, R. Microwave assisted extraction of pectin from waste *Citrullus lanatus* fruit rinds. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 786-791, 2014.

MARTIN, A. A. Características físico-químicas do hidrocolóide de folhas de *Pereskia aculeata*. Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, da Universidade Federal do Paraná. 2015.

MIRANDA, M. O potencial da Ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, vol. 4, num. 2, 2009. Disponível em: <http://revistas.abagroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em: 19/11/2021.

MUSTAFA, A., TURNER, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: a review. **Analytica Chimica Acta**. v. 703, p. 8-18, 2011. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267011009597>. Acesso em: 05/06/2021 doi: 10.1016/j.aca.2011.07.018

NACZK, M.; SHAHID, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatograph**, v. 1054, issue 1-2, p. 95-111, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>

NGO, T., SCARLETT, J., BOWYER, M., NGO, P., VUONG, Q. “Impact of Different Extraction Solvents on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity from the Root of *Salacia chinensis* L.”. **Journal of Food Quality**. v. 2017, p. 1-8, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/9305047>

OJHA, K., AZNAR, R., O'DONELL, C., TIWARI, B. Ultrasound technology for the extraction of biologically active molecules from plant, animal and marine sources. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 122, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.115663>.

OLIVEIRA, R.; ROCHA, J.; PINHEIRO, K.; MENDONÇA, M.; BARÃO, C. Aplicação de processo ultrassom na extração de catequinas dos resíduos de chá verde. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 7, n. 3, p. 29-40, Campo Mourão, 2016.

OROIAN, M., DRANCA, F., URSASHI, F. Comparative evaluation of maceration, microwave and ultrasonicassisted extraction of phenolic compounds from propolis. **Journal Food Science Technology**, v. 7, c. 1, p. 70–78, 2020. DOI <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04031-x>

PAGNUSSATT, A., SILVA, D., SEIFERT, M., MOURA, R., SCHIEDECK, G., RAMIREZ, R., LUCHIARI, I., NORA, L. Comparação de dois métodos de determinação de atividade antioxidante em folhas de *Pereskia aculeata*. **VIII Simpósio de alimentos para a região Sul**. v. 8, p. 1-4, 2013.ISSN: 2236-0409.

PENEDO, P. COELHO, G. Purificação de óleos vegetais por extração com CO₂ supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V. 17, n.4, p. 380-383, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20611997000400007>

PERES, T., 2002 PERES, T. **Noções básicas de cromatografia**. Biológico, São Paulo, vol. 64, num. 2, pag. 227-229, jul./dez, 2002.

PRISTA, L., MORGADO, R., ALVES, A. **Técnica farmacêutica e farmácia Galênica**. 8 Edição. Editora Calouste Gulbenkian, 2011.

RAJEWSKA, K., MIERZWA, D. Influence of ultrasound on the microstructure of plant tissue. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 43, p. 117-129, 2017.

REYES-JURADO, F., FRANCO-VEGA, A., RAMÍREZ-CORONA, N., PALOU, H., LÓPEZ-MAIO, A. Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and their Modeling. **Food Eng. Rev.**, v. 7, p. 275-297, 2015.

ROCHA, D.; PEREIRA JUNIOR, G.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L. Macarrão adicionado de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.4, p.459-465, 2008. Disponível em: <http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/656/552>.

RODRIGUES, S; MARINELLI, P.; OTOBONI, A.; TANAKA, A.; OLIVEIRA, A. Caracterização química e nutricional da farinha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller). **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAEF**. 2015. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/9w5WLNyeuBN8Ro2_2015-1-26-16-10-54.pdf.

ROSA, S. M.; SOUZA, L. A. Morfo-Anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de *Pereskia aculeata* Miller (cactácea). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 415-428, 2003.

RUESGAS-RAMON, M., FIGUEROA-ESPINOZA, M., DURAND, E. Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, p. 3591-3601, 2017.

SAHIN, S., MEHMET, B., UMUR, M. Investigation of oleuropein content in olive leaf extract obtained by supercritical fluid extraction and Soxhlet methods. **Separation Science and Technology**, v. 46, n. 11, p. 1829-1837, 2011. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/01496395.2011.573519>

SANTOS, I., PEDROSA, M., CARVALHO, O., GUIMARÃES, C., SILVA, L. Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais –EPAMIG**. Circular Técnica, num.177, dezembro, 2012. ISSN 0103-4413. Disponível em: <http://www.epamig.br/download/circular-tecnica-177/>. Acesso em: 19/11/2021.

SANTOS, P; AGUIAR, A; BARBERO, G.; REZENDE, C.; MARTINEZ-JULIAN. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2015.

SAOUD, A.; YUNUS, R.; AZIZ, A. Exploration of essential oil extraction by using microwave technique. **Regional Symposium on Chemical Engineering**. University of Malaysia, 2002.

SAOUD, A.; YUNUS, R.; AZIZ, R. Study of eucalyptus essential oil acquired by microwave extraction. **The Third World Congresso in Medicinal and Aromatic Plants for Human Welfare**, Thailand, 2003.

SARVIN, B, FDOROVA, E., SHPIGUN, O., TITOVA, M., NIKITIN, M., KOCHKIN, D., RODIN, I., STAVRIANIDI. LC-MS Determination of steroidal glycosides from *Dioscorea deltoidea* Wall cell suspension culture: Optimization of pre-LC-MS procedure parameters by Latin Square design. **Journal of Chromatography B**. Vol. 1080, pag. 64-70, March, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.02.012>. Acesso em: 19/11/2021.

SEIXAS, F., FUKUDA, D., TURBIANI, F., GARCIA, P. Extraction of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) by microwave-induced heating. *Food Hydrocolloids*, v. 38, p. 186-192, 2014.

SHALMASHI, A. Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seeds. **Journal of food Lipids**. V. 16, p. 465-474, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2009.01159.x>

SHARIF, K. M. et al. Pharmacological Relevance of Primitive Leafy Cactuses *Pereskia*. **Research Journal of BioTechnology**, Oklahoma, v. 8, n. 12, p. 134-142, 2013.

SILVA JÚNIOR, A.; NUNES, D.; BERTOLDI, F.; PALHANO, M.; KOMIEKIEWICZ, N. Pão de ora-pro-nóbis: um novo conceito de alimentação funcional. **Agropecuária Catarinense**, v. 23, n. 1, p. 35-37, 2010.

SILVEIRA, J; BUSATO, N.; COSTA, A.; COSTA JUNIOR, E. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**. Centro científico conhecer. V. 8, n. 15; p. 2038-2052, 2012.

SKERGET, M., KOTNIK, P., HADOLIN, M., HRAS, A., SIMONIC, M., KNEZ Z. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant material and their antioxidante activities. **Food Chemistry**. v. 89, p. 191-198, 2005. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025>

SKOOG, D. **Fundamentos de Química Analítica**. Grupo Editorial Norma, 8. Ed. [S1], p. 19-34, 2006.

SOARES, M., CAVALHEIRO, E, ANTUNES, A. Aplicação de extratos brutos de flores de quaresmeira e azaléia e da casca de feijão preto em volumetria ácido-base. Um experimento para cursos de análise quantitativa. **Química Nova na Escola**, n. 17, p. 408-411, 2001.

SONG, L. et al. Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (SONG, L. et al. Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) leaves and associated biological activities and flavonoid compositions. **Industrial Crops and Products**. Vol. 139, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111508>. Acesso em: 19/11/2021.

SORIA, A., VILLAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 323-331, 2010. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.003>

SOUZA, M., CORREA, E., GUIMARÃES, G., PEREIRA, P. Potencial da ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.3550–3554, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em 19/11/2021.

SOUZA, L., CAPUTO, L., BARROS, I., FRATIANNI, F., NAZZARO, F., FEO, V. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. International. **Journal of Molecular Sciences**. v. 17, n. 1478, p. 1-12. 2016.

SOUZA, L. F. Aspectos fitotécnicos, bromatológicos e componentes bioativos de *Pereskia aculeata*, *Pereskia grandifolia* e *Anredera cordifolia*. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia**. Porto Alegre, 2014.

SUJHATA, P., EVANJALINE, M., MUTHUKUMARASAMY, S., MOHAN, V., Determination of bioactive components of *Barleria Courtallica* Nes (Acanthaceae) by gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Asian Journal of Pharmaceutical Clinic and Research*. Vol 10, Issue 6, p 273-283, 2017.

TAAMALLI, A., ARRÁEZ-ROMÁN, D., BARRAJÓN-CATALÁN, E., RUIZ-TORRES, V., PÉREZ-SÁNCHEZ, A., HERRERO, M., IBAÑEZ, E., MICOL, V., ZARROUK, M., SEGURA-CARRETERO, A., FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. Use of advance techniques for the extraction of phenolic compounds from Tunisian olive leaves: Phenolic composition and cytotoxicity against human breast cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v.. 50, p. 1817- 1825, 2012. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.090>

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) /NEPA-UNICAMP. Book editora. 4 ed. rev. e ampl., p. 161, 2011. Disponível em: https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf

TAKEITI, C., ANTONIO, G., MOTTA, E., COLLAREZ-QUEIROZ, F. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). International. **Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60. n. S1. pp. 148-160, 2009.

TIAN, Y.; XU, Z.; ZHENG, B.; LO, M. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**. V. 20, p. 202-208, 2012. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.010>.

TIWARI, B. Ultrasound: A clean, green extraction technology. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 100-109. 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>

TOFANELLI, M.; RESENDE, S. Sistemas de condução na produção de folhas de Ora-pro-nóbis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. Goiania, vol. 41, num. 3, pg.466-469, jul./set. 2011. ISSN: 1517-6398. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>. Acesso em: 19/11/2021.

VENSKUTONIS, P.; DAGYLITE, A. Composition essential oil of sweet flag (*Acorus calamus* L.) leaves at different growing phases. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p. 313-8, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9698598>

XYNOS, N., PAPAEFSTATHIOU, G., PSYCHIS, M., ARGYROPOULOU, A., ALIGIANNIS, N., SKALTSOUNIS, A. Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein olives leaves. **The journal of Supercritical Fluids**, v. 67, p. 89-93, 2012.

WANG, L.; WELLER, C. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 300-312, 2006. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>.

ZAINAL-ABIDIN M. HAYYAN, M., HAYYAN, A., JAYUKUMAR, N. New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review. **Analytica Chimica Acta**. v. 979, p.1-23, 2017.

ZENOBON, O., PASCUET, N., TIGLEA, P. Instituto Adolf Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. Ed. **São Paulo: Instituto Adolfo Lutz**. Primeira edição digital, p. 1020,2008.

ZHENG, X., YIN, F., LIU, C., XU, X. Effect of process parameters of microwave assisted extraction (MAE) on polysaccharides yield from Pumpkin. **Journal of Northeast Agricultural University**, v. 18, n. 2, p. 79-86, 2011. [https://doi.org/10.1016/S1006-8104\(12\)60014-2](https://doi.org/10.1016/S1006-8104(12)60014-2)

5. NORMAS DA REVISTA – ARTIGO 01

REVISTA RESEARCH, SOCIETY AND DEVELOPMENT

Diretrizes do autor

1) Estrutura do texto:

- Título nesta sequência: português, inglês e espanhol.
- Os autores do artigo (devem ser colocados nesta sequência: nome, ORCID, instituição, e-mail).
- Resumo e Palavras-chave nesta sequência: Português, Inglês e Espanhol (o resumo deve conter o objetivo do artigo, metodologia, resultados e conclusão do estudo. Deve ter entre 150 e 250 palavras);
- Corpo do texto (deve conter as seções: 1. Introdução, em que há contexto, problema estudado e objetivo do artigo; 2. Metodologia utilizada no estudo, bem como autores que sustentam a metodologia; 3. Resultados (ou alternativamente, 3. Resultados e Discussão, renumerando os demais subitens), 4. Discussão e, 5. Considerações finais ou Conclusão);
- Referências: (Autores, o artigo deve ter no mínimo 20 referências tão atuais quanto possível. Tanto a citação no texto quanto o item de Referências, utilizar o estilo de formatação da APA - American Psychological Association. As referências devem ser completas e atualizadas. ordem alfabética crescente, pelo sobrenome do primeiro autor da referência, não deve ser numerada, devem ser colocados em tamanho 8 e espaçamento 1,0, separados entre si por um espaço em branco).

2) Disposição:

- Formato Word (.doc);
- Escrito em espaço de 1,5 cm, usando fonte Times New Roman 10, em formato A4 e as margens do texto devem ser inferior, superior, direita e esquerda de 1,5 cm;
- Os recuos são feitos na régua do editor de texto (não pela tecla TAB);
- Os artigos científicos devem ter mais de 5 páginas.

3) Figuras:

A utilização de imagens, tabelas e ilustrações deve seguir o bom senso e, preferencialmente, a ética e axiologia da comunidade científica que discute os temas do manuscrito. Nota: o tamanho máximo do arquivo a ser enviado é de 10 MB (10 mega).

Figuras, tabelas, quadros etc. (devem ter sua chamada no texto antes de serem inseridas. Após sua inserção, a fonte (de onde vem a figura ou tabela...) e um parágrafo de comentário para dizer o que o leitor deve observar é importante neste recurso. As figuras, tabelas e gráficos ...

devem ser numerados em ordem crescente, os títulos das tabelas, figuras ou gráficos devem ser colocados na parte superior e as fontes na parte inferior.

4) Autoria:

O arquivo word enviado no momento da submissão NÃO deve conter os nomes dos autores.

Todos os autores precisam ser incluídos apenas no sistema da revista e na versão final do artigo (após análise dos revisores da revista). Os autores devem ser cadastrados apenas nos metadados e na versão final do artigo por ordem de importância e contribuição para a construção do texto. NOTA: Os autores escrevem os nomes dos autores na grafia correta e sem abreviaturas no início e no final do artigo e também no sistema da revista.

O artigo deve ter no máximo 10 autores. Para casos excepcionais, é necessária a consulta prévia à Equipe da Revista.

5) Vídeos tutoriais:

- Cadastro de novo usuário: <https://youtu.be/udVFytOmZ3M>
- Passo a passo da submissão do artigo no sistema da revista: <https://youtu.be/OKGdHs7b2Tc>

6) Exemplo de referências APA:

- Artigo de jornal:

Gohn, MG & Hom, CS (2008). Abordagens teóricas ao estudo dos movimentos sociais na América Latina. *Caderno CRH*, 21 (54), 439-455.

- Livro:

Ganga, GM D.; Soma, TS & Hoh, GD (2012). *Trabalho de conclusão de curso (TCC) em engenharia de produção*. Atlas.

- Página da Internet:

Amoroso, D. (2016). *O que é Web 2.0?* <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

7) A revista publica artigos originais e inéditos que não sejam postulados simultaneamente em outras revistas ou órgãos editoriais.

8) Dúvidas: Qualquer dúvida envie um email para rsd.articles@gmail.com ou dorlivete.rsd@gmail.com ou WhatsApp (55-11-98679-6000)

Declaração de privacidade

Os nomes e endereços informados a este jornal são de seu uso exclusivo e não serão repassados a terceiros.

6. ARTIGO 2

Extração de compostos bioativos de *Pereskia aculeata* Miller pelo do método de extração assistida por ultrassom: comparação da composição química do extrato bruto obtido por diferentes solventes

Denise Bertin Carnevalli¹, Cintia Neves Ramos², Laura Paulino Mardigan³, Eduardo Cesar Meurer⁴, Lucio Cardozo Filho⁵, Rúbia Carvalho Gomes Corrêa^{1,3}, José Eduardo Gonçalves^{1,3*}

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Maringá-PR, Brasil.

²Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Av. Guedner 1610, 87050-390, Maringá-PR, Brasil

³Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR

⁴Universidade Federal do Paraná - UFPR, Campus Avançado Jandaia do Sul, 86900-000, Jandaia do Sul-PR, Brasil.

⁵ Universidade Estadual de Maringá - UEM, Av. Colombo, 5790, Maringá, Paraná, Brasil
*jose.goncalves@unicesumar.edu.br

Resumo

As plantas, em geral, são compostas por caules, folhas, flores, raízes, possuindo uma grande variedade de compostos químicos em sua composição. A *Pereskia aculeata* Miller, popularmente conhecida como ora-pró-nóbis, pertence à família das cactáceas, sendo encontrada largamente na América Central e no Brasil. As diferentes partes da planta contêm compostos com atividades antioxidante e anti-inflamatória tais como taninos, polifenóis, ácidos fenólicos, terpenos e flavonoides. O aproveitamento de compostos antioxidantes derivados de plantas e seus resíduos nas diversas indústrias representa um avanço na manutenção do equilíbrio biológico e vai de encontro ao conceito de economia circular. A técnica de extração assistida por ultrassom (EAU) é um método emergente de recuperação de moléculas bioativas, o qual apresenta as vantagens de baixo custo e bom rendimento, além de atender requisitos da química verde. Neste contexto, o presente trabalho teve por objetivo otimizar a EAU na obtenção de compostos bioativos a partir de folhas de ora-pró-nóbis, utilizando a escolha de sete solventes diferentes para a presente análise, pois estes apresentam diferentes polaridades, para avaliar qual seria o melhor solvente com a química mais verde. Através da caracterização química dos extratos bruto por análise cromatográfica (CG-EM e CL-EM/EM), foi possível realizar um estudo fitoquímico onde se observou uma mistura hidrocarbônica apolar rica em triacontano, esteróides, flavonóides e diterpeno, dentre eles destacamos os ácidos (málico, ferúlico, palmítico, linoleico, glucônico), bem como fitol, campesterol, γ -sitosterol e ácido silícico. A análise estatística exploratória multivariada realizada por meio de análise de componentes principais (compostos químicos majoritários, classe química e toxicidade do solvente), permitiu comparar e eleger o etanol como melhor solvente para a recuperação de compostos via EAU. Tomados em conjunto, os resultados obtidos indicam que *P. aculeata* possui grande quantidade de compostos bioativos em sua estrutura celular, e que a EAU é uma técnica eficiente para a extração destas moléculas.

PALAVRAS-CHAVE: Análise cromatografia; Extração ultrassônica; *Ora-pro-nobis*; Otimização; Química Verde.

Summary

Plants, in general, are composed of stems, leaves, flowers, roots, having a wide variety of compounds chemicals in its composition. *Pereskia aculeata* Miller, popularly known as ora-pró-nóbis, belongs to the family of Cactaceae, being found largely in the Central America and Brazil. The different parts of the plant contain compounds with antioxidant and anti-inflammatory agents such as tannins, polyphenols, phenolic acids, terpenes and flavonoids. The use of compounds plant-derived antioxidants and their residues in the various industries represent an advance in maintaining the balance biological system and goes against the concept of circular economy. The ultrasound-assisted extraction (UAE) technique is an emerging method of recovery of bioactive molecules, the which has the advantages of low cost and good performance, in addition to meeting green chemistry requirements. In this context, the present work aimed to optimize the UAE in the obtaining bioactive compounds from leaves of ora-pro-nobis, using seven different solvents for this fume. Through the chemical characterization of the crude extracts by chromatographic analysis (GC-MS and LC-MS/MS), it was possible to carry out a phytochemical study where a mixture was observed, a polar hydrocarbon rich in triacontane, steroids, flavonoids and diterpene, among them we highlight the acids (malic, ferulic, palmitic, linoleic, gluconic), as well as phytol, campesterol, γ -sitosterol and silicic acid. The analysis multivariate exploratory statistics performed by means of principal component analysis (chemical compounds majorities, chemical class and solvent toxicity), allowed to compare and elect ethanol as the best solvent for the recovery of compounds via EAU. Taken together, the results obtained indicate that *P. aculeata* has large number of bioactive compounds in its structure cell phone, and that EUA is an efficient technique for extracting these molecules.

KEY WORDS: Analysis chromatography; ultrasonic; Ora-pro-nobis; Optimization; Green Chemistry, Extraction.

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido largamente utilizadas na medicinal tradicional [1]. Devido a sua composição química apresentando alto teor proteico, vitamínico e de sais minerais, algumas destas plantas também têm sido relacionadas à manutenção da saúde [2]. Dentre elas encontram-se as Plantas alimentícias não convencionais, denominadas *PANCs*, que não são produzidas em escala comercial e ainda são pouco exploradas no Brasil, apesar da intensa biodiversidade do país [3-7]. Entretanto, apresentam grande potencial como fonte de renda alternativa, principalmente na agricultura familiar [3].

Dentro das *PANCs* encontra-se a *Pereskia aculeata* Miller, no Brasil popularmente conhecida como ora-pró-nóbis. Trata-se de uma trepadeira arbustiva de fácil cultivo pertencente à família Cactaceae [6, 8]. As folhas da ora-pro-nóbis possuem aminoácidos essenciais, vitaminas e sais minerais, sendo, portanto, uma fonte complementar na dieta de muitos brasileiros [9, 10].

Pesquisadores têm comprovado a presença de compostos bioativos importantes em vegetais com folhas verdes, tais como: ácido ascórbico, ácido fólico, polifenóis, ácidos fenólicos, flavanóides, compostos aromáticos [11, 12]. Com isso, a comunidade científica aumentou seu interesse em obter compostos fenólicos a partir de espécies de plantas medicinais, por observar seu papel vital em reduzir processos oxidativos, devido à presença destas moléculas em suas estruturas celulares, as quais podem apresentar atividades antioxidantes, antitumorais e antimutagênicas [13, 14].

Alguns métodos de extração são descritos na literatura para a separação de compostos bioativos como alcaloides, ácidos fenólicos, triterpenóides, glicosídeos e esteroidais. Dentre estas abordagens, destacam-se as extrações por refluxo [15], fluído supercrítico [16-18], maceração [19, 20], Soxhlet [21, 22], técnica assistida por micro-ondas [23], e técnica assistida por ultrassom [24, 25].

A extração assistida por ultrassom (EAU) é um método emergente que pode ser considerado um avanço tecnológico na extração de compostos. O método EAU baseia-se na propagação de ondas ultrassônicas e das forças de cavitação acústica geradas fisicamente por pulsos de microssegundos para a separação e extração de compostos alvo [26, 27]. Esses pulsos de alta energia resultam na rápida formação de bolhas de cavitação e seu colapso explosivo subsequente, o que gera alta pressão e temperatura localizadas, induzindo à ruptura do tecido da planta (intra e extra celulares), aumentando assim o transporte de massa e simplificando a acessibilidade do solvente ao conteúdo celular, bem como a dissolução dos compostos [28, 29].

Seu efeito mecânico acelera o processo [30, 31], possibilitando maior recuperação de compostos de interesse. Além disso, a EUA utiliza menores quantidades de solventes, diminui os custos, melhora o rendimento, e apresenta menor geração de resíduos [32, 35], atendendo aos requisitos da Química Verde [36, 37].

Na EUA vários solventes podem ser testados, considerando a seletividade, polaridade, viscosidade, densidade, miscibilidade, recuperação, pressão de vapor, estabilidade química e térmica dos solventes [38]. O tipo de solvente empregado pode exercer influência direta no processo de extração, alterando a qualidade do extrato, seu volume, aumento da quantidade de compostos, principalmente os bioativos, e um melhor rendimento [14].

Apesar de diversos autores já terem reportado a utilização da EUA para a recuperação de moléculas bioativas a partir de PANCs, apenas alguns grupos empregaram a análise exploratória multivariada [39] realizada por meio de análise de componentes principais (compostos químicos majoritários, classe química e toxicidade do solvente) em seus experimentos. Esta abordagem permite analisar o processo de EUA e obter a máxima eficiência, o que permite uma maior compreensão da influência dos vários parâmetros do procedimento no processo de extração. Uma vez que os parâmetros de procedimento e suas relações estejam identificados, é possível obter um ótimo desempenho de extração. Na prática, obter um modelo confiável e preciso para o procedimento permite a otimização dos parâmetros do processo em uma rota melhor do que a usual e, conseqüentemente, a diminuição de custos.

Considerando todo o exposto, o presente trabalho teve por objetivo otimizar o método de extração assistida por ultrassom para extrair compostos bioativos da *ora pro nobis*. Com este propósito, foi realizada uma análise estatística exploratória multivariada por meio de verificação de componentes principais (compostos químicos majoritários, classe química e toxicidade do solvente), sendo aplicada para comparar e eleger o melhor solvente que possa recuperar compostos via EUA. Além disso, uma extensa caracterização química dos extratos brutos obtidos foi realizada.

2. EXPERIMENTAL

2.1. MATERIAL VEGETAL

As folhas de *P. acuelata* foram colhidas na fazenda Unicesumar com latitude - 23.341898, longitude: -51.875253, às oito horas da manhã. Imediatamente após a colheita, foram transferidas para o Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas

(LIABQ) da Universidade Cesumar – UNICESUMAR, campus Maringá. Então foram secas em estufa de circulação a 40 °C, e posteriormente moídas em moinho de faca tipo Willey SL-31. Uma amostra vegetal foi autenticada e depositada no Herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM) sob o número 36745.

2.2. EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM (EUA)

Para o processo de extração, 1 g do material vegetal na forma de pó seco foi homogenizado em 20 mL dos seguintes solventes: diclorometano, etanol, metanol, acetato de etila, acetonitrila, hexano e clorofórmio, por serem compostos de diferentes polaridades. O conjunto foi inserido em um banho ultrassônico com potência de 550 W e 40 kHz, pelo tempo de 40 minutos na temperatura de 40 °C. Após o tempo de extração, a amostra foi centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante (extrato) foi coletado e armazenado sob refrigeração a 4°C para posteriores análises. Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

2.3. ANÁLISE CROMATOGRÁFICA A GÁS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (GC-EM)

Os extratos foram realizados em um cromatógrafo a gás - CG (Agilent 7890B), acoplado ao espectrômetro de massas - EM (Agilent 5977A MSD), operando com uma fonte de elétrons com energia de ionização de 70 eV, utilizando uma coluna capilar HP-5MS IU (30 m x 0,25 mm x 0,250 mm) recheada com fase estacionária composta de 5% de fenil e 95% dimetil polisiloxano. O volume injetado foi de 2 µL, nas condições de programação do forno: temperatura inicial de 50 °C sendo mantida por 3 min seguido de aquecimento de 3 °C/min até temperatura final de 300 °C, permanecendo por 10 min. A injeção das amostras foi realizada no modo split na razão 1:20 com fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹ de Hélio como gás de arraste com a temperatura do injetor mantidas a 250 °C e a linha de transferência em 280 °C. No detector de massas a temperatura da câmara de ionização será de 230 °C a temperatura do quadrupolo de 150 °C. Foi utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga (m/z) de 40 - 600, com *solvent delay* de 3 min.

A identificação dos compostos foi realizada através da comparação dos espectros de massas com a biblioteca NIST versão 11.0 e também pela comparação de seus respectivos índices de retenção calculados a partir da série homologa de padrões *n*-alcanos (C7–C28) [40].

2.4. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE IONIZAÇÃO POR ELETROSPRAY (CL-EM/EM)

Uma alíquota de 100 µL do extrato foi diluída em 900 µL de fase carreadora composta por metanol 0,1% NH₄OH. Os experimentos foram realizados em um espectrômetro de massas triplo quadrupolo Premier XE (Waters, Milford, MA, EUA) equipado com ionização por eletrospray (ESI) operando em modo negativo. Os dados de ESI (-) - MS e ESI (-) -MS/MS foram obtidos utilizando os parâmetros: temperatura da fonte de 110°C, temperatura de dissolução de 200°C, capilar de 2 kV, cone de 20 V com quadrupolo ajustado para resolução da unidade. As moléculas desprotonadas foram fragmentadas com energia de colisão na faixa de 5 a 35 eV e pressão de argônio de 1×10^{-3} Torr. Os espectros obtidos foram processados usando o software MassLynx™.

2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados coletados foram submetidos à análise exploratória multivariada, por meio da análise de componentes principais (ACP), a qual permitiu avaliar em conjunto dos compostos químicos majoritários e da classe química de todos os compostos presentes nos extratos de ora-pro-nóbis. O resultado da análise foi apresentado em forma gráfica (BILOT), o que auxilia na caracterização dos grupos das variáveis analisadas.

Para cada amostra de extrato foram identificados os compostos químicos e suas respectivas classes químicas bem como área relativa (%). Esses dados foram transformados em variáveis latentes ortogonais denominadas componentes principais, representando combinações lineares de variáveis originais criadas com os autovalores da matriz de covariância de dados.

O critério de Kaiser foi utilizado para eleger os componentes principais. A análise foi realizada de duas maneiras: a primeira contemplou apenas dados referentes aos compostos majoritários, utilizando como critério de inclusão e exclusão apenas os que possuem área superior a 10%; e a segunda, na qual os dados foram analisados agrupando as classes químicas às quais pertencem estes compostos. Ambas as análises foram realizadas no programa Estatístico 7 (STATSOFT, 2001).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. COMPORTAMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO E SOLVENTES DE ESCOLHA

O método de extração assistida por ultrassom extrativo foi escolhido por permitir a utilização de volumes reduzidos de solventes e/ou uso de solventes biodegradáveis, fácil controle na geração de resíduos, e ainda possibilita a aplicação de diferentes solventes, além do baixo custo e tempo de extração [36, 37]. Para a otimização do processo de extração de ora-pró-nóbis, foram avaliados solventes com polaridades diferentes, que possibilita extrair e comparar a taxa de extração obtida [18, 25, 41, 42].

A Tabela 3 apresenta a relação dos solventes utilizados no processo de EAU das folhas de *P. acuelata*, volume de solvente e massa seca da amostra. As condições aplicadas no método foram as mesmas para todos os solventes (550 W, 40 kHz, tempo de extração de 40 minutos e temperatura de 40 °C).

Tabela 3: Condições aplicadas na EAU das folhas de *P. acuelata*.

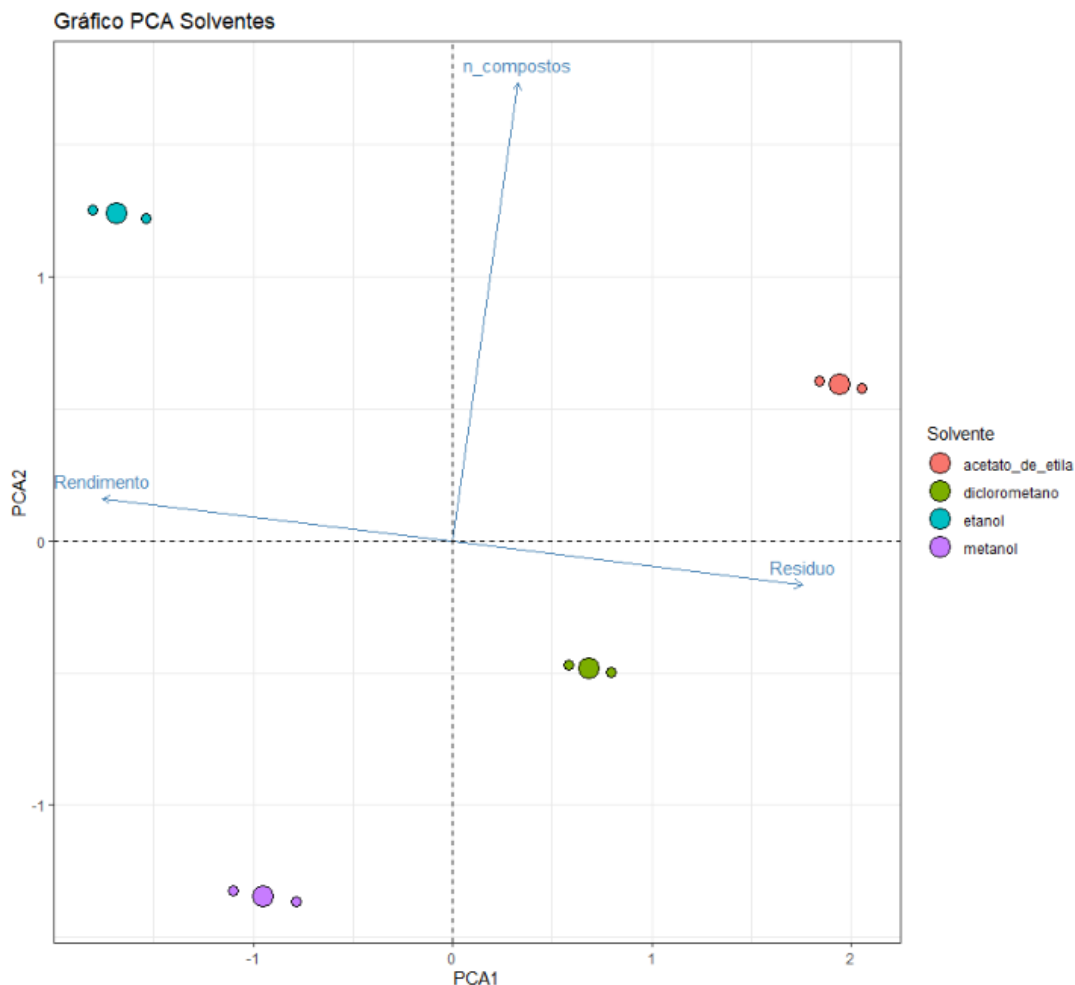
Solvente	Massa da amostra (g)	Volume de solvente utilizado (mL)	Rendimento da extração (%)	Resíduo sólido seco gerado no processo (g)
Acetonitrila	1,0	20,0	4,46	0,9554
Acetato de etila	1,0	20,0	5,09	0,9491
Clorofórmio	1,0	20,0	5,90	0,9410
Diclorometano	1,0	20,0	5,77	0,9423
Etanol	1,0	20,0	7,34	0,9266
Hexano	1,0	20,0	6,51	0,9349
Metanol	1,0	20,0	6,68	0,9332

Fonte: Acervo do autor, 2022.

Os solventes utilizados no processo de extração possuem características físico-químicas muito diferentes que, aliados ao método extrativo, poderiam produzir extratos com diferentes propriedades químicas e também melhor eficiência no processo de extração (rendimento). O solvente etanol apresenta o maior rendimento efetivo no processo (7,34%), enquanto o solvente acetonitrila, o menor rendimento (4,46 %). Através destes dados observa-se uma variação de 9 a 39,2% de diferença no rendimento da extração, mostrando que a escolha do solvente impacta diretamente no rendimento do processo (Tabela 3).

Outro ponto importante na análise da Tabela 3 e Figura 1 é a produção de resíduos gerado no processo, que mais uma vez mostra o solvente etanol como sendo o solvente que produz a menor quantidade de resíduo, de 0,7 a 3 % menos resíduo que os demais solventes. É importante destacar que o etanol, dentre os solventes testados, apresenta o menor risco químico de contaminação e o menor grau de toxicidade, o que é especialmente importante para a produção de extratos destinados a aplicações no setor alimentício e farmacêutico.

Figura 5: Análise de componentes principais biplot da relação do solvente utilizado na obtenção do extrato bruto das folhas *P. acuelata*, com rendimento e produção de resíduo.



Fonte: Acervo do autor, 2022.

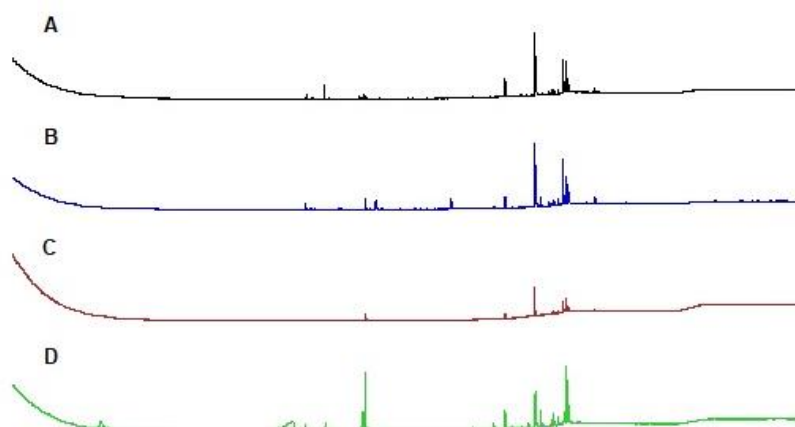
A Figura 5 mostra que o plano de análise foi dividido em 2 eixos PCA1, influenciado pela dualidade entre rendimento e resíduo (opostos simétricos) e o eixo PCA2 influenciado pelo número de compostos gerados. Sendo assim, os solventes ilustrados à esquerda do eixo PCA1 possuem correlação positiva e maiores valores de rendimento. Os solventes posicionados acima do eixo PCA2 representam os solventes que geraram maiores quantidades de compostos.

Desta forma, existe uma relação direta do número de compostos extraídos com o tipo de solvente utilizado no processo de extração e seu rendimento e uma característica inversamente proporcional quando correlacionando o rendimento com a geração de resíduo. Os solventes posicionados no segundo quadrante do plano, como o etanol, possuem melhor rendimento e geram mais derivados.

3.2. ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

A Figura 5 mostra os cromatogramas de diferentes extratos brutos das folhas de *P. acuelata* extraídas via EAU. Na análise, foi possível relacionar um perfil cromatográfico comparativo entre os compostos químicos extraídos por sete solventes diferentes (Tabela 3). Dentre estes, destacam-se o acetato de etila, diclorometano, metanol e etanol, com os maiores números de picos cromatográficos e os maiores números de compostos químicos identificados.

Figura 6: Cromatogramas dos extratos brutos das folhas de *P. aculeata* obtidos por extração assistida por ultrassom. (A) Acetato de Etila; (B) Diclorometano; (C) Metanol; (D) Etanol.



Fonte: Acervo do autor, 2022.

Apesar das diferenças físico-químicas apresentadas pelos solventes extratores, o perfil cromatográfico revelou semelhanças das substâncias bioativas extraídas. Este comportamento pode ser atribuído ao método de extração assistida por ultrassom, que durante o processo facilita a permeação do solvente nas cavidades intra e extracelulares da planta [25, 42, 45].

Através da caracterização química dos extratos brutos das folhas de ora-pro-nóbis realizadas por análises cromatográficas (Tabela 4), foi possível realizar um estudo fitoquímico onde se observou uma mistura rica em compostos químicos, tais como: triacontano, esteróides, flavonoides e diterpeno. Dentre os compostos bioativos obtidos estão Vitamina E, γ -Sitosterol, Campesterol, Fitol, Ácido oleico, ester eicosil, Octadecano, 3 etil - 5 - (2 - etilbutil), Esqualeno.

De acordo com Sujhata [48], compostos bioativos de modo geral têm as seguintes características: atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena, atividade androgênica, dermatogênica, hipocolesterolêmico, coletérico, propriedades antioxidantes, antitumorais, antiespasmódico, vasodilatador, antidiabético, hepatoprotetor, hipoglicêmico, antihepatotóxico. Sendo então, de alto interesse farmacológico e para a indústria alimentícia.

Contudo, apesar dos quatro solventes em destaque, é importante ressaltar o etanol, onde a extração foi mais efetiva para os compostos citados. Este fato atente aos propósitos da química verde, pois o etanol é um solvente com menor risco químico e menor grau toxicidade para a saúde e meio ambiente, quando comparado aos demais solventes utilizados para o método de EAU [43, 44].

De acordo com a análise realizada em CL-EM/EM (Tabela 4), também foi possível identificar através do estudo uma mistura de ácidos fenólicos, os quais, por sua constituição química, possuem propriedades antioxidantes [47, 49, 50]. Dentre os compostos fenólicos obtidos pode-se citar os ácidos málico, ferúlico, palmítico, linoleico, oleico e glucônico, que podem ser classificados como ácidos graxos essenciais e ácidos fenólicos [51, 52].

Estudos relatam o uso desses compostos no tratamento de feridas, diabetes, e também como agentes antihepatotóxicos [48, 52], devido às suas propriedades antioxidantes e antiinflamatórias, características relacionadas ao potencial de combater radicais livres, que são causadores do estresse oxidativo dos tecidos e biomoléculas do organismo humano, estando, portanto, associadas à boa manutenção a saúde [53, 54].

Tanto na análise por cromatografia a gás quanto na cromatografia líquida, o solvente etanol permitiu a recuperação de maiores níveis de compostos majoritários comparados aos demais solventes, destacando-se entre os solventes testados [43, 44].

Tabela 4: Identificação dos compostos voláteis encontrados no extrato de *P. aculeata* obtidos com diferentes solventes.

n	Compostos	Solventes Extratores				Classe química	Método de identificação
		AcetEt	Diclor	EtOH	MetOH		
1	Hydrazinecarboxamide	+	-	-	-	Carbazida (amida)	a, c
2	1-Butanol,3-methyl-, fomite	-	-	+	-	Éster	a, c
3	Pterin-6-Carboxylic Acid	+	+	+	+	Ácido	a, b, c
4	Alloaromadendrene	+	-	-	-	Hidrocarboneto (sesquiterpeno)	a, c
5	2-Trifluoroacetoxydodecane	-	-	+	+	Ácido	a, c
6	3-Trifluoroacetoxypentadecane	+	-	-	-	Ácido	a, c
7	1H-Pyrrole,2,5-dihydro-1-nitroso	+	-	-	-	Álcool	a, c
8	Ergosta-5,22-Dien-3-ol, acetate, (3 β ,22E)	+	+	+	+	Hidrocarboneto (sesquiterpeno)	a, c
9	Tricyclo [6.3.3.0] Tetradec-4-ene,10,13dioxo	+	-	-	-	Cetona	a, c
10	2-Trifluoacetoxypentadecane	-	+	-	-	Ácido	a, c
11	I-Gala-I-ido-octose	+	+	+	+	Ácido	a, b, c
12	Z, Z, Z-4,6,9-Nonadecatrieme	+	-	-	-	Hidrocarboneto (monoterpeno)	a, c
13	E, E-1,9,17-Docasatriene	+	-	-	-	Fenol	a, c
14	Hexadecanoic acid, ethyl ester	-	+	+	-	Éster	a, b, c
15	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	+	+	+	-	Álcool	a, c
16	2-Pentadecanone, 6, 10, 14 - trimethyl	+	-	-	-	Cetona	a, c
17	1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl octyl ester	+	-	-	-	Sesquiterpeno oxigenado	a, b, c
18	Tetraacetyl-d-Xylanic nitrile	-	-	+	-	Monoterpeno oxigenado	a, c
19	Desulphosinigrin	-	-	+	-	Álcool	a, b, c
20	3-O-Methyl-d-glucose	-	-	+	-	Carboidrato	a, c
21	2-Methyl-E, E-3, 13-octadecadien-1-ol	+	-	-	-	Álcool	a, c
22	Eicosenoic acid, methyl ester	-	+	-	-	Ácido	a, c
23	Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl, methyl ester	+	-	-	-	Álcool	a, b, c
24	Limonene	+	-	+	-	Hidrocarboneto (monoterpeno)	a, b, c
25	8- Hexadecenal, 14-methyl-, (Z)	+	-	-	-	*	a, c
26	Z, Z-2,5-Pentadecadien-1-ol	+	-	-	-	Ácido	a, c
27	Oxiane, heptadecyl	+	-	-	-	Hidrocarboneto alifático	a, c

28	Octadecanal, 2-bromo	+	-	-	-	Aldeído	a, c
29	Acetamide, N-methyl-N-[4-(3-hydroxypyrrolidinyl) -2-butynyl]	+	-	-	-	Álcool	a, c
30	12, 15-Octadecadiynoic acid, methyl ester	+	-	-	-	Ácido	a, c
31	2-Hydroxy-1, 1, 10-trimethyl-6,9-epidioxydecalin	+	-	-	-	Ácido	a, c
32	Phytol	+	+	+	+	Diterpeno oxigenado	a, b, c
33	2-Myristynoyl pantetheine	+	-	+	-	*	a, c
34	Ethyl iso-allocholate	+	+	+	-	Éster	a, c
35	Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester	-	-	+	-	Álcool	a, c
36	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl	-	-	+	-	*	a, c
37	Heptadecanoic acid, 16-methyl ester	-	-	+	-	*	a, c
38	9,12,15-Octadecatrienoic acid,2,3-dihydroxypropyl ester	-	-	+	-	Ácido	a, c
39	9,12,15-Docasetetraenoic acid, methyl ester	-	-	+	-	Ácido	a, c
40	2-[4-methyl-6-(2,6,6trimethylcyclohex-1-enyl) hexa-1,3,5-trienyl] cyclohex-1-en-1-carbaldehyde	-	-	+	-	Sesquiterpeno oxigenado	a, c
41	9, 10-Secocholesta-5, 7, 10(19) -3,24,25-triol, (3β,5Z,7E)	+	-	-	-	Fenol	a, c
42	Spirost-8-en-11-one, 3-hydroxy-, (3β,5α,14β,20β,22β,25R)	+	-	+	+	Fenol	a, c
43	2,2,4-Trimethyl-3-(3,8,12,16-tetramethyl-heptadeca-3,7,11,15-tetraenyl) cyclohexanol	-	-	+	-	Sesquiterpeno oxigenado	a, c
44	Octatriacontyl pentafluoropropionate	-	-	+	-	Hidrocarboneto alifático	a, c
45	Cumarina, 2H-1-Benzopirano-2-Ona	-	-	+	-	Cumarina	a, c
46	1-Monolinoleoylglycerol trimethyl ether	+	+	+	+	Ácido	a, c
47	Heptacosane	+	+	-	-	Hidrocarboneto alifático	a, c
48	Hexatriacontane	+	+	-	-	Hidrocarboneto alifático	a, c
49	Squalene	-	+	-	-	Ácido	a, b, c
50	Vitamin E	+	+	+	-	Vitamina	a, b, c
51	17-Pentatriacontene	+	+	+	-	Hidrocarboneto alifático	a, c
52	Cholestane,5,6-epoxy, (5α,6 α)	-	-	+	-	Álcool	a, b, c
53	γ-Sitosterol	+	+	+	+	Fenol	a, b, c
54	γ-Tocopherol	-	+	+	-	Fenol	a, b, c
55	Stigmasterol	-	+	+	-	Fenol	a, b, c
56	Campesterol	-	+	+	-	Fenol	a, b, c
57	6a,14a, methanopicene, perhydro-1,2,4a,6b,9,9,12a-hepta-methyl-10-hydroxy	-	-	+	-	Sesquiterpeno oxigenado	a, c

58	Octadecane,3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)	-	+	-	+	Hidrocarboneto alifático	a, c
59	Tetratetracontane	-	-	-	+	Hidrocarboneto alifático	a, c
60	Ácido málico	+	+	+	+	Ácido	b
61	Isômero do ácido ferúlico	+	+	+	+	Ácido	b
62	Ácido Ferúlico	+	+	+	+	Ácido	b
63	Ácido Glucônico /ácido galactônico	+	+	+	+	Ácido	b
64	Ácido Palmítico	+	+	+	+	Ácido	b
65	Ácido Linoleico	+	+	+	+	Ácido	b
66	Ácido oleico	-	+	+	-	Ácido	b
67	Hydroxy octadecatrienoic acid	-	+	-	+	Ácido	b
68	Sinapina - Sinapoyl choline (sinapine)	+	+	+	+	Éster	a, b, c
69	Dihydroxy-oxo-12- octadecenoic	+	+	+	-	Ácido	a, b, c
70	myricetin-3-O-β-Dgalactopyranoside / miricetina	+	-	+	-	Fenol	a, b, c
71	1-Dodecanol,3,7,11-trimethyl	-	-	+	-	Álcool	a, b, c
72	17-Octadecynoic acid	-	-	+	-	Ácido	a, b, c
73	d-Mannose	-	-	+	-	Carboidrato	a, b, c
74	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester	-	-	+	-	Ácido	a, b, c
75	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E-E)	-	-	+	-	Éster	a, b, c
Compostos identificados		Total				% relativa	
		43	30	48	18		

*Acet Et = Acetato de Etila; Diclor = Diclorometano; EtOH = Etanol; MetOH = Metanol; + = presença; - = ausência; a = Compostos listados na análise por GC-EM utilizando a coluna HP5-MS UI; b = Compostos listados na análise por LC-EM/EM; c = Identificado pelo Índice de Retenção calculado a partir da série homologa de *n*-alcanos C7–C40 (ADAMS, 2017).

3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Tabela 5 apresenta a análise descritiva das amostras. Observa-se o metanol e o acetato de etila são os tipos de solventes que identificam, em média, a maior quantidade de compostos, mas também são os dois solventes com o maior desvio padrão. Inversamente, os solventes clorofórmio, hexano e acetonitrila, são aqueles que identificam menos compostos e possuem menor desvio padrão. Observa-se também que o teste p (*Shapiro-Wilk*) mostra que nenhuma das amostras seguem uma distribuição normal (*i.e.*, $p > 0.05$) e, portanto, as análises estatísticas das amostras devem obedecer aos testes não-paramétrico.

Tabela 5: Estatística descritiva dos extratos de *P. aculeata*.

	N	Pontos	Média	Mediana	SD	Shapiro-Wilk	
						W	p
Diclorometano	8	1	5,25	3,00	8,38	0,668	< 0,001
Etanol	8	1	3,13	1,00	5,44	0,649	< 0,001
Metanol	8	1	12,38	3,00	23,65	0,601	< 0,001
Hexano	8	1	1,38	0,00	3,50	0,472	< 0,001
Clorofórmio	8	1	1,25	0,00	3,54	0,418	< 0,001
Acetonitrila	8	1	1,38	0,00	3,16	0,529	< 0,001
Acetato de etila	8	1	12,38	4,00	17,51	0,751	0,008

Fonte: Acervo do autor, 2022.

Tabela 6: Estatística ocorrência de correlação (Matrix de Correlação).

		Acetato de etila	Diclorometano	Etanol	Metanol	Hexano	Clorofórmio	Acetonitrila
Acetato de etila	rho de Spearman valor de p	-	-	-	-	-	-	-
Diclorometano	rho de Spearman valor de p	0,855**	-	-	-	-	-	-
Etanol	rho de Spearman valor de p	0,944***	0,916***	-	-	-	-	-
Metanol	rho de Spearman valor de p	0,898**	0,874**	0,929***	-	-	-	-
Hexano	rho de Spearman valor de p	0,845**	0,754*	0,879**	0,860**	-	-	-
Clorofórmio	rho de Spearman valor de p	0,728*	0,740*	0,757*	0,740*	0,861**	-	-
Acetonitrila	rho de Spearman valor de p	0,845**	0,754*	0,879**	0,860**	1,000***	0,861**	-

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Fonte: Acervo do Autor, 2022.

Para determinar os solventes mais propícios a serem utilizados para a identificação de compostos, utilizou-se a correlação *Spearman*, a qual é efetuada em amostras não-paramétricas. Desse modo, observa-se, na Tabela 4, a ocorrência de correlação ‘moderada’ ($p < 0.5$), ‘forte’

($p < 0.01$) e ‘muito forte’ ($p < 0.001$) entre os solventes. Por exemplo, a acetonitrila e o hexano possuem uma correlação ‘muito forte’ uma vez que o $p < 0.001$ e a sua correlação é exatamente 1. Com isso, pode-se inferir que, ao se utilizar qualquer um desses dois solventes para a identificação de compostos, o resultado prático é idêntico. Essa mesma característica é observada entre os solventes acetato de etila e etanol, que apresentam uma correlação muito forte (0.944). Sendo assim, ao se utilizar solventes a base de etanol, metanol, acetato de etila ou diclorometano, pode-se alcançar resultados muito parecidos na identificação de compostos, conforme mostrado nas Tabelas 5 e 6.

4. CONCLUSÃO

Tomados em conjunto, os resultados aqui reportados para a extração assistida por ultrassom (EAU) indicam que através dos diversos solventes testados, é possível verificar a recuperação de quantidades significativas de compostos bioativos. Neste sentido, as duas técnicas cromatográficas aplicadas para a caracterização dos extratos permitiram a obtenção de informações importantes e até então inéditas acerca da composição química da ora-pro-nóbis. Não menos importante, a EAU e o solvente destacado (o Etanol), no presente trabalho, demonstraram características que resultam em menor produção de resíduos tóxicos, o que atende não somente à demanda das indústrias dos setores alimentícios e farmacêutico pela ausência de toxicidade nos extratos, e também à demanda universal por processos mais limpos. Portanto, o método e condições escolhidas para a extração de compostos bioativos das folhas de *P. aculeata* demonstraram eficiência para o propósito exposto, além de atender aos requisitos da química verde.

REFERÊNCIAS

- [1] HAO, DA-CHENG. Genomics and Evolution of medicinal Plants. Ranunculales Medicinal Plants. Biodiversity, Chemodiversity and Pharmacotherapy. Pag. 1-33, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814232-5.00001-0>. Acesso em: 20/07/2021.
- [2] MANAF, S.; MOHD, H.; DAUD.; ALIMON, A.; MUSTAPHA, N.; HAMDAN, R.; MUNIADY, K.; MOHAMED, N.; RAZAK, R.; HAMID, N. The Effects of Vitex trifolia, Strobilanthes crispus and Aloe vera Herbal-mixed Dietary Supplementation on Growth Performance and Disease Resistance in Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.). Journal of Aquaculture Research & Development. Vol. 7, ISSUE 4, 2016. DOI: 10.4172/2155-9546.1000425.

- [3] MIRANDA, M. O potencial da Ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. *Revista Brasileira de Agroecologia*, vol. 4, num. 2, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em: 20/07/2021.
- [4] SANTOS, I., PEDROSA, M., CARVALHO, O., GUIMARÃES, C., SILVA, L. Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais –EPAMIG. Circular Técnica, num.177, dezembro, 2012. ISSN 0103-4413. Disponível em: <http://www.epamig.br/download/circular-tecnica-177/> . Acesso em: 20/07/2021.
- [5] SOUZA, M., CORREA, E., GUIMARÃES, G., PEREIRA, P. Potencial da ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.4, n.2, p.3550–3554, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em 20/07/2021.
- [6] BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Corporativismo. Manual de hortaliças não-convencionais. P 62, 2010.
- [7] CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL. Megadiversidade. 2011. Disponível em: <http://www.conservation.org.br/como/index.php?id=11>. Acesso em: 20/07/2021.
- [8] TOFANELLI, M.; RESENDE, S. Sistemas de condução na produção de folhas de Ora-pro-nóbis. *Pesquisa Agropecuária Tropical*. Goiania, vol. 41, num. 3, pg.466-469, jul./set. 2011. ISSN: 1517-6398. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>. Acesso em: 20/07/2021.
- [9] ALMEIDA, M., CORRÊA, A. Utilização de cactáceas do Gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. *Ciência Rural*, vol. 42, num. 4, pag. 751- 756, Santa Maria, April, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000400029>. Acesso em: 20/07/2021.
- [10] TAKEIT, C. ANTONIO, G., MOTTA, E., COLARES-QUEIROZ, F. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). *International Journal of Food Science and Nutrition*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol 60 (1, Suppl 1), pag. 148-160, Campinas, 2009. PMid:19468927. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/09637480802534509>. Acesso em: 20/07/2021.
- [11] KOBORI, C., RODRIGUEZ, A., DELIA, B. Uncultivated Brazilian Green leaves are richer sources of carotenoids than are commercially produced leafy vegetables. *Food and Nutrition Bulletin*, v.29, n.4, p.320-328, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1177%2F156482650802900408>. Acesso em: 20/07/2021.
- [12] KIM, S; CHO, AH.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, v.29, n.1, p.112-120, 2013. Available in: <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%2Fj.foodcont.2012.05.060>. Acesso em: 20/07/2021.

- [13] TUNG MUNNITHUM, D.; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. *Medicines*. C. 5, p. 93; 2018. Available in: <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>. Acesso em: 20/07/2021.
- [14] WANG, H.; LIU, Y.; QI, Z.; WANG, S.; LIU, S.; WANG, H.; XIA, X. An overview on natural polysaccharides with antioxidant properties. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 20, num. 23, 2899-2913, 2013.
- [15] BRUM, A., A., S.; DE ARRUDA, L., F.; REGITANO-d'ARCE, M., A., B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. *Quím. Nova* 32 (4), 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000400005>.
- [16] SILVEIRA, J, BUSATO, N., COSTA, A., COSTA JUNIOR, E. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. *Enciclopédia Biosfera*. Centro científico conhecer. Vol. 8, num. 15; pag. 2038-2052, 2012.
- [17] TIAN, Y., XU, Z., ZHENG, B., LO, M. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultrasonics Sonochemistry*. Vol. 20, pag. 202-208, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.010>.
- [18] SANTOS, O., CORRÊA, N., CARVALHO, R., COSTA, C., LANNES, S. Yield, Nutritional quality, and thermal-oxidative stability of Brazil nut oil (*Bertholletia excels* H.B.K.) obtained by supercritical extraction. *Journal Food Engineering*. Num. 17, pag. 499-504, 2013. Disponível em: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/501495>. Acesso e 20/08/2020.
- [19] FONSECA, S. Farmacotécnica de fitoterápicos. pag. 62, 2005. Disponível em: www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF.
- [20] HANDA S. KHANUJA, S., LONGO, G., RAKESH, D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology. ICS-UNIDO, AREA Science Park, Trieste: ICS Pag. 266, 2008. Disponível em: [https://www.unido.org/sites/default/files/200910/Extraction technologies for medicinal and aromatic plants 0.pdf](https://www.unido.org/sites/default/files/200910/Extraction%20technologies%20for%20medicinal%20and%20aromatic%20plants%200.pdf).
- [21] VENS KUTONIS, P., DAGYLITE, A. Composition essential oil of sweet flag (*Acorus calamus* L.) leaves at different growing phases. *Journal of Essential Oil Research*, vol.15, pag. 313-8, 2003. <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9698598>
- [22] JANTAN, I.; LING, Y., ROMLI, S., AYOP, N. A comparative study of the constituents of the essential oils of three *Cinnamomum* species from Malaysia. *Journal of Essential Oil Research*, v.15, p.387-91, 2003. <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1080%2F10412905.2003.9698618>
- [23] RIBEIRO, Leticia, Gouveia. Extração assistida por micro-ondas de óleo essencial de folhas de eucalipto (*Eucalyptus urophylla* x *goubulus*). Programa pós-graduação em engenharia química, Porto Alegre, 2018.

- [24] SHALMASHI, A. Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seeds. **Journal of food Lipids**. V. 16, p. 465-474, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2009.01159.x>.
- [25] GOULA, A. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - Kinetic modeling. **Journal of food Engineering**, v. 117, p. 492-498, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.009>. Acesso em: 20/07/2021.
- [26] Feng L, Cao Y, Xu D, Wang S, Zhang J. Molecular weight distribution, rheological property and structural changes of sodium alginate induced by ultrasound. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 34, p. 609-15, 2017.
- [27] Huang H, Xu Q, Belwal T, Li L, Aalim H, Wu Q, et al. Ultrasonic impact on viscosity and extraction efficiency of polyethylene glycol: A greener approach for anthocyanins recovery from purple sweet potato, **Food Chemistry**, v. 283, p. 59-67, 2019.
- [28] Pandey A, Belwal T, Sekar KC, Bhatt ID, Rawal RS. Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM). **Industrial Crops and Products**, v. 119, p. 218-25, 2018.
- [29] Yan J-K, Wang Y-Y, Ma H-L, Wang Z-B. Ultrasonic effects on the degradation kinetics, preliminary characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Phellinus linteus* mycelia. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 29, p. 251-7, 2016.
- [30] Zhang H, Lou Z, Chen X, Cui Y, Wang H, Kou X, et al. Effect of simultaneous ultrasonic and microwave assisted hydrodistillation on the yield, composition, antibacterial and antibiofilm activity of essential oils from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis*. **Journal of food engineering**, v. 244, p. 126-35, 2019.
- [31] Santos KA, Klein EJ, Fiorese ML, Palú F, da Silva C, da Silva EA. Extraction of *Morus alba* leaves using supercritical CO₂ and ultrasound-assisted solvent: Evaluation of β -sitosterol content. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 159:104752, 2020.
- [32] Bouras M, Chadni M, Barba FJ, Grimi N, Bals O, Vorobiev E. Optimization of microwave assisted extraction of polyphenols from *Quercus* bark. **Industrial Crops and Products**, v. 77, p. :590-601, 2015.
- [33] Hosseini SS, Khodaiyan F, Yarmand MS. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v.140, p.59-65, 2016.
- [34] Kazemi M, Khodaiyan F, Labbafi M, Hosseini SS, Hojjati M. Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties. **Food chemistry**, v. 271, p. 663-72, 2019.
- [35] da Silva MF, Casazza AA, Ferrari PF, Aliakbarian B, Converti A, Bezerra RP, et al. Recovery of phenolic compounds of food concern from *Arthrospira platensis* by green extraction techniques. **Algal research**, v. 25, p. 391-401, 2017.

- [36] FREITAS, S, SILVA, O.; MIRANDA, I.; COELHO, M. Extração e fracionamento simultâneo de óleo castanha-do-brasil com etanol. **Revista Ciência Tecnologia de Alimentos**. v 27, sup. 01, p. 14 -17, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000500002>.
- [37] CARDOSO, W., ALMEIDA, W., GEREMIAS, R., PUCKOSKI, A., ANGIOLETTTO, E. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. **Revista de Iniciação Científica**. V. 12, p. 1-12, 2014.
- [38] HAMINIUK, C, W, I., MACIEL, G, M., PLATA-OVIEDO, M, S, V., PERALTA, R, M. Phenolic compounds in fruits: an overview. **International Journal of Food Science + Technology**. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>. Acesso em: 20/07/2021.
- [39] Lu X, Zheng Z, Li H, Cao R, Zheng Y, Yu H, et al. Optimization of ultrasonic-microwave assisted extraction of oligosaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 107, p. 546-57, 2017.
- [40] ADAMS, R. Identification of essential oil components by gas chromatography/massspectrometry, fourth one ed. **Allured, Carol Stream**, p.04, 2017.
- [41] KNORR, D.; ZENKE, M.; HEINZ, V.; UN-LEE, D. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science &Technology**. v. 15. p. 261-266, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>
- [42] SANTOS, P; AGUIAR, A; BARBERO, G.; REZENDE, C.; MARTINEZ-JULIAN. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, 2015.
- [43] ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 14725-4:2014. Produtos químicos: Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente. Parte 4: Ficha de informações de segurança de produtos químicos (FISPQ). 2014.
- [44] CETESB. Campanha Ambiental do Estado de São Paulo. Ficha de Informação de Produto Químico. 2018.
- [45] OLIVEIRA, R.; ROCHA, J.; PINHEIRO, K.; MENDONÇA, M.; BARÃO, C. Aplicação de processo ultrassom na extração de catequinas dos resíduos de chá verde. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n. 3, p. 29-40, 2016.
- [46] SKOOG, D. Fundamentos de Química Analítica. **Grupo Editorial Norma**, 8. Ed. [S1], p. 19-34, 2006.
- [47] COLLINS, C.; BRAGA, G., BONATO, P. **Fundamentos de cromatografia**. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 02, 2006. In: Fundamentos de cromatografia. [S.l.]: Unicamp, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000200018>. Acesso em: 20/07/2021.
- [48] SUJHATA, P., EVANJALINE, M., MUTHUKUMARASAMY, S., MOHAN, V., Determination of bioactive components of *Barleria Courtallica* Nes (Acanthaceae) by gas

chromatography-mass spectrometry analysis. **Asian Journal of Pharmaceutical Clinic and Research**, v. 10, Issue 6, p. 273-283, 2017.

[49] NACZK, M.; SHAHID, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*, v. 1054, issue 1-2, p. 95-111, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>

[50] PERES, T., 2002 PERES, T. **Noções básicas de cromatografia. Biológico**, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.

[51] MOREIRA, NX., CURI, R., MANCINI, J. F. Ácidos graxos: uma revisão. *Nutrire: Rev Soc Bras Aliment Nutrição* 2002; 24: 105-23.

[52] MANHEZI, A., C., BACHION, M., M., PEREIRA, A., L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **REBEn: revista brasileira de enfermagem**, V. 61(S), P. 620-9, 2008.

[53] ARNOSO, B.; COSTA, G.; SCHIMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v.18; n. 01; p. 39-48, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.33233/nb.v18i1.1432>

[54] HORST, M.; LAJOLO, F. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5ª ed. São Paulo (Barueri): Editora Manole, p. 949-987, 2016.

7. NORMAS DA REVISTA – ARTIGO 02

JOURNAL OF ESSENCIAL OIL RESEARCH

Instruções para autores

Sobre o Jornal

O Journal of Essential Oil Research é um periódico internacional revisado por pares que publica pesquisas originais de alta qualidade. Consulte o [Aims & Scope](#) da revista para obter informações sobre seu foco e política de revisão por pares.

Observe que esta revista publica apenas manuscritos em inglês.

O Journal of Essential Oil Research aceita os seguintes tipos de artigo: Artigos Originais, Artigo de Revisão e Resenha de Livro.

Journal of Essential Oil Research considera todos os manuscritos sob a estrita condição de que

- o manuscrito é seu próprio trabalho original e não duplica nenhum outro trabalho publicado anteriormente, incluindo seu próprio trabalho publicado anteriormente.
- o manuscrito foi submetido apenas ao *Journal of Essential Oil Research* ; não está sob consideração ou revisão por pares ou aceito para publicação ou no prelo ou publicado em outro lugar.
- o manuscrito não contém nada que seja abusivo, difamatório, calunioso, obsceno, fraudulento ou ilegal.

Qualquer autor que não cumprir as condições acima será cobrado com os custos incorridos pelo *Journal of Essential Oil Research* para seu manuscrito, a critério dos editores do *Journal of Essential Oil Research* e Taylor & Francis, e seu manuscrito será rejeitado.

Preparando seu papel

Estrutura

Seu artigo deve ser compilado na seguinte ordem: página de título; resumo; palavras-chave; introdução do texto principal, materiais e métodos, resultados, discussão; agradecimentos; declaração de interesse; referências; apêndices (conforme apropriado); tabela(s) com legenda(s) (em páginas individuais); figuras; legendas de figuras (como uma lista).

Limites de palavras

Por favor, inclua uma contagem de palavras para o seu papel. Não há limites de palavras para artigos nesta revista.

Diretrizes de estilo

Consulte estas diretrizes rápidas de estilo ao preparar seu artigo, em vez de qualquer artigo publicado ou uma cópia de amostra.

Qualquer estilo de ortografia é aceitável, desde que seja consistente dentro do manuscrito.

Por favor, use aspas simples, exceto onde 'uma citação está “dentro” de uma citação'.

Observe que as citações longas devem ser recuadas sem aspas.

Diretrizes Gerais

A ortografia e pontuação do inglês americano ou britânico podem ser usadas, desde que o uso seja consistente ao longo do artigo.

Por favor, use aspas simples, exceto onde 'uma citação está “dentro” de uma citação'. Observe que as citações longas devem ser recuadas sem aspas.

Os títulos das seções devem ser concisos e numerados sequencialmente, usando um sistema decimal para subseções.

Notas biográficas sobre os colaboradores não são necessárias para esta revista.

Para todos os manuscritos, linguagem não discriminatória é obrigatória. Termos sexistas ou racistas não devem ser usados.

Os autores devem aderir às unidades do SI. As unidades não estão em itálico. Algumas unidades comuns são °C, IR, GC, GC/MS, HPLC, TLC, FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, CD, λ_{max} (solvente), [α]_D Temp, nm, cm⁻¹, μL, °C/min, μm, kg/ha, mL, L, mg, min, eV, ppm, FID, TC, EC, etc.

Ao usar uma palavra que é ou afirma ser um termo de propriedade ou marca registrada, os autores devem usar o símbolo ® ou TM

Números-Números abaixo de 100 escritos por extenso (quarenta e quatro), exceto quando forem porcentagens (52%) ou seguidos de uma unidade de medida (16 milhas, 23 lbs, dias, etc.) e também quando estiverem em grupo de números maiores quando seria inconsistente mudar entre uma forma numérica e uma forma soletrada.

Diretrizes Específicas

Introdução (deve relatar um breve histórico; considerações gerais e conhecidas como a definição de “óleo essencial” não são aceitas; deve indicar o que há de novo no estudo submetido).

Resultados e discussão (deve ser uma interpretação clara dos dados, não uma mera repetição do que está relatado na Tabela).

Os autores podem relatar porcentagens de GC simples obtidas usando FID ou TCD como detector, assumindo fatores de resposta iguais à unidade para todos os componentes. Tal procedimento não é possível se forem empregados detectores MS ou NP, a menos que os dados

sejam realizados por meio de materiais de referência. Os autores são fortemente encorajados a fornecer uma quantificação verdadeira, pelo menos, dos principais componentes da amostra analisada ($> 10\%$ do óleo total é necessário). Se os padrões não estiverem disponíveis comercialmente, para a medição dos fatores de resposta, os compostos podem ser agrupados em classes químicas (hidrocarbonetos, aldeídos, etc.) e subclasses (monoterpenos, sesquiterpenos, etc.) ou mais) padrão puro para cada classe de componentes semelhantes. A menos que os dados quantitativos sejam uma média de mais de 5 análises, apenas uma casa decimal é aceitável. Médias de mais de 5 análises podem ser apresentadas em duas casas decimais.

Todos os dados experimentais relevantes devem ser fornecidos, detalhados o suficiente para permitir que o experimento seja repetido por outros pesquisadores. Para cromatografia gasosa, que inclui pelo menos coluna (capilar ou empacotada) fase estacionária, dimensões e programa de temperatura do forno; temperaturas do injetor e do detector; modo de injeção e taxa de divisão; tipo e velocidade (ou fluxo) do gás de arraste; concentração da amostra e volume injetado. Para espectrometria de massa, temperaturas de operação para linha de transferência, fonte de íons e analisador; tipo de ionização (EI, CI, outros) e energia de ionização; gás de colisão, se usado; faixa de massa, frequência ou aquisição de dados ou velocidade de varredura usada. O software utilizado para manipulação de dados deve ser informado. Caso tenha sido realizada cromatografia multidimensional, todas as condições experimentais particulares devem ser informadas. Para FTIR, preparação de amostras, a faixa de varredura e a resolução devem ser informadas. Para dados de NMR, campo magnético, frequência de ressonância, temperatura, concentração de solvente e amostra, travamento e/ou padrão de referência devem ser incluídos.

Os índices de retenção (não apenas valores experimentais, mas também recuperados da literatura com a indicação da fonte) devem ser relatados.

A inclusão de um cromatograma agrega valor substancial ao papel, sendo altamente recomendada a incorporação de perfis cromatográficos.

Para identificação, bibliotecas de espectro de massa apropriadas devem ser usadas, juntamente com comparação de RI e/ou injeção padrão, indicando claramente os nomes e fornecedores dos compostos padrão. As bibliotecas espectrais usadas devem ser citadas na seção de referência.

Os trabalhos de pesquisa em análise de plantas devem incluir dados obtidos em mais de uma amostra, a menos que a espécie de planta seja um novo quimiotipo ou possua uma certa bioatividade.

Artigos referentes a uma preparação de amostra (por exemplo, destilação de plantas) e a uma análise (por exemplo, GC/GC-MS) serão devolvidos aos autores, a menos que resultados significativos sejam demonstrados profundamente.

A análise estatística apropriada (pelo menos a média de três repetições) dos dados apresentados deve ser incluída.

Os resultados da atividade biológica devem ser apoiados pela caracterização química do material vegetal usado no estudo e devem incluir dados de concentração inibitória mínima (CIM). Hales de inibição apenas não são suficientes.

Nomes das Espécies: Todas as plantas experimentais e microrganismos listados devem receber sua correta classificação taxonômica, incluindo a citação do autor; por exemplo, *Micromeria teneriffae* Benth. Uma vez citada no texto, a seguinte referência à espécie pode ser escrita como *M. teneriffae*.

Um número de comprovante para uma amostra depositada em um herbário deve ser fornecido para espécies não cultivadas.

Use a nomenclatura química geralmente aceita. Por exemplo, recomenda-se o uso de nomes triviais de terpenos: α -pineno, espatulenol, β -bourbonene, etc. Para nomes IUPAC, o autor é solicitado a determinar se existe um nome trivial para o composto; se houver, deve ser usado.

Alt

Text

Este diário agora inclui Alt Text (texto alternativo), um pequeno texto que pode ser anexado à sua figura para transmitir aos leitores a natureza ou o conteúdo da imagem. É normalmente usado por sistemas como leitores de tela de pronúncia para tornar o objeto acessível a pessoas que não podem ler ou ver o objeto, devido a uma deficiência visual ou deficiência de impressão. O texto alternativo também será exibido no lugar de uma imagem, se o arquivo de imagem não puder ser carregado. O Alt Text também pode fornecer melhor contexto/descrições de imagem para rastreadores de mecanismos de pesquisa, ajudando-os a indexar uma imagem corretamente.

Para incluir Alt Text em seu artigo, siga nossas [Diretrizes](#).

Formatação e modelos

Os trabalhos podem ser submetidos em formato Word. As figuras devem ser salvas separadamente do texto. Para ajudá-lo na preparação de seu artigo, fornecemos modelo(s) de formatação.

Modelos do Word estão disponíveis para esta revista. Salve o modelo em seu disco rígido, pronto para uso.

Se você não conseguir usar o modelo por meio dos links (ou se tiver outras dúvidas sobre o modelo), entre em contato conosco [aqui](#).

As Referências devem ser numeradas consecutivamente no texto (uma referência por número) e devem ser digitadas ordenadamente em folha separada. Dentro do texto, a referência deve aparecer da seguinte forma: "...conforme descrito por Lincoln et al. (5)." Sugere-se um máximo de 30 referências, a menos que o manuscrito seja um artigo de revisão. Artigos de revisão recentes podem ser usados como substitutos para todos, exceto os artigos originais mais pertinentes. Todas as referências devem ser digitadas por extenso, incluindo todos os nomes dos editores para citações de livros, usando o seguinte estilo:

- BM Lawrence, Óleos Essenciais 1988-1991. Publicação Seduzida. Corp., Carol Stream, IL (1993).
- RP Adams, Identificação de Componentes de Óleos Essenciais por Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa, 4ª ed. Publicação Seduzida. Corp., Carol Stream, IL (2007).
- BM Lawrence, um estudo das inter-relações de monoterpeno no gênero *Mentha* com referência especial à origem de Pulegone e Menthofuran. Ph.D. Tese, Rijksuniversiteit, Groningen (1978).
- BM Lawrence e JK Morton, Cytological and Chemical Variation in *Mentha*. Paper No. AG/b-01, Vth International Essential Oil Congress, São Paulo, Brasil (1971).
- BM Lawrence, Um exame mais aprofundado da variação de *Ocimum basilicum* L. In: *Flavors and Fragrances: A World Perspective*. Edits., BM Lawrence, BD Mookerjee e BJ Willis, pp. 161–170, Elsevier Sci. Publ. BV, Amsterdã (1988).
- DE Lincoln, MJ Murray e BM Lawrence, Composição química e bases genéticas para o quimiotipo isopinocampone de híbridos *Mentha citrata*. *Fitoquímica*, 8, 1857-1863 (1986).
- Site da Associação Internacional de Fragrâncias. <http://www.ifraorg.org/> (10 de fevereiro de 2010)

Referências

Por favor, use este [guia de referência](#) ao preparar seu papel.

Serviços de edição Taylor & Francis

Para ajudá-lo a melhorar seu manuscrito e prepará-lo para submissão, a Taylor & Francis oferece uma variedade de serviços de edição. Escolha entre opções como Edição do idioma inglês, que garantirá que seu artigo esteja livre de erros ortográficos e gramaticais, Tradução e Preparação de arte. Para obter mais informações, incluindo preços, [visite este site](#).

Lista de verificação: o que incluir

1. **Detalhes do autor.** Certifique-se de que todos os autores listados atendem aos critérios de autoria de Taylor & Francis . Todos os autores de um manuscrito devem incluir seu nome completo e afiliação na capa do manuscrito. Quando disponível, inclua também ORCiDs e identificadores de mídia social (Facebook, Twitter ou LinkedIn). Um autor precisará ser identificado como autor correspondente, com seu endereço de e-mail normalmente exibido no PDF do artigo (dependendo da revista) e no artigo online. As afiliações dos autores são as afiliações onde a pesquisa foi realizada. Se algum dos coautores nomeados mudar de afiliação durante o processo de revisão por pares, a nova afiliação poderá ser fornecida como nota de rodapé. Observe que nenhuma alteração na afiliação pode ser feita depois que seu artigo for aceito. Leia mais sobre autoria .
2. Deve conter um resumo não estruturado de 150 palavras. Leia dicas sobre como escrever seu resumo .
3. **Resumo gráfico** (opcional). Esta é uma imagem para dar aos leitores uma ideia clara do conteúdo do seu artigo. Deve ter uma largura máxima de 525 pixels. Se sua imagem for menor que 525 pixels, coloque-a em um fundo branco com 525 pixels de largura para garantir que as dimensões sejam mantidas. Salve o resumo gráfico como .jpg, .png ou .tiff. Por favor, não o incorpore no arquivo do manuscrito, mas salve-o como um arquivo separado, rotulado GraphicalAbstract1.
4. Você pode optar por incluir um **resumo de vídeo** com seu artigo. Descubra como isso pode ajudar seu trabalho a alcançar um público mais amplo e o que pensar ao filmar .
5. Entre 3 e 6 palavras- **chave** . Leia tornando seu artigo mais fácil de ser descoberto , incluindo informações sobre como escolher um título e otimização de mecanismo de pesquisa.
6. **Detalhes do financiamento.** Forneça todos os detalhes exigidos por seus órgãos de financiamento e concessão de subsídios da seguinte forma:
Para subsídios de agência única
 Este trabalho foi apoiado pela [Agência de Financiamento] sob o subsídio [número xxxx].
Para subsídios de várias agências, Este trabalho foi apoiado pela [Agência de Financiamento #1] sob o subsídio [número xxxx]; [Agência de Financiamento nº 2] sob Concessão [número xxxx]; e [Agência de Financiamento nº 3] sob Concessão [número xxxx].

7. **Declaração de divulgação.** Isto é para reconhecer qualquer interesse financeiro ou não financeiro que tenha surgido das aplicações diretas de sua pesquisa. Se não houver interesses concorrentes relevantes a declarar, indique isso no artigo, por exemplo: *Os autores relatam que não há interesses concorrentes a declarar* . Mais orientações sobre o que é um conflito de interesses e como divulgá-lo .
8. **Declaração de disponibilidade de dados.** Se houver um conjunto de dados associado ao artigo, forneça informações sobre onde os dados que suportam os resultados ou análises apresentados no artigo podem ser encontrados. Quando aplicável, deve incluir o hyperlink, DOI ou outro identificador persistente associado ao(s) conjunto(s) de dados. Modelos também estão disponíveis para apoiar os autores.
9. **Deposição de dados.** Se você optar por compartilhar ou tornar os dados subjacentes ao estudo abertos, deposite seus dados em um repositório de dados reconhecido antes ou no momento do envio. Você será solicitado a fornecer o DOI, DOI pré-reservado ou outro identificador persistente para o conjunto de dados.
10. **Material complementar online.** O material suplementar pode ser um vídeo, conjunto de dados, conjunto de arquivos, arquivo de som ou qualquer coisa que suporte (e seja pertinente) ao seu artigo. Publicamos material suplementar online via Figshare. Saiba mais sobre o material suplementar e como enviá-lo com seu artigo .
11. **Figuras.** As figuras devem ser de alta qualidade (1200 dpi para arte de linha, 600 dpi para tons de cinza e 300 dpi para cores, no tamanho correto). As figuras devem ser fornecidas em um de nossos formatos de arquivo preferidos: arquivos EPS, PS, JPEG, TIFF ou Microsoft Word (DOC ou DOCX) são aceitáveis para figuras desenhadas no Word. Para obter informações relacionadas a outros tipos de arquivos, consulte nosso documento Envio de arte eletrônica .
12. **Tabelas.** As tabelas devem apresentar novas informações ao invés de duplicar o que está no texto. Os leitores devem ser capazes de interpretar a tabela sem referência ao texto. Forneça arquivos editáveis.
13. **Equações.** Se você estiver enviando seu manuscrito como um documento do Word, certifique-se de que as equações sejam editáveis. Mais informações sobre símbolos matemáticos e equações .
14. **Unidades.** Por favor, use unidades SI (sem itálico).

Usando material de terceiros

Você deve obter a permissão necessária para reutilizar material de terceiros em seu artigo. O uso de pequenos trechos de texto e alguns outros tipos de material geralmente é permitido, de

forma limitada, para fins de crítica e revisão, sem autorização formal. Se você deseja incluir qualquer material em seu artigo sobre o qual você não possui direitos autorais e que não seja coberto por este acordo informal, você precisará obter permissão por escrito do proprietário dos direitos autorais antes do envio. Mais informações sobre como solicitar permissão para reproduzir trabalho(s) sob direitos autorais .

Enviando seu artigo

Esta revista usa o Portal de Submissão da Taylor & Francis para gerenciar o processo de submissão. O Portal de Submissões permite que você veja suas submissões no portfólio de periódicos da Taylor & Francis em um só lugar. Para enviar seu manuscrito, clique aqui .

Observe que o *Journal of Essential Oil Research* usa o Crossref™ para rastrear papéis em busca de material não original. Ao enviar seu artigo para o *Journal of Essential Oil Research* , você concorda com as verificações de originalidade durante os processos de revisão e produção por pares.

Após a aceitação, recomendamos que você mantenha uma cópia do seu Manuscrito Aceito. Saiba mais sobre como compartilhar seu trabalho .

Política de Compartilhamento de Dados

Esta revista aplica a Política de Compartilhamento de Dados Básicos da Taylor & Francis . Os autores são incentivados a compartilhar ou tornar abertos os dados que suportam os resultados ou análises apresentadas em seu artigo, desde que isso não viole a proteção de seres humanos ou outras preocupações válidas de privacidade ou segurança.

Os autores são encorajados a depositar o(s) conjunto(s) de dados em um repositório de dados reconhecido que possa cunhar um identificador digital persistente, preferencialmente um identificador de objeto digital (DOI) e que reconheça um plano de preservação de longo prazo. Se você não tiver certeza sobre onde depositar seus dados, consulte estas informações sobre repositórios .

Os autores também são incentivados a citar quaisquer conjuntos de dados mencionados no artigo e fornecer uma Declaração de disponibilidade de dados .

No momento da submissão, você será perguntado se existe um conjunto de dados associado ao artigo. Se você responder sim, será solicitado que você forneça o DOI, DOI pré-registrado, hyperlink ou outro identificador persistente associado ao(s) conjunto(s) de dados. Se você optou por fornecer um DOI pré-registrado, esteja preparado para compartilhar o URL do revisor associado ao seu depósito de dados, mediante solicitação dos revisores.

Quando um ou vários conjuntos de dados estão associados a um manuscrito, eles não são formalmente revisados por pares como parte do processo de submissão do periódico. É

responsabilidade do autor garantir a solidez dos dados. Quaisquer erros nos dados são de responsabilidade exclusiva dos produtores do(s) conjunto(s) de dados.

Taxas de Publicação

Não há taxas de submissão, taxas de publicação ou encargos de página para esta revista.

As figuras coloridas serão reproduzidas em cores em seu artigo online gratuitamente. Caso seja necessário que as figuras sejam reproduzidas em cores na versão impressa, será cobrada uma taxa.

Os encargos para figuras coloridas impressas são de £ 300 por figura (\$ 400 dólares americanos; \$ 500 dólares australianos; € 350). Para mais de 4 figuras coloridas, as figuras 5 e acima serão cobradas em £ 50 por figura (\$ 75 dólares americanos; \$ 100 dólares australianos; € 65). Dependendo da sua localização, essas cobranças podem estar sujeitas a impostos locais.

Opções de direitos autorais

Os direitos autorais permitem que você proteja seu material original e impeça que outras pessoas usem seu trabalho sem sua permissão. A Taylor & Francis oferece várias opções diferentes de licença e reutilização, incluindo licenças Creative Commons ao publicar acesso aberto. [Leia mais sobre contratos de publicação](#).

Conformidade com agências de financiamento

Depositaremos todos os artigos financiados pelo National Institutes of Health ou Wellcome Trust no PubMedCentral em nome dos autores, atendendo aos requisitos de suas respectivas políticas de acesso aberto. Se isso se aplica a você, informe nossa equipe de produção quando receber suas provas de artigo, para que possamos fazer isso por você. Verifique os mandatos da política de acesso aberto dos financiadores [aqui](#). Saiba mais sobre como [compartilhar seu trabalho](#).

Minhas obras de autoria

Na publicação, você poderá visualizar, baixar e verificar as métricas do seu artigo (downloads, citações e dados Altmetric) através de [My Authored Works](#) on Taylor & Francis Online. É aqui que você pode acessar todos os artigos que publicou conosco, bem como o [link de eprints gratuitos](#), para compartilhar seu trabalho de maneira rápida e fácil com amigos e colegas.

Estamos empenhados em promover e aumentar a visibilidade do seu artigo. Aqui estão algumas dicas e idéias sobre como você pode trabalhar conosco para [promover sua pesquisa](#).

8. ARTIGO 3

Extração de compostos bioativos de *Pereskia aculeata* Miller através de diferentes métodos e avaliação da atividade antioxidante

Denise Bertin Carnevalli¹, Cintia Neves Ramos², Laura Paulino Mardigan³, Eduardo Cesar Meurer⁴, Lucio CardozoFilho⁵, Rúbia Carvalho Corrêa^{1,3}, José Eduardo Gonçalves^{1,3} *

¹Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Maringá-PR, Brasil.

²Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Av. Guedner 1610, 87050-390, Maringá-PR, Brasil

³Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR

⁴Universidade Federal do Paraná - UFPR, Campus Avançado Jandaia do Sul, 86900-000, Jandaia do Sul-PR, Brasil.

⁵ Universidade Estadual de Maringá - UEM, Av. Colombo, 5790, Maringá, Paraná, Brasil

*jose.goncalves@unicesumar.edu.br

Resumo

A *Pereskia aculeata* Miller pertence à família das cactáceas, compõem as espécies de plantas alimentícias não convencionais (PANC), conhecida popularmente como ora-pro-nóbis (OPN) e sendo consumida cada vez mais no Brasil. O uso de compostos antioxidantes derivados de plantas, representam um avanço na manutenção do equilíbrio biológico e da indústria alimentícia. Diversos métodos de extração são utilizados para obter compostos bioativos do extrato bruto de plantas, tais como fluido supercrítico e extração assistida por ultrassom que têm se destacado por atenderem aos princípios da química verde, devido à utilização de solventes de menor impacto ambiental e/ou em volumes reduzidos. Portanto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os compostos bioativos extraídos das folhas de *Pereskia aculeata* Miller por diferentes métodos de extração, utilizando como solvente o etanol. Através da caracterização química dos extratos por análise cromatográfica (CG-EM e LC-MS/MS), foi possível realizar um estudo fitoquímico onde observou uma mistura rica em compostos terpênicos e não terpênicos. Os compostos não terpênicos predominantes nos extratos das folhas de *Pereskia aculeata* foram Fitol, ácido hexadecanóico, ácido ferúlico e Sitosterol, sendo o fitol o composto majoritário. Para a classe dos compostos terpênicos, o β -linalol, foi o composto presente em todos os extratos e com a maior porcentagem. A composição química do extrato sofre influência do método de extração proposto, apresentando um destaca para o método de extração por fluido supercrítico. Por fim, os resultados, indicaram que a *Pereskia aculeata* Miller possui grande quantidade de compostos bioativos, bem como o processo de extração por fluido supercrítico representa uma técnica com grande capacidade de extração desses compostos.

PALAVRAS-CHAVE:

Análise Química; Métodos de extração; Ora-pro-nobis; Composição Química; Capacidade antioxidante.

Summary

Pereskia aculeata Miller belongs to the cactus family, they make up the species of unconventional food plants (PANC), popularly known as ora-pro-nóbis (OPN) and being consumed more and more in Brazil. The use of plant-derived antioxidant compounds represents a breakthrough in maintaining biological balance and the food industry. Several extraction methods are used to obtain bioactive compounds from the crude extract of plants, such as supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction, which have stood out for meeting the principles of green chemistry, due to the use of solvents with less environmental impact and/or in reduced volumes. Therefore, the present work aimed to evaluate the bioactive compounds extracted from the leaves of *Pereskia aculeata* Miller by different extraction methods, using ethanol as solvent. Through the chemical characterization of the extracts by chromatographic analysis (GC-MS and LC-MS/MS), it was possible to carry out a phytochemical study where a mixture rich in terpenic and non-terpenic compounds was observed. The predominant non-terpene compounds in the extracts of the leaves of *Pereskia aculeata* were Phytol, hexadecanoic acid, ferulic acid and Sitosterol, with phytol being the major compound. For the class of terpenic compounds, β -linalool was the compound present in all extracts and with the highest percentage. The chemical composition of the extract is influenced by the proposed extraction method, presenting a highlight for the supercritical fluid extraction method. Finally, the results indicated that *Pereskia aculeata* Miller has a large number of bioactive compounds, as well as the supercritical fluid extraction process represents a technique with great capacity for extracting these compounds.

KEY WORDS: Chemical analysis; Extraction methods; Ora-pro-nobis; Chemical composition; Antioxidant capacity.

INTRODUÇÃO

A *Pereskia aculeata* Miller é uma espécie pertencente à família Cactaceae, descrita botanicamente como planta arbustiva, trepadeira de folhas suculentas, flores brancas, caule lenhoso e espinhos verdadeiros [42]. A espécie possui ampla distribuição geográfica e pode ser encontrada nas regiões temperadas e tropicais do continente americano. No Brasil, sua ocorrência é abundante na região sudeste, em destaque no estado de Minas Gerais, sendo popularmente conhecida como ora-pró-nóbis [43].

Esta planta vem sendo estudada pelo valor de sua matriz nutricional e propriedades biológicas, tendo a presença de proteínas, fibras, minerais e também compostos bioativos, sendo, portanto, uma fonte interessante a ser explorada pelas indústrias químicas e alimentares [43]. Uma parte desses benefícios pode estar associada ao potencial antioxidante, que pode ser relacionado à presença de ácidos fenólicos [38]. Segundo Song [39], para a análise química, principalmente análises cromatográficas, é extremamente importante a escolha de um método eficiente para extração de flavonóides de plantas herbais, pois a quantidade de compostos recuperados da planta *in situ* depende do método de extração selecionado.

Desta forma, é essencial avaliar os métodos de extração, considerando que as plantas têm composição química bastante complexa e que comumente acontece a extração de várias classes de compostos. Os métodos mais comuns para a obtenção de extratos são: refluxo, fluído supercrítico, maceração, técnica assistida por microondas, soxhelet, e técnica assistida por ultrassom [31].

Segundo Bendicho [09], o banho ultrassônico é uma maneira rápida e simples de extração, a qual atende à alguns dos princípios da química verde, quando se diz respeito a diminuição na geração de resíduos e na prevenção de riscos ambientais, devido ao fato da utilização de reagentes diluídos e/ou utilizados em volumes reduzidos. A técnica de extração por fluído supercrítico apresenta muitos atrativos para o processamento de produtos de ocorrência natural de fácil oxidação, decorrente das várias características distintas, tais como a facilidade de recuperação do soluto e reciclagem do solvente com a simples manipulação de temperatura e/ou pressão, a possibilidade de direcionar a separação pela escolha a priori das condições termodinâmicas de temperatura e/ou a pressão [59].

Já a maceração é um processo no qual o material vegetal fica em contato com o líquido extrator em recipiente fechado durante um período (horas ou dias), sob agitação ocasional (estática) ou constante (dinâmica) sem renovação do líquido extrator [21].

Assim, o presente trabalho tem por objetivo avaliar os compostos bioativos extraídos das folhas de ora-pro-nóbis, através de três métodos de extração diferentes: extração assistida por ultrassom (EAU), extração assistida por fluido supercrítico (EAM) e extração por maceração dinâmica com esgotamento de solvente. O solvente utilizado nos processos de extração foi o etanol, por apresentar características que podem conferir boa extração, além de atender a requisitos da química verde. A caracterização química foi realizada por análise cromatografia acoplada a espectrometria de massas.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Amostras de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeada* Miller) foram coletadas às 8 h da manhã no viveiro da Fazenda Unicesumar, localizada na rodovia PR- 454, com coordenadas geográficas latitude -23.341898, longitude: -51.875253.

Após a colheita o material foi levado para o Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas (LIABQ) da Universidade Cesumar - Unicesumar e foi preparado para ser seco em local ventilado a temperatura ambiente. Após a secagem das folhas da ora-pro-nobis, estas foram trituradas em moinho de faca marca Willye (TE650) e armazenadas sob refrigeração. A exsiccata da planta (folhas, caule, acúleos) foi documentada no herbário da Universidade Estadual de Maringá – UEM, com o registro (HUEM) sob o número 36745.

Método de Extração Assistida por Ultrassom (EAU)

O extrato bruto de *Pereskia aculeada* Miller foi extraído usando um extrator Toption TOPT-5, com temperatura, potência e frequência controladas. Na análise, 10 g do material particoula seco foi extraído com 100 mL de solvente enquanto exposto a ondas de ultrassom com frequência de 40 kHz, 500 W e temperatura do banho de extração em 40 °C, controlada pela circulação de água durante todo o experimento dentro de $\pm 0,5$ °C. O tempo total da extração foi de 15 minutos. Para separação dos resíduos sólidos da solução, o extrato foi centrifugado a 4000 rpm por 10 min. Após a decantação, o solvente foi exposto a um fluxo de nitrogênio até evaporar. Em seguida, o método gravimétrico foi usado para medir o rendimento da extração. As extrações foram realizadas em triplicada.

Método de Extração por Fluido Supercrítico (EFS)

Para cada extração foi utilizado 10 g (capacidade máxima do extrator) do material particulado de *Pereskia aculeada* Miller. O solvente (CO₂), resfriado na bomba, foi bombeado para o extrator já estabilizado termicamente na temperatura de extração e então, pressurizado em intervalos de pressão de 10 bar até a pressão desejada. Após 20 minutos de estabilização, a válvula de expansão foi aberta para uma vazão de solvente de 3 mL/min. Durante a extração, o extrato foi coletado em frasco de vidro âmbar e sua massa pesada a cada 10 minutos. Foram empregados 190 minutos de extração utilizando caule e frutos e 120 minutos para as flores e folhas, tempo em que ocorreu o esgotamento da amostra. As condições de extração testadas foram nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C, e pressões de 50, 80 e 100 bars. Estas condições foram selecionadas visando a obtenção de diferentes densidades e solubilidades para o solvente, mas observando as limitações do extrator. Os valores de densidade foram calculados de acordo com [60]. As solubilidades foram calculadas a partir da parte linear da curva de extração, pela divisão entre a massa do extrato pela massa do solvente utilizado. O rendimento da extração foi obtido pela divisão entre a massa do extrato obtido, pela massa de planta alimentada no leito de extração, multiplicado por 100 [61].

Método de Extração por Maceração (EMa)

Amostras de folhas de *Pereskia aculeada* Miller foram pesadas (10 gr), maceradas e, em seguida, transferidas para cartuchos e levadas para o refluxo. O pó obtido foi submetido ao processo de maceração dinâmica com renovação do solvente de acordo com protocolo descrito na Farmacopéia Brasileira (Farmacopéia Brasileira, 1988), com álcool etílico 70% v v⁻¹ até o esgotamento do material vegetal [50]. Em seguida, o filtrado foi concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório (modelo Fisaton 802) à 40°C, até a obtenção do extrato bruto (EB). O método gravimétrico foi usado para medir o rendimento da extração. As extrações foram realizadas em triplicada.

Caracterização Química utilizando Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG-MS)

As análises foram realizadas em um cromatógrafo a gás (Agilent 7890B), acoplado ao espectrômetro de massas (Agilent 5977A MSD), operando com uma fonte de elétrons com energia de ionização de 70 eV. Foi utilizada uma coluna capilar HP-5MS IU (30 m x 0,25 mm x 0,250 mm) recheada com fase estacionária composta de 5% de fenil e 95% dimetil polisiloxano. O volume injetado das amostras adequadamente diluídas foram de 2 µL, nas

condições de programação do forno: temperatura inicial de 50 °C sendo mantida por 3 min seguido de aquecimento de 3 °C/min até temperatura final de 300 °C, permanecendo por 10 min. A injeção das amostras foi realizada no modo split na razão 1:20 com fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹ de Hélio como gás de arraste com a temperatura do injetor mantidas a 250 °C e a linha de transferência em 280 °C. No detector de massas a temperatura da câmara de ionização foi de 230 °C a temperatura do quadrupolo de 150 °C. No espectrômetro de massas foi utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga (*m/z*) de 40 - 600, com “solvent delay” de 3 min.

Os compostos foram identificados comparando seus espectros de massas com os espectros de massas da biblioteca NIST 11.0 e na comparação dos seus índices de retenção (IR) obtidos por uma série homóloga do padrão de *n*-alcanos, C7 a C28 [51]. Já as concentrações foram obtidas por análise da área relativa de cada pico cromatográfico em comparação com a área do pico do padrão interno [52,53].

Teor de Compostos Fenólicos Total (CFT)

A quantidade de compostos fenólicos totais foi determinada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu [60]. Uma alíquota de 0,1 mL de cada extrato (0,02 g mL⁻¹) FF foi misturada em tubo de ensaio com 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu, mantida no escuro por 5 minutos e, em seguida, adicionado 0,4 mL de solução de Na₂CO₃ a 7,5%. O tubo de ensaio foi novamente protegido da luz e mantido à temperatura ambiente por um período de 120 minutos. Ao final, a absorbância da solução foi medida em um espectrofotômetro de UV/Vis (Agilent Cary 50) no comprimento de onda de 760 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Avaliação da Atividade Antioxidante

Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Método do DPPH

A capacidade de sequestro de radicais livres do extrato pelo 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) foi realizada conforme descrito por Zhan-Wu [54]. O extrato foi preparado em metanol a 1,00, 0,75, 0,50 e 0,25 mg/mL e 0,1 mL desta mistura foi adicionado a 3,9 mL de solução metanólica DPPH• (60 µM). O controle negativo tinha 0,1 mL de metanol em solução de DPPH• (60 µM). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 30 min e a redução de absorbância foi medida em 515 nm em espectrofotômetro UV/VIS. A capacidade

antioxidante total foi calculada utilizando uma solução padrão de Trolox (60 μ M) como referência de 100%. A partir da correlação entre absorbância e concentração da amostra antioxidante, foi determinada a concentração inibitória para reduzir 50% dos radicais livres (IC50). Os resultados foram expressos em μ mol Trolox/mg.

Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Método do ABTS

A atividade antioxidante pelo método do ABTS (2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), sal diamônico, ~98%) foi determinada conforme protocolo de Rufino et al., (2007). O extrato (30 μ L), previamente preparado em metanol a 1,00, 0,75, 0,50 ou 0,25 mg/mL, foi misturado a 3,0 mL de reagente ABTS+ para a reação de atividade antioxidante. A mistura foi vigorosamente homogeneizada e mantida a temperatura ambiente por 30 min. A variância de absorvância foi lida a 734 nm. Uma curva padrão de sulfato ferroso (0 - 2000 μ M) foi usada para calcular a atividade antioxidante. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em μ mol Trolox/mg de amostra.

Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Método de Redução do íon Férrico (FRAP)

Para o método de redução do íon férrico (FRAP), 25 mL de tampão acetato (0,3 M), 2,5 mL de solução aquosa de TPTZ (2,4,6-Tris (2-piridil) -triazina) (10 mM) e 2,5 mL de cloreto ferroso aquoso (20 mM) foram misturados de acordo com Rufino et al. (2006). O extrato (90 μ L), previamente preparado em metanol a 1,00, 0,75, 0,50 ou 0,25 mg/mL, foi misturado a 2,7 mL de reagente FRAP para a reação de atividade antioxidante. A mistura foi vigorosamente homogeneizada e mantida a 37°C por 30 min. A variância de absorvância foi lida a 595 nm. Uma curva padrão de sulfato ferroso (0 - 2000 μ M) foi usada para calcular a atividade antioxidante. Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em μ mol Trolox/mg de amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização dos Extratos obtidos por diferentes métodos de extração

A **Tabela 7** apresenta a relação dos métodos e condições utilizados na extração das folhas de *Pereskia acuelata* Miller. As condições aplicadas em cada método apresentaram as

especificidades dos respectivos métodos extratores. O solvente aplicado em todos os métodos de extração utilizado neste trabalho foi o etanol.

Tabela 7: Relação de métodos de extração com o rendimento e geração de resíduos.

Método de extração	Massa amostra (g)	Volume solvente (mL)	Massa EB(g)	% Rendimento	Resíduo SS (g)
Fluído Supercrítico	10,0	90	0,7375	7,4	9,2
Ultrassom	10,0	100	0,1651	5,7	9,4
Maceração	10,0	150	0,3830	3,8	9,6

*Massa EB = massa em gramas do extrato; Resíduo SS = Resíduo sólido seco gerado no processo;

Fonte: Acervo do autor, 2022.

Os dados relacionados na Tabela 7 reporta o método de extração por fluído supercrítico como o melhor método de extração, quando correlacionamos a quantidade obtida em gramas do extrato, seu rendimento e a quantidade de resíduo gerado. O rendimento percentual do extrato das folhas de *Pereskia aculeata* Miller obtido pelo método de fluído supercrítico foi 23% e 48,6% maior, quando comparados aos métodos de extração assistida por ultrassom e maceração, respectivamente.

Os compostos identificados nos extratos das folhas de *P. aculeata* Miller estão listados na Tabela 8. Até onde sabemos, esse é o primeiro estudo que relaciona a composição química dos extratos das folhas dessa planta alimentícia não convencional com aplicação de diferentes métodos de extração. As extrações apresentaram rendimentos de 7,4 % para o método de EFS, 5,7 % para o método de EAU e 3,8 % para EMa.

Considerando as técnicas de extração utilizadas, foram identificados no total 58 (EFS), 51 (EAU) e 50 (EMa) compostos nos extratos analisados. Deste total, os compostos listados podem ser divididos em dois grandes grupos: 30, 33 e 31 pertencentes ao grupo dos compostos terpênicos e 21, 21 e 19 ao grupo dos compostos não-terpênicos extraídos pelos métodos EFS, EAU e EMa, respectivamente. O grupo terpênico é composto por diterpeno, triterpeno, monoterpene oxigenado, diterpenos oxigenados, sesquiterpeno e sesquiterpenos oxigenados. Já as substâncias que compõem o grupo dos compostos não terpênicos podem ser classificadas da seguinte forma: ácidos graxos, aldeídos, ésteres, hidrocarbonetos, éter e álcool.

Para o grupo dos terpenos, o fitol, um diterpeno oxigenado foi o composto majoritário encontrado nos extratos, nas proporções de 38,9 %, 36 % e 23,6 % para os métodos de extração EFS, EAU e EMa, respectivamente. Quando comparamos essas concentrações de fitol (Tabela 9) observa-se uma eficiência maior na extração utilizando as técnicas de fluído supercrítico e Ultrassom, quando comparados com método clássico de maceração.

Foram identificados também em todos os extratos de folhas de *Pereskia aculeata* Miller os monoterpenos oxigenados β -linalol, α -terpineol e butirato de citrôn timeril, enquanto a cumarina somente foi identificada nos extratos EFS e EAU. Já o sesquiterpeno β -farneseno e os sesquiterpenos oxigenados trans-nerolidol, acorona, cardinol, (5E,9E)-Farnesil acetona, 14-Hidróxi-(Z)-cariofileno, α -Murolool foram detectados para ambas as técnicas de extração utilizadas. Assim, a presença destes compostos terpênicos pode influenciar diretamente na característica antioxidante dos extratos [55,25].

Tabela 8: Composição química dos extratos obtidos por métodos de extração diferentes das folhas de *Pereskia aculeata* Miller.

N	Compostos	Métodos de			Classe química	Método de identificação
		Extração (%)				
		EAU	EFS	EMa		
Compostos não Terpênicos						
1	Ácido tetradecanóico	0,2	0,2	-	Ácido Graxo	A
2	Ácido Hexadecanóico	3,1	1,9	0,9	Ácido Graxo	A
3	Ácido Linoléico	-	0,5	-	Ácido Graxo	A
4	Ácido Oleico	1,1	1,5	-	Ácido Graxo	A
5	Ácido vacênico	0,45	0,2	-	Ácido Graxo	A
6	Ácido Palmítico	1,3	0,4	-	Ácido Graxo	A
7	Ácido málico	1,8	2,2	-	Ácido fenólico	A
8	Ácido Ferúlico	5,0	4,6	3,2	Ácido fenólico	A
9	Ácido Octadecanóico	0,5	-	1,0	Ácido fenólico	A
10	Ácido Vanílico	-	0,2	-	Ácido fenólico	A
11	Nonanal	0,1	0,1	0,2	Aldeído	B
12	Decanal	0,38	0,5	0,45	Aldeído	B
13	Hexanal	0,5	0,44	2,36	Aldeído	B
14	2-Hexil-(E)-cinamaldeído	0,6	0,6	-	Aldeído	B
15	2-bromo Octadecanal	0,3	0,15	0,45	Aldeído	B
16	Tricetina	-	1,44	-	Éster	B
17	Miristato de isopropila	1,38	0,85	2,45	Éster	B
18	Palmitato de isopropia	0,57	-	0,95	Éster	A, B
19	Esterearato de metila	-	-	1,16	Éster	A,B
20	Acetato de 9-decenil	0,91	0,5	0,7	Éster	B
21	Hexadecanoato de isopropila	0,46	0,33	0,6	Éster	B
22	Hexadecanoato de metila	2,6	2,9	3,92	Éster	B
23	Isovalerato de metila	-	-	0,4	Éster	B
24	Linoleato de metila	2,32	3,0	4,1	Éster	A, B
25	Sitosterol	4,8	4,42	21,5	Éster de esterol	A, B
26	Stigmasterol	1,15	1,9	2,27	Éster de esterol	A, B
27	Campesterol	3,74	3,59	0,5	Éster de esterol	A, B
28	Heneicosano	0,2	-	0,15	Hidrocarboneto	B
28	Tetracosano	0,2	0,18	0,5	Hidrocarboneto	B
29	Pentacosano	0,16	-	-	Hidrocarboneto	B
30	2-Metil-hexacosano	-	0,4	-	Hidrocarboneto	B
31	2-Metilloctosano	-	0,3	0,22	Hidrocarboneto	B
32	Heptadecano	0,14	0,11	-	Hidrocarboneto	B
33	Hexadecano	0,13	0,18	0,2	Hidrocarboneto	B
34	Nonadecano	-	0,23	0,15	Hidrocarboneto	B
35	Octadecano	-	1,12	0,28	Hidrocarboneto	B

36	Heptacosano	0,2	0,17	0,11	Hidrocarboneto	B
37	Hexatriacontane	-	0,1	0,16	Hidrocarboneto	B
38	1-Nonadecenol	-	-	0,11	Álcool	A, B
39	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	-	-	0,17	Álcool	A, B
40	2-Methyl-E, E-3, 13-octadecadien-1-ol	0,1	-	0,14	Álcool	A, B
41	3,7,11-Trimethyl-1-Dodecanol	-	-	0,18	Álcool	A, B
42	α -Tocoferol	0,2	0,35	0,12	Álcool - fenol	A, B
Compostos Terpênicos						
43	β -Linalol	3,35	3,09	1,1	Monoterpeno oxigenado	B
44	Cumarina	0,11	0,10	-	Monoterpeno oxigenado	B
45	α -Terpineol	0,88	0,46	1,15	Monoterpeno oxigenado	B
46	Butirato de Citronelil	0,10	0,18	0,22	Monoterpeno oxigenado	A, B
47	Isofitol	3,55	3,09	4,44	Diterpeno oxigenado	A, B
48	Fitol	36	38,9	23,6	Diterpeno oxigenado	A, B
49	Óxido de manool	0,87	0,93	-	Diterpeno oxigenado	A, B
50	Tetraidrorrimueno	0,7	0,56	1,0	Diterpeno	A, B
51	Esqualeno	1,37	2,21	1,21	Triterpeno	B
52	β -Farneseno	0,33	0,35	0,30	Sesquiterpeno	B
53	(\pm) - <i>trans</i> -Nerolidol	1,28	1,30	1,20	Sesquiterpeno Oxigen	B
54	Acorona	2,0	1,87	3,0	Sesquiterpeno Oxigen	A, B
55	α -Cadinol	0,85	0,90	0,31	Sesquiterpeno Oxigen	B
56	Ciclopentadecanolida	-	-	0,51	Sesquiterpeno Oxigen	A, B
57	Diiidro- β -agarofurano	0,22	0,14	0,57	Sesquiterpeno Oxigen	A, B
58	(5E,9E) -Farnesil acetona	1,05	1,28	0,24	Sesquiterpeno Oxigen	B
59	14-Hidróxi-(Z)-cariofileno	0,37	0,30	0,28	Sesquiterpeno Oxigen	B
60	(E)- β -IononaS	0,1	0,12	-	Sesquiterpeno Oxigen	A, B
61	Isotorquato	1,17	1,91	0,3	Sesquiterpeno Oxigen	B
62	α -Muroiol	0,38	0,55	0,22	Sesquiterpeno Oxigen	B
63	Óxido de cariofileno	0,19	0,14	0,1	Sesquiterpeno Oxigen	B
64	Cis-Tujopsenal	0,78	0,91	0,23	Sesquiterpeno Oxigen	A, B
Núm. Comp. identificados		51	54	50		

EUA = Extração assistida por ultrassom; EFS = Extração por Fluido Supercrítico; Ema = Extração por Maceração; A = Caracterização química realizada por CL-EM/EM; B = Caracterização química realizada por CG-EM.

Fonte: Acervo do autor.

Os compostos identificados para a classe dos não terpênicos foram: 6 (EAU), 5 (EFS) e 1 (Ema) ácidos graxos, com o ácido n-hexadecanóico presente em todos os extratos. Este ácido graxo constitui o composto majoritário para o grupo, em todos os extratos. Aos ácidos graxos são atribuídas propriedades anti-inflamatória e antioxidante [25,56].

Os compostos da classe dos ácidos fenólicos foram identificados em todos os extratos através da análise por CL-EM/EM. No total, foram identificados 3 compostos nos extratos EFS e EAU e dois para Ema, sendo o ácido ferúlico o majoritário entre eles e o único presente em

todos os extratos. Sabe-se que os ácidos fenólicos são compostos muito abundantes da classe fenólica vegetal [48,30]. O ácido ferúlico também já foi identificado em amostras de *Pereskia aculeata* Miller [40]. O ácido vanílico foi encontrado somente no extrato das folhas para o método EAU. O ácido elágico e a epicatequina foram detectados apenas no extrato do FV. Autores associaram os ácidos fenólicos com potencial anti-inflamatório, neuroprotetor, analgésico, antimicrobiano antioxidante e cardioprotetora [33].

Compostos Fenólicos Totais

Na determinação do teor de fenólicos totais presentes nos extratos das folhas de *Pereskia aculeata* Miller pelo teste de Folin-Ciocalteu, mostrou que EFS, EAU e EMa apresentaram concentração de $19,57 \pm 0,07$, $15,87 \pm 0,05$ e $11,81 \pm 0,02$ mg EAG/g de amostra, respectivamente. Estudos relatados na literatura apresenta conteúdo fenólico de cerca de 0,65 mg EAG/g [02, 37] 1,13 mg EAG/g e 1,20 mg EAG/g [37], valores estes, inferiores ao observado no presente estudo. Teores de fenólicos totais obtidos pela extração de diferentes solventes foram estabelecidos por Souza [42], sendo 15,04 mg GAE/g para o extrato metanólico, 11,78 mg GAE/g para o extrato etéreo e 5,17 mg GAE/g para o clorofórmio.

No geral, os extratos EFS e EAU apresentaram concentração de compostos fenólicos totais maiores do que o extrato EMa, este comportamento provavelmente está ligado a característica do método de extração. A indentifica química dos extratos apresentadas na Tabela 9 corrobora com este resultado.

Os teores de fenólicos totais encontrados em nosso extrato hidrometanólico foram relevantes (23,75 mg/g), sendo a quantidade de ácidos fenólicos e flavonóides quase equivalentes. Teores de fenólicos totais baseados em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por grama de extrato de diferentes extratos solventes de folhas de *P. aculeata* foram estimados por Souza [42]. O melhor teor fenólico foi encontrado para o extrato metanólico (15,04 mg GAE/g), seguido pelo extrato etéreo (11,78 mg GAE/g) e clorofórmio (5,17 mg GAE/g). No entanto, sabe-se que outros tipos de compostos que podem estar presentes em abundância em extratos vegetais, como açúcares redutores e ácido ascórbico, também podem reduzir o reagente de Folin Ciocalteu, resultando em valores superestimados de compostos fenólicos totais por esse método [57].

Atividade Antioxidante

Antioxidantes são substâncias que podem prevenir, impedir ou reduzir danos oxidativos ao DNA, as proteínas e aos lipídeos. Eles atuam como sequestradores de espécies reativas de oxigênio (ERO) nocivas causadoras da iniciação ou progressão de doenças [49], constituindo-se em importantes compostos na prevenção de distúrbios causados por radicais livres que se encontram em elevadas quantidades como doenças cardíacas, alguns tipos de câncer, diabetes e Alzheimer [40]. Os antioxidantes são compostos capazes de reduzir o dano oxidativo pela absorção e neutralização de radicais livres, quelando ou decompondo substâncias simples ou compostas ([08]. Os vegetais verdes escuros são importantes na dieta uma vez que são fonte de antioxidantes e de compostos fenólicos [20].

Existem inúmeras metodologias para determinar a capacidade antioxidante dos produtos, porém estas podem estar sujeitas a interferências, além de se basearem em diferentes fundamentos, influenciando em sua aplicabilidade. Devido a este inconveniente, preconiza-se atualmente, a utilização de duas ou mais técnicas para a determinação da atividade antioxidante, já que nenhum método isolado seria capaz de identificar a atividade total de uma amostra [17].

A Tabela 9 relaciona os dados das atividades antioxidantes obtidas dos diferentes extratos de *Pereskia aculeata* Miller obtidas pelos métodos EFS, EAU e EMa. Um conjunto de métodos antioxidantes foi utilizado para avaliar o potencial antioxidante do extrato das folhas de *Pereskia aculeata* Miller, redução do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH); redução do cátion 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS) e método de redução do íon férrico (FRAP). Diferentes reatividades químicas implicam em atividades antioxidantes distintas nos testes químicos [11].

A capacidade redutora dos extratos da ora-pro-nóbis do radical DPPH é apresentada na Tabela 9. As amostras apresentaram diferentes atividades, com valores variando entre 51,11 a 100,33µg/mL, sendo o extrato obtido por maceração com o menor valor. Dados da literatura mostram atividade antioxidante (DPPH) do extrato bruto metanólico de folhas de *P. aculeata* da fração hexânica foi a mais ativa, quando comparados com outras frações como diclorometano e acetato de etila [29]. Enquanto, Souza [34] relataram atividade de eliminação de DPPH muito menor ($IC_{50} = 7,09$ mg/ml) para um extrato metanólico de *P. aculeata*. Para Silva [38] a atividade antioxidante do extrato metanólico de folhas de *P. aculeata* foi de 44,99 g de Trolox /kg de planta fresca.

Tabela 9: Atividade Antioxidante de extrato ora-pro-nóbis obtidos por diferentes métodos de extração.

Métodos de extração	DPPH	FRAP	ABTS
Ultrassom	82,78Cc	421,36Ad	104,66 Be
Fluido Supercrítico	100,33 Cb	612,23 Aa	221,61 Bb
Maceração	51,11 Cd	555,65 Ab	265,22 Ba

*Letra minúscula diferente estatisticamente a 5% de probabilidade entre o mesmo teste antioxidante com diferentes amostras/extração. **Letra maiúscula diferente estatisticamente a 5%.

Fonte: Acervo do autor, 2022.

O método do ABTS é baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o radical ABTS, esta captura faz com que ocorra uma redução no valor da absorbância [44]. O método ABTS apresenta excelente estabilidade, sendo um dos testes mais rápidos de atividade antioxidante e que oferece resultados reprodutíveis, além de oferecer vários máximos de absorção e uma boa solubilidade, permitindo análises de compostos tanto de natureza lipofílica como hidrofílica [23]. O método de extração por maceração apresentou a maior resposta pelo método ABTS, quando comparada com as demais.

Já o extrato das folhas de *P. aculeata* obtido pelo método de fluido supercrítico apresentou um alto valor frente ao método FRAP, frente aos demais extratos. Rodrigues [58] também estudando extrato metanólicos das folhas de ora-pro-nóbis encontrou resultado semelhante ao deste trabalho (654 $\mu\text{mol Trolox/mg}$).

Os resultados apresentados mostraram uma diferença estatística entre os métodos antioxidantes utilizados, isso se deve aos princípios de cada método, assim como os métodos de extração, cada método apresenta especificações diferentes quanto ao processo extrativo.

Diversos métodos extrativos então, podem ser utilizados para obtenção de extratos vegetais. Além dos métodos extrativos, são diversos os fatores que influenciam na extração, como a parte do vegetal (folha, caule, raiz, flor, fruto) e a origem deste, o grau de processamento, o tamanho da partícula, o solvente utilizado, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente [46]. Desta forma, se possibilita avaliar qual será o melhor método de extração avaliando os compostos fenólicos e antioxidantes.

CONCLUSÃO

O diterpeno oxigenado fitol, foi identificado como o composto majoritários presentes em todas os extratos das folhas de *P. aculeata* obtidos pelos métodos de EFS, EAU e EMa. O ácido hexadecanóico merece destaque por estar presente e com a maior concentração dos ácidos

graxos em todos os extratos. Os compostos não terpênicos, ácido ferúlico e o Sitosterol também foram identificados em todos os extratos. Para os compostos terênicos o β -linalol foi o composto caracterizado com a maior porcentagem em todos os extratos. Os dados de caracterização química e atividade antioxidante evidência a bioatividade da *P. aculeata*, bem como indicou diferentes características químicas dos extratos em função da aplicação de métodos de extração diferentes. Dentre os métodos de extração utilizados no trabalho, destaca-se os métodos de extração por fluido supercrítico.

Por fim, sugere-se novos estudos que avaliem a composição química e a bioatividade destes extratos, visto que a informação sobre a composição química ainda é muito limitada. As folhas de *Pereskia aculeata* se mostraram como um potencial fonte de compostos antioxidantes. Este fato é de extrema relevância uma vez que ela está presente na alimentação em alguns países.

REFERÊNCIAS

- [1] ABIZAID, E.; RIACHI, L. G; de MARIA, C.; MOREIRA, R. Investigation of the volatile fraction of chamomile (*Matricaria recutita* L.) infusions prepared from Brazilian commercial sachets. **International Food Research Journal**, v. 22, c.5, p. 2133-40, 2015.
- [2] AGOSTINI-COSTA, T.; WONDRACECK, D.; ROCHA, W.; SILVA, D. Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, c. 1, p. 234-238, 2012. doi: 10.1590/S0100-29452012000100031.
- [3] ALMEIDA, M.; CORRÊA, A. Utilization of cacti of the genus *Pereskia* in the human diet in a municipality of Minas Gerais. **Cienc Rural**, V. 42, P. 751-756, 2012.
- [4] AMARAL, L.; MORIEL, P; FOGLIO, M.; MAZZOLA, P. Evaluation of the cytotoxicity and phototoxicity of *Caryocar brasiliense* supercritical carbon dioxide Extract. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 450, p. 2-6, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4255682/> doi: 10.1186/1472-6882-14-450.
- [5] ANDARWULAN, N.; BATARI, R.; SANDRASARI, D.; BOLLING, B.; WIJAYA, H. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from Indonesia. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1231-1235, 2010.
- [6] ANS. Farmacopeia Brasileira. v. 1, p. 546. 2010. Disponível em: www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm.
- [7] ARNAO, M. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends Food Sci Tech**, v. 11, c. 11, p. 419-421, 2000.

- [08] ASHRAF, A., SARFRAZ, R.; MAHMOOD, A.; DIN, M. Chemical composition and in vitro antioxidant and antitumor activities of *Eucalyptus 63 camaldulensis* Dehn. leaves. *Industrial Crops and Products*, v. 74, p.241–248, 2015. <http://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.04.059>
- [09] BENDICHO, C.; CALLE, I.; PENA, F.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 31, pag. 50–60, 2012.
- Available in: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>.
- [10] BENZIE, I, STRAIN, J. The ferric reducing ability of plasma (Frap) as a measure of antioxidant power: the frap assay. **Analical Biochemical**, v. 239, p. 70-76, 1996.DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
- [11] CORRÊA, R.; HAMINIUK, C.; BARROS, L.; DIAS, M.; CALHELHA, R.; KATO, C.; FERREIRA, I. Stability and biological activity of Merlot (*Vitis vinifera*) grape pomace phytochemicals after simulated in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 410–417, 2017.
- [12] FERREIRA, I. Effects of in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation on a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) extract rich in rosmarinic acid.**Food Chemistry**, v. 271, p. 393–400, 2019.
- [13] FERREIRA, B., BEIK, J., ALVES, S., HENRIQUE, F., SAUER, E., CHORNOBAI, C., BOWLES, S., CHAVES, E. Extração Assistida por Ultrassom para Determinação de Lipídeos em Alimentos: Um Experimento em Laboratório. **Revista Química Nova**, v. 43, v. 9, p.1320-1325, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170592>
- [14] FELIU, D. Análise de terpenóides de espécies de *Croton* sect. *Lamprocroton* (Mull. Arg.) Pax (Euphorbiaceae). Dissertação (Mestrado). **Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo**. Departamento de Botânica, 2011.
- [15] FONSECA, S. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. p. 62, 2005. Disponível em: www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos
- [16] GARCIA, J.; CORRÊA, R.; BARROS, L.; PEREIRA, C.; ABREU, R.; ALVES, M. Phytochemical profile and biological activities of “Ora-pro-nobis” leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302-8, 2019. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.05.074.
- [17] GONÇALVES, G., CORRÊA, R.; BARROZ, L.; DIAS, M.; CALHELHA, R.; CORREA, V.;
- [18] GUTBROD, K., ROMER, J., DÖRMANN, P. Metabolismo do fitol em plantas. **Progresso na Pesquisa de lipídios**, 74, v. 1-17, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.01.002>
- [19] HANDA S.; HANDA, S. S.; KHANUJA, S.; LONGO, G.; RAKESH, D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. **Trieste: ICS Unido**, P. 266, 2008.

- [20] HUSSAIN, P.; SURADKAR, P.; JAVAID, S.; AKRAM, H.; PARVEZ, S. (2016). Influence of postharvest gamma irradiation treatment on the content of bioactive compounds and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) and spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.33, p.268–281, 2016. <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.11.017>.
- [21] KARABEGOVIĆ, I.; STOJICEVIĆ, S.; VELICKOVIC, D.; NIKOLIC, N. The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. **Industrial Crops and Products**, v.54, p.142-148, 2014.
- [22] KRUG, F.; ROCHA, F. **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**, 1ª ed., Editora SBQ, 2016.
- [23] KUKOSKI, E.; ASUERO, A.; TRONCOSO, A.; MANCINI FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Cien Tecnol Aliment**, c. 25, v. 4, p. 726-32, 2005.
- [24] LEITE, J. Fitoterapia: Bases científicas e tecnológicas. **Atheneu**, P. 328, 2009.
- [25] MORAES, T.; MONTENEGRO, J.; MARQUES, T.; EVANGELISTA, L.; ROCHA, C.; TEODORO, A.; KATO, L.; MOREIRA, R. Perfil fitoquímico e atividade antioxidante de flores e frutos de *Pereskia aculeata* Miller. **Scientia Plena**, c. 17, v. 5, p.051503–1, 2021.
- [26] MOREDA, W. Chromatographic Analysis of Minor Constituents in Vegetable Oils. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 131-148, 2000.
- [27] PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of pharmacy phytochemistry**, v. 2, n. 5, p. 115-9, 2014. Disponível em: <http://www.phytojournal.com/vol2Issue5/11.1.html>.
- [28] PRADO, A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. Dissertação [Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos] - Universidade de São Paulo; 2009.
- [29] PINTO, N.; SANTOS, R.; MACCHADO, D.; FLORÊNCIO, J.; FAGUNDES, E.; ANTINARELLI, L. Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. **Pharmacology Online**, v. 3, p. 63–69, 2012.
- [30] QUING, J; YANG, J; MA, L; WEN, D; CHEN, F; LI, J. Identification of polyphenols in mulberry (genus *Morus*) cultivars by liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometer. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 55-64, 2017. doi: 10.1016/j.jfca.2017.07.005.
- [30] SANTOS FILHO, A., SILVA, D., SILVA, L., RODRIGUES, A. Avaliação da extração assistida por ultrassom de compostos bioativos das folhas de chicória (*Eryngium foetidum* L.) e cariru (*Talinum triangulare* Jacq. Willd). **Brazilian Journal of Development**, v.7, n.12, p.118256-118270, 2021. DOI:10.34117/bjdv7n12-539

- [31] SARVIN, B, FDOROVA, E., SHPIGUN, O., TITOVA, M., NIKITIN, M., KOCHKIN, D., RODIN, I., STAVRIANIDI. LC-MS Determination of steroidal glycosides from *Dioscorea deltoidea* Wall cell suspension culture: Optimization of pre-LC-MS procedure parameters by Latin Square design. **Journal of Chromatography B**. Vol. 1080, pag. 64-70, March, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.02.012>. Acesso em: 19/11/2021.
- [32] SHARIF, K., RAHMAN, M., ZAIDUL, I., JANNATUL, J., AKANDA, M., MOHAMED, A., SAMSUDIN, S. Pharmacological Relevance of Primitive Leafy Cactuses *Pereskia*. **Research Journal of Biotechnology**, v. 8, c. 12, 2013.
- [33] SHARMA, N.; TIWARI, N.; VYAS, M.; KHURANA, N.; MUTHURAMAN, A.; UTREJA, P. An overview of therapeutic effects of vanillic acid. **Plant Archives**, 20, Suppl 2, p. 3053-3059, 2020.
- [34] SOUZA, L., CAPUTO, L., BARROS, I., FRATIANNI, F., NAZZARO, F., FEO, V. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) leaves: Chemical composition and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 9, p. 1–12, 2016.
- [35] SOUZA, M., PEREIRA, P., PEREIRA, R., BARBOSA, I., PEREIRA, M. Protein yield and mineral contents in *Pereskia aculeata* under high-density planting system. **Pesqui. Agropecuária Tropical**, v. 50, Artigo e62365, 2020. [10.1590/1983-40632020v50e62365](https://doi.org/10.1590/1983-40632020v50e62365), eISSN 1983-4063.
- [36] SILVA, D.; SEIFERT, M.; NORA, F.; BOBROSKI, V.; FREITAG, R.; KUCERA, H.; NORA, L.; GAIKWAD, N. Acute toxicity and cytotoxicity of *Pereskia aculeata* a highly nutritious cactaceae plant. **J of Med Food**, v. 20, c. 4, p.1-7, 2017.
- [37] SILVA, D.; SEIFERT, M.; SCHIEDECK, G.; DODE, J.; NORA, L. Phenological and physicochemical properties of *Pereskia aculeata* during cultivation in south Brazil. **Horticultura Brasileira**, v. 36, p. 325–329, 2018.
- [38] SILVA, A.; SPRICIGO, P.; FREITAS, T.; ACIOLY, T.; ALENCAR, S.; JACOMINO, A. Ripe Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* miller) fruits express high contents of bioactive compounds and antioxidant capacity. **Revista Brasileira de Fruticultura**, c. 40, v. 3, e-749, 2018. doi: 10.1590/0100-29452018749.
- [39] SONG, L. et al. Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (SONG, L. et al. Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) leaves and associated biological activities and flavonoid compositions. **Industrial Crops and Products**. Vol. 139, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111508>. Acesso em: 19/11/2021.
- [40] SOUSA, R.; LIRA, C.; RODRIGUES, A.; MORAIS, S.; QUEIROZ, C.; CHANG, R.; AQUINO, F.; MUNOZ, R.; OLIVEIRA, A. Antioxidant activity of Ora-Pro-Nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) leaves extracts using spectrophotometric and voltammetric assays in vitro. **Bioscience Journal**, c. 30, v. 1, p. 448–457, 2014.

- [41] SOUZA, T. Perfil de compostos fenólicos extraídos de folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) [dissertação]. **Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas**, p. 69, 2014.
- [42] SOUZA, L.; CAPUTO, L.; INCHAUSTI, B.; FRATIANNI, F.; NAZZARO, F.; DE FEO, V. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **Internation Journal of Molecular Science**, v. 17, n. 9, p. 478, 2016.
- [43] SOUZA, M., PEREIRA, P., PEREIRA, R., BARBOSA, I., PEREIRA, M. Protein yield and mineral contents in *Pereskia aculeata* under high-density planting system. **Pesqui. Agropecuária Tropical**, v. 50, Artigo e62365, 2020. [10.1590/1983-40632020v5062365](https://doi.org/10.1590/1983-40632020v5062365), eISSN 1983-4063.
- [44] SUCUPIRA, N.; SILVA, A.; PEREIRA, G.; COSTA, J. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012
- [45] TAKEITI, C., ANTONIO, G., MOTTA, E., COLARES-QUEIROZ, P., PARK, K. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, p.148–160, 2009. <https://doi.org/10.1080/09637480802534509>
- [46] TIWARI, P. KUMAR, B., KAUR, M., KAUR, G., KAUR, H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v.1, n.1, p.98-106, 2011.
- [47] TORRES, T., MAZZUTTI, S., CASTIANI, M., SIDDIQUE, I., VITALI, L., FERREIRA, S. Phenolic compounds recovered from ora-pro-nobis leaves by microwave assisted extraction. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 39, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102238>
- [48] TAVIANO, M.; RASHED, K.; FILOCAMO, A.; CACCIOLA, F.; DUGO, P.; MONDELLO, L, BISIGNANO, C.; ACQUAVIVA, R.; DÁRRIGO, M.; MICELI, N. Phenolic profile and biological properties of the leaves of *Ficus vasta* Forssk. (Moraceae) growing in Egypt. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 18, n. 161, 2018. doi: 10.1186/s12906-018-2210-0.
- [49] VERA-RAMIREZ, L.; SANCHEZ-ROVIRA, P.; RAMIREZ-TORTOSA, M. C.; RAMIREZ-TORTOSA, C. L.; GRANADOS-PRINCIPAL, S.; LORENTE, J. A.; QUILES, J. L. Free radicals in breast carcinogenesis, breast cancer progression and cancer stem cells. Biological bases to develop oxidative-based therapies. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 80, n. 3, p. 347-368, 2011.
- [50] MIRANDA, M. O potencial da Ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 4, n. 2, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em 20/09/2020.

- [51] ADAMS, R. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4th ed. **Allured Publishing Corporation**. Illinois, USA, 2012.
- [52] JESUS, I.; NOGUEIRA, F.; FONSECA, A. Redução de compostos carbonílicos: os talos de mamoeiro (*Carica papaya*) como reagente biocatalisador. **Scientia Plena**. V. 9, n. 7, p. 4, 2013. Disponível em: <https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/1528/823>. Acesso em 10/10/2020.
- [53] GOREN, A.; TOPÇU, G.; BILSEL, M.; AYDOGMUS, Z.; PEZZUTO, J. The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, c. 9-10, p. 797- 800, 2002. Available in: <https://doi.org/10.1515/znc-2002-9-1007>.
- [54] ZHAN-WU, S.; WEI-HONG, M.; JIN-HE, G.; YANG, B.; WEI-MIN, Z.; HUA-TING, D.; ZHI-QIANG, J. Antioxidant properties of banana flower of two cultivars in China using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH,) reducing power, 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6- sulphonate (ABTS) and inhibition of lipid peroxidation assays. **African Journal of Biotechnology**. V. 10(21), p. 4470-4477, 2011. DOI: 10.5897/AJB10.1659
- [55] ABI-ZAID, I.; RICAHI, L.; DEMARIA, C; MOREIRA, R. Investigation of volatile fraction of chamomile (*Matriaria recutita* L.) infusions prepared from Brazilian commercial sachets. **International Food Research Journal**, v. 22, ed. 5, p.2133-40, 2015.
- [56] RAJKUMAR, S.; KUMAR, S. Mieloma múltiplo: Diagnóstico e Tratamento. **Mayo Clin Proced**, v. 91, c. 1, p. 101-19, 2016. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.11.007.
- [57] SÁNCHEZ-RANGEL, J.; BENAVIDES, J.; HEREDIA, J.; CISNEROS-ZEVALLOS, JACOBO-VELASQUEZ, D. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. **The Royal Society of Chemistry, Anal meth**, v. 5, p. 5990-99, 2013.
- [58]. RODRIGUES, S; MARINELLI, P.; OTOBONI, A.; TANAKA, A.; OLIVEIRA, A. Caracterização química e nutricional da farinha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller). **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAEF**. 2015. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/9w5WLNyeuBN8Ro2_2015-1-26-16-10-54.pdf. Acesso em 12/10/2020.
- [59] DA SILVA. Micronização de partículas de levotiroxina sódica e chalconas usando CO₂ como antisolvente supercrítico. Dissertação de Mestrado. UFBA, 2016.
- [60] MORAES, T.; MONTENEGRO, J.; MARQUES, T.; EVANGELISTA, L.; ROCHA, C; TEODORO, A.; KATO, L.; MOREIRA, R. Phytochemical profile and antioxidant activity of flowers and fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Scientia Plena**, v. 17, n. 5, 2021. doi: 10.14808/sci.plena.2021.051503
- [61] LINDSTROM, P., MALLARD, W. Chemistry WebBook. in: NIST Standard Reference Database Number 69, **National Institute of Standards and Technology**, 2021 Gaithersburg MD 20899. <https://doi.org/10.18434/T4D303>.
- [61] RHETT, J.; CLARK.; AGHAJAMALI, M.; GONZALEZ, C, HADITI, L, ISLAM, M.; JAVADI, M.; MOBAROK, H.; †PURKAIT, T.; ROBIDILLO, T.; SINELNIKOV, R.; THIESSEN, A.; WASHINGTON, J.; YU, H; VEINOT, J. From Hydrogen Silsesquioxane to

Functionalized Silicon Nanocrystals. **Chem. Mater**, v. 29, p. 80-89, 2017. DOI: 10.1021/acs.chemmater.6b02667

9. NORMAS DO ARTIGO 3

JOURNAL OF SUPERCRITICAL FLUIDS

O Journal of Supercritical Fluids é um periódico internacional dedicado aos aspectos fundamentais e aplicados de fluidos e processos supercríticos. Seu objetivo é fornecer uma plataforma focada para pesquisadores acadêmicos e industriais relatarem suas descobertas e terem acesso imediato aos avanços neste campo em rápido crescimento. Sua cobertura é multidisciplinar e inclui tópicos básicos e aplicados.

Termodinâmica e equilíbrio de fases, cinética de reação e processos de taxa, propriedades térmicas e de transporte, e todos os tópicos relacionados ao processamento, como separações (extração, fracionamento, purificação, cromatografia), nucleação e impregnação estão dentro do escopo. Contas de aplicações de engenharia específicas, como as encontradas em alimentos, combustíveis, produtos naturais, minerais, produtos farmacêuticos e indústrias de polímeros estão incluídas. Tópicos relacionados ao projeto de equipamentos de alta pressão, técnicas analíticas, sensores e metodologias de controle de processos também estão no escopo da revista. A revista publica contribuições originais em todos os aspectos teóricos e experimentais da ciência e tecnologia de fluidos e processos supercríticos. Artigos que descrevem instrumentação nova, novas metodologias e técnicas experimentais,

Tipos de

Artigos • Artigos de pesquisa

- Revisões de temas especializados no âmbito da revista

As contribuições são aceitas no entendimento de que os autores obtiveram a autoridade necessária para publicação. A submissão de um artigo deve ser acompanhada de uma declaração de que o artigo é original e inédito e não está sendo considerado para publicação em outro lugar.

Os autores que consideram um artigo de revisão devem consultar um dos Editores antes da submissão e fornecer um esboço e uma justificativa para a necessidade da revisão.

Os manuscritos não devem exceder 6.000 palavras para artigos de pesquisa e 15.000 palavras para artigos de revisão. Apenas artigos de revisão devem conter um índice.

Lista de verificação de submissão

Você pode usar esta lista para realizar uma verificação final de sua submissão antes de enviá-la à revista para revisão. Por favor, verifique a seção relevante neste Guia para Autores para mais detalhes.

Certifique-se de que os seguintes itens estejam presentes:

Um autor foi designado como autor correspondente com detalhes de contato:

- Endereço de e-mail
- Endereço postal completo

Todos os arquivos necessários foram carregados:

Manuscrito:

- Incluir palavras-chave
- Todas as figuras (incluindo legendas relevantes)
- Todas as tabelas (incluindo títulos, descrição, notas de rodapé)
- Certifique-se de que todas as citações de figuras e tabelas no texto correspondem aos arquivos fornecidos
- Indique claramente se a cor deve ser usado para quaisquer figuras impressas Arquivos de *Resumos / Destaques Gráficos* (quando aplicável)
- Arquivos Suplementares* (quando aplicável)

Considerações adicionais

- O manuscrito foi 'verificado ortográfico' e 'verificado gramatical'
- Todas as referências mencionadas na Lista de Referências são citadas no texto e vice-versa
- Foi obtida permissão para uso de material protegido por direitos autorais de outras fontes (incluindo a Internet)
- Uma declaração de interesses conflitantes é fornecida, mesmo que os autores não tenham interesses conflitantes a declarar
- As políticas do periódico detalhadas neste guia foram revisadas
- Sugestões de árbitros e detalhes de contato fornecidos, com base nos requisitos do periódico

Ética na publicação

Consulte nossas informações sobre Ética na publicação .

Declaração de interesse concorrente

Os autores correspondentes, em nome de todos os autores de uma submissão, devem divulgar quaisquer relações financeiras e pessoais com outras pessoas ou organizações que possam influenciar de forma inadequada (viés) seu trabalho. Exemplos de potenciais conflitos de interesse incluem emprego, consultorias, propriedade de ações, honorários, testemunho de especialistas pagos, pedidos/registros de patentes e subsídios ou outros financiamentos. Todos os autores, inclusive aqueles *sem* interesses conflitantes a declarar, devem fornecer as informações relevantes ao autor correspondente (que, se for o caso, pode especificar que não têm nada a declarar). Os autores correspondentes devem então usar esta ferramenta para criar uma declaração compartilhada e fazer upload para o sistema de envio na etapa Anexar arquivos. **Por favor, não converta o modelo .docx para outro tipo de arquivo. As assinaturas dos autores não são obrigatórias.**

Declaração

de submissão A submissão de um artigo implica que o trabalho descrito não foi publicado anteriormente (exceto na forma de resumo, palestra publicada ou tese acadêmica, veja 'Publicação múltipla, redundante ou concorrente' para mais informações), que não é sob

consideração para publicação em outro lugar, que sua publicação seja aprovada por todos os autores e tácita ou explicitamente pelas autoridades responsáveis onde o trabalho foi realizado, e que, se aceito, não será publicado em outro lugar da mesma forma, em inglês ou em qualquer outro idioma, inclusive eletronicamente sem o consentimento por escrito do detentor dos direitos autorais.

Declaração de submissão e verificação

A submissão de um artigo implica que o trabalho descrito não tenha sido publicado anteriormente, exceto na forma de resumo ou como parte de uma palestra ou tese acadêmica publicada; que não está sendo considerado para publicação em outro lugar; que sua publicação seja aprovada por todos os autores e tácita ou explicitamente pelas autoridades responsáveis onde o trabalho foi realizado; e que, se aceito, não será publicado em outro lugar da mesma forma, em inglês ou em qualquer outro idioma, inclusive eletronicamente sem o consentimento por escrito do detentor dos direitos autorais. Em um esforço para manter o mais alto nível de ética científica e editorial, uma variedade de software pode ser usada para autenticar o conteúdo do manuscrito, de modo que qualquer uso ou publicação anterior seja uma violação direta da política da revista. Veja também <https://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

Preprints

Observe que os preprints podem ser compartilhados em qualquer lugar a qualquer momento, de acordo com a política de compartilhamento da Elsevier. Compartilhar seus preprints, por exemplo, em um servidor de preprints, não contará como publicação anterior (consulte 'Publicação múltipla, redundante ou simultânea' para obter mais informações).

Uso de linguagem inclusiva

A linguagem inclusiva reconhece a diversidade, transmite respeito a todas as pessoas, é sensível às diferenças e promove a igualdade de oportunidades. O conteúdo não deve fazer suposições sobre as crenças ou compromissos de qualquer leitor; não conter nada que possa implicar que um indivíduo seja superior a outro em razão de idade, sexo, raça, etnia, cultura, orientação sexual, deficiência ou condição de saúde; e usar uma linguagem inclusiva por toda parte. Os autores devem garantir que a escrita esteja livre de preconceitos, estereótipos, gírias, referências à cultura dominante e/ou suposições culturais. Aconselhamos buscar a neutralidade de gênero usando substantivos plurais ("clínicos, pacientes/clientes") como padrão/sempre que possível para evitar o uso de "ele, ela" ou "ele/ela". Recomendamos evitar o uso de descritores que se referem a atributos pessoais como idade, gênero, raça, etnia, cultura, orientação sexual, deficiência ou condição de saúde, a menos que sejam relevantes e válidos. Quando a terminologia de codificação é usada, recomendamos evitar termos ofensivos ou excludentes, como "mestre", "escravo", "lista negra" e "lista branca". Sugerimos o uso de alternativas mais apropriadas e (auto) explicativas, como "primário", "secundário", "lista de bloqueio" e "lista de permissões". Essas diretrizes são um ponto de referência para ajudar a identificar a linguagem apropriada, mas não são de forma alguma exaustivas ou definitivas. "escravo", "lista negra" e "lista branca". Sugerimos o uso de alternativas mais apropriadas e (auto) explicativas, como "primário", "secundário", "lista de bloqueio" e "lista de permissões". Essas diretrizes são um ponto de referência para ajudar a identificar a linguagem apropriada, mas não são de forma

alguma exaustivas ou definitivas. "escravo", "lista negra" e "lista branca". Sugerimos o uso de alternativas mais apropriadas e (auto) explicativas, como "primário", "secundário", "lista de bloqueio" e "lista de permissões". Essas diretrizes são um ponto de referência para ajudar a identificar a linguagem apropriada, mas não são de forma alguma exaustivas ou definitivas.

Mudanças na autoria

Espera-se que os autores considerem cuidadosamente a lista e a ordem dos autores **antes** de enviar seu manuscrito e forneçam a lista definitiva de autores no momento da submissão original. Qualquer adição, exclusão ou rearranjo de nomes de autores na lista de autoria deve ser feita somente **antes** do manuscrito ser aceito e somente se aprovado pelo Editor da revista. Para solicitar tal alteração, o Editor deve receber do **autor correspondente**: (a) o motivo da mudança na lista de autores e (b) confirmação por escrito (e-mail, carta) de todos os autores de que concordam com a adição, remoção ou reorganização. No caso de adição ou remoção de autores, isso inclui a confirmação do autor que está sendo adicionado ou removido. Somente em circunstâncias excepcionais o Editor considerará a adição, exclusão ou reorganização de autores **após** a aceitação do manuscrito. Enquanto o Editor considerar a solicitação, a publicação do manuscrito será suspensa. Caso o manuscrito já tenha sido publicado em edição online, quaisquer solicitações aprovadas pelo Editor resultarão em retificação.

Copyright

Após a aceitação de um artigo, os autores serão solicitados a preencher um 'Acordo de Publicação de Revista' (veja mais informações sobre isso). Um e-mail será enviado ao autor correspondente confirmando o recebimento do manuscrito juntamente com um formulário de 'Contrato de Publicação em Revista' ou um link para a versão online deste contrato.

Os assinantes podem reproduzir índices ou preparar listas de artigos incluindo resumos para circulação interna em suas instituições. É necessária a permissão do Editor para revenda ou distribuição fora da instituição e para todos os outros trabalhos derivados, incluindo compilações e traduções. Se forem incluídos trechos de outros trabalhos protegidos por direitos autorais, o(s) autor(es) deve(m) obter permissão por escrito dos proprietários dos direitos autorais e creditar a(s) fonte(s) no artigo. A Elsevier tem formulários pré -impressos para uso dos autores nesses casos.

Para artigos de acesso aberto gold: Após a aceitação de um artigo, os autores serão solicitados a preencher um 'Contrato de Licença' (mais informações). A reutilização permitida de artigos de acesso aberto de ouro por terceiros é determinada pela escolha da licença de usuário do autor .

Direitos

autorais

Como autor, você (ou seu empregador ou instituição) tem certos direitos para reutilizar seu trabalho. Mais informações .

A Elsevier apoia

o compartilhamento responsável Descubra como você pode compartilhar suas pesquisas publicadas nos periódicos da Elsevier.

Papel da fonte de financiamento

Você deve identificar quem forneceu apoio financeiro para a realização da pesquisa e/ou preparação do artigo e descrever brevemente o papel do(s) patrocinador(es), se houver, no desenho do estudo; na coleta, análise e interpretação dos dados; na redação do relatório; e na decisão de submeter o artigo para publicação. Se a(s) fonte(s) de financiamento não tiveram tal envolvimento, isso deve ser declarado.

Idioma (serviços de uso e edição)

Por favor, escreva seu texto em bom inglês (o uso americano ou britânico é aceito, mas não uma mistura destes). Os autores que acharem que seu manuscrito em inglês pode exigir edição para eliminar possíveis erros gramaticais ou ortográficos e para se adequar ao inglês científico correto podem desejar usar o serviço de edição de idioma inglês disponível nos Serviços de Autor da Elsevier.

Submissão A

submissão a esta revista é feita totalmente online. Use as seguintes diretrizes para preparar seu artigo. Através da homepage desta revista (<https://www.editorialmanager.com/SUPFLU/default.aspx>) você será guiado passo a passo pela criação e upload dos vários arquivos. O sistema converte automaticamente os arquivos de origem em uma única versão Adobe Acrobat PDF do artigo, que é usada no processo de revisão por pares. Observe que, embora os arquivos de origem do manuscrito sejam convertidos em PDF no envio para o processo de revisão, esses arquivos de origem são necessários para processamento adicional após a aceitação. Toda a correspondência, incluindo a notificação da decisão do Editor e os pedidos de revisão, ocorre por e-mail e pela homepage do autor, dispensando a necessidade de uma cópia impressa.

Seções

Fornecer uma 'Seção' é obrigatório para esta revista. Por favor, selecione uma 'Seção' que seja relevante para o seu manuscrito no menu suspenso fornecido no sistema no momento da submissão.

Revisores

Favor enviar, juntamente com o manuscrito, os nomes e endereços de e-mail de 5 possíveis revisores conhecedores do assunto da pesquisa. Observe que o editor detém o direito exclusivo de decidir se os revisores sugeridos serão usados ou não.

Dúvidas

Para dúvidas sobre o processo editorial (incluindo o status dos manuscritos em revisão) ou para suporte técnico nas submissões, visite nosso Centro de Suporte .

Revisão por pares

Esta revista opera um único processo de revisão anônima. Todas as contribuições serão inicialmente avaliadas pelo editor para adequação à revista. Os artigos considerados adequados são normalmente enviados a um mínimo de dois revisores especialistas independentes para avaliar a qualidade científica do artigo. O Editor é responsável pela decisão final quanto à aceitação ou rejeição dos artigos. A decisão do Editor é final. Os editores não estão envolvidos em decisões sobre artigos que eles mesmos escreveram ou que foram escritos por familiares ou colegas ou que se relacionam a produtos ou serviços nos quais o editor tem interesse. Qualquer submissão desse tipo está sujeita a todos os procedimentos usuais da revista, com revisão por pares tratada independentemente do editor relevante e seus grupos de pesquisa. Mais informações sobre os tipos de revisão por pares .

Estrutura do Artigo

Todos os manuscritos devem ser submetidos em formato de linha em espaço duplo. Isso se aplica a todos os textos, tabelas, legendas de figuras e referências.

Subdivisão - seções numeradas

Divida seu artigo em seções claramente definidas e numeradas. As subseções devem ser numeradas 1.1 (depois 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (o resumo não está incluído na numeração das seções). Use esta numeração também para referências cruzadas internas: não se refira apenas ao 'texto'. Qualquer subseção pode receber um breve título. Cada título deve aparecer em sua própria linha separada.

Introdução

Declare os objetivos do trabalho e forneça uma base adequada, evitando um levantamento detalhado da literatura ou um resumo dos resultados.

Material e métodos

Fornecer detalhes suficientes para permitir que o trabalho seja reproduzido por um pesquisador independente. Os métodos já publicados devem ser resumidos e indicados por uma referência. Se citar diretamente de um método publicado anteriormente, use aspas e também cite a fonte. Quaisquer modificações nos métodos existentes também devem ser descritas.

Resultados

Os resultados devem ser claros e concisos.

Discussão

Deve explorar o significado dos resultados do trabalho, não repeti-los. Uma seção combinada de Resultados e Discussão geralmente é apropriada. Evite citações extensas e discussão da literatura publicada.

Conclusões

As principais conclusões do estudo podem ser apresentadas em uma breve seção de Conclusões, que pode ser isolada ou formar uma subseção de uma seção de Discussão ou Resultados e Discussão.

Apêndices

Se houver mais de um apêndice, eles devem ser identificados como A, B, etc. As fórmulas e equações nos apêndices devem ser numeradas separadamente: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; em um apêndice subsequente, a Eq. (B.1) e assim por diante. Da mesma forma para tabelas e figuras: Tabela A.1; Fig. A.1, etc.

Informações essenciais da página de título

- **Título.** Conciso e informativo. Os títulos são frequentemente usados em sistemas de recuperação de informações. Evite abreviações e fórmulas sempre que possível.
- **Nomes e afiliações dos autores.** Por favor, indique claramente o(s) nome(s) e sobrenome(s) de cada autor e verifique se todos os nomes estão escritos com precisão. Você pode adicionar seu nome entre parênteses em seu próprio script por trás da transliteração em inglês. Apresente os endereços de afiliação dos autores (onde o trabalho real foi feito) abaixo dos nomes. Indique todas as afiliações com letra minúscula sobrescrita imediatamente após o nome do autor e na frente do endereço apropriado. Forneça o endereço postal completo de cada afiliação, incluindo o nome do país e, se disponível, o endereço de e-mail de cada autor.
- **Autor correspondente.** Indique claramente quem irá lidar com a correspondência em todas as fases de arbitragem e publicação, também pós-publicação. Essa responsabilidade inclui responder a quaisquer dúvidas futuras sobre Metodologia e Materiais. **Certifique-se de que o endereço de e-mail seja fornecido e que os detalhes de contato sejam mantidos atualizados pelo autor correspondente.**
- **Endereço atual/permanente.** Se um autor se mudou desde que o trabalho descrito no artigo foi feito, ou estava visitando no momento, um 'Endereço atual' (ou 'Endereço permanente') pode ser indicado como uma nota de rodapé ao nome desse autor. O endereço em que o autor realmente fez o trabalho deve ser mantido como o endereço principal de afiliação. Números arábicos sobrescritos são usados para essas notas de rodapé.

Destaques

Os

destaques são obrigatórios para esta revista, pois ajudam a aumentar a descoberta de seu artigo por meio de mecanismos de pesquisa. Eles consistem em uma pequena coleção de marcadores que capturam os novos resultados de sua pesquisa, bem como novos métodos que foram usados durante o estudo (se houver). Por favor, dê uma olhada nos exemplos aqui: exemplo Destaques .

Os destaques devem ser enviados em um arquivo editável separado no sistema de submissão online. Por favor, use 'Destaques' no nome do arquivo e inclua de 3 a 5 marcadores (máximo de 85 caracteres, incluindo espaços, por marcador).

Resumo

Cada manuscrito deve incluir um resumo de cerca de 100-150 palavras, relatando de forma concisa o objetivo e os resultados do artigo. Um resumo é muitas vezes apresentado separado do artigo, por isso deve ser independente. Por esta razão, as Referências devem ser evitadas,

mas se essenciais, devem ser citadas na íntegra, sem referência à lista de referências. Além disso, abreviaturas não padronizadas ou incomuns devem ser evitadas, mas, se essenciais, devem ser definidas na primeira menção no próprio resumo.

Resumo gráfico Um resumo

gráfico é obrigatório para esta revista. Ele deve resumir o conteúdo do artigo de forma concisa e pictórica projetada para capturar a atenção de um amplo público online. Os autores devem fornecer imagens que representem claramente o trabalho descrito no artigo. Os resumos gráficos devem ser enviados como um arquivo separado no sistema de submissão online. Tamanho da imagem: forneça uma imagem com um mínimo de 531×1328 pixels (h \times w) ou proporcionalmente mais. A imagem deve ser legível em um tamanho de 5×13 cm usando uma resolução de tela regular de 96 dpi. Tipos de arquivo preferidos: arquivos TIFF, EPS, PDF ou MS Office. Você pode ver exemplos de resumos gráficos em nosso site de informações. Os autores podem usar os Serviços de Ilustração da Elsevier para garantir a melhor apresentação de suas imagens também de acordo com todos os requisitos técnicos.

Palavras

-chave Imediatamente após o resumo, forneça no máximo 6 palavras-chave, usando a ortografia americana e evitando termos gerais e plurais e conceitos múltiplos (evite, por exemplo, "e", "de"). Seja poupado com abreviaturas: apenas as abreviaturas firmemente estabelecidas no campo podem ser elegíveis. Essas palavras-chave serão usadas para fins de indexação. As palavras-chave devem ser selecionadas, se apropriado, das seguintes classes: métodos teóricos, métodos experimentais, fenômenos, materiais e aplicações.

Abreviaturas

Defina as abreviaturas que não são padrão neste campo em uma nota de rodapé a ser colocada na primeira página do artigo. As abreviaturas inevitáveis no resumo devem ser definidas na primeira menção, bem como na nota de rodapé. Garanta a consistência das abreviaturas ao longo do artigo.

Agradecimentos

Agrupe os agradecimentos em uma seção separada no final do artigo antes das referências e, portanto, não os inclua na página de rosto, como nota de rodapé ao título ou de outra forma. Liste aqui aqueles indivíduos que forneceram ajuda durante a pesquisa (por exemplo, fornecendo ajuda linguística, assistência na redação ou revisão do artigo, etc.).

Formatação das fontes de financiamento

Liste as fontes de financiamento desta forma padrão para facilitar o cumprimento dos requisitos do financiador:

Financiamento: Este trabalho foi financiado pelos Institutos Nacionais de Saúde [números de concessão xxxx, yyyy]; a Fundação Bill & Melinda Gates, Seattle, WA [número de concessão zzzz]; e os Institutos da Paz dos Estados Unidos [número de concessão aaaa].

Não é necessário incluir descrições detalhadas sobre o programa ou tipo de bolsas e prêmios. Quando o financiamento for de uma doação em bloco ou outros recursos disponíveis

para uma universidade, faculdade ou outra instituição de pesquisa, envie o nome do instituto ou organização que forneceu o financiamento.

Se nenhum financiamento foi fornecido para a pesquisa, inclua a seguinte frase:

Esta pesquisa não recebeu nenhuma bolsa específica de agências de financiamento nos setores público, comercial ou sem fins lucrativos.

Nomenclatura e unidades

Unidades: O sistema SI deve ser usado para todos os dados científicos e laboratoriais; se, em certos casos, for necessário citar outras unidades, estas devem ser acrescentadas entre parênteses. As temperaturas podem ser dadas em Kelvin ou graus Celsius. A unidade 'bilhão' (10^9 na América, 10^{12} na Europa) é ambígua e não deve ser usada.

Símbolos e Abreviaturas: Devem ser usados apenas símbolos e formas de abreviatura amplamente aceitos, mas sempre dê a expressão completa seguida da abreviatura na primeira vez que aparecer no texto. As abreviaturas e símbolos usados em tabelas e figuras devem ser explicados nas legendas. O número de símbolos não deve exceder 10 por manuscrito.

Notas

de rodapé As notas de rodapé devem ser usadas com moderação. Numere-os consecutivamente ao longo do artigo. Muitos processadores de texto podem incluir notas de rodapé no texto e esse recurso pode ser usado. Caso contrário, indique a posição das notas de rodapé no texto e liste as notas de rodapé separadamente no final do artigo. Não inclua notas de rodapé na lista de Referências.

Obra de arte

Arte eletrônica

Pontos gerais

- Certifique-se de usar letras e tamanhos uniformes em sua arte original.
- Incorpore as fontes usadas se o aplicativo fornecer essa opção.
- Procure usar as seguintes fontes em suas ilustrações: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol ou use fontes semelhantes.
- Numere as ilustrações de acordo com sua sequência no texto.
- Use uma convenção de nomenclatura lógica para seus arquivos de arte.
- Forneça legendas para as ilustrações separadamente.
- Dimensione as ilustrações próximas às dimensões desejadas da versão publicada.
- Envie cada ilustração como um arquivo separado.
- Assegure-se de que as imagens coloridas sejam acessíveis a todos, incluindo aqueles com visão de cores prejudicada.

Um guia detalhado sobre arte eletrônica está disponível.

Você é convidado a visitar este site; alguns trechos das informações detalhadas são fornecidos aqui.

Formatos

Se o seu trabalho artístico eletrônico for criado em um aplicativo do Microsoft Office (Word, PowerPoint, Excel), forneça 'como está' no formato de documento nativo. Independentemente do aplicativo usado que não seja o Microsoft Office, quando sua arte eletrônica for finalizada, 'Salvar como' ou converter as imagens para um dos seguintes formatos (observe os requisitos de resolução para desenhos de linha, meios-tons e combinações de linha/meio-tom fornecidos abaixo):

EPS (ou PDF): Desenhos vetoriais, incorpore todas as fontes usadas.

TIFF (ou JPEG): Fotografias coloridas ou em tons de cinza (meios-tons), mantenha no mínimo 300 dpi.

TIFF (ou JPEG): Desenhos de linha em bitmap (pixels preto e branco puros), mantenha no mínimo 1000 dpi.

TIFF (ou JPEG): Combinações bitmap de linha/meio-tom (colorido ou em tons de cinza), mantenha no mínimo 500 dpi.

Por favor, não:

- Forneça arquivos otimizados para uso em tela (por exemplo, GIF, BMP, PICT, WPG); eles normalmente têm um número baixo de pixels e um conjunto limitado de cores;
- Forneça arquivos com resolução muito baixa;
- Envie gráficos desproporcionalmente grandes para o conteúdo.

Arte colorida

Certifique-se de que os arquivos de arte estejam em um formato aceitável (TIFF (ou JPEG), EPS (ou PDF) ou arquivos do MS Office) e com a resolução correta. Se, juntamente com o artigo aceito, você enviar figuras coloridas utilizáveis, a Elsevier garantirá, sem custo adicional, que essas figuras aparecerão em cores on-line (por exemplo, ScienceDirect e outros sites), além da reprodução em cores impressa. Mais informações sobre a preparação de arte eletrônica .

Legendas das figuras

Certifique-se de que cada ilustração tenha uma legenda. Fornecer legendas separadamente, não anexadas à figura. Uma legenda deve incluir um título breve (**não** na própria figura) e uma

descrição da ilustração. Mantenha o texto nas próprias ilustrações ao mínimo, mas explique todos os símbolos e abreviaturas usados.

Tabelas

Por favor, envie as tabelas como texto editável e não como imagens. As tabelas podem ser colocadas ao lado do texto relevante no artigo ou em páginas separadas no final. Numere as tabelas consecutivamente de acordo com sua aparência no texto e coloque as notas da tabela abaixo do corpo da tabela. Seja parcimonioso no uso de tabelas e assegure-se de que os dados nelas apresentados não dupliquem os resultados descritos em outras partes do artigo. Evite usar regras verticais e sombreamento nas células da tabela.

Referências As

referências devem ser relevantes e atualizadas. As autocitações devem ser mínimas e não devem exceder 10%. **Todas as publicações citadas no texto devem ser apresentadas em uma lista de referências e vice-versa após o texto do manuscrito.** No texto referir-se às referências por um número entre colchetes na linha (por exemplo, Desde Lever [1]), e a referência completa incluindo o título deve ser dada em uma lista numérica no final do artigo. Todas as referências citadas no resumo devem ser fornecidas na íntegra. Resultados não publicados e comunicações pessoais não são recomendados na lista de referências, mas podem ser mencionados no texto. Se essas referências estiverem incluídas na lista de referências, elas devem seguir o estilo de referência padrão da revista e incluir a substituição da data de publicação por "Resultados não publicados" ou "Comunicação pessoal". A citação de uma referência como "no prelo" implica que o item foi aceito para publicação. **Todos os manuscritos devem aderir consistentemente ao Estilo de Referência, conforme descrito abaixo.**

Referências de dados

Esta revista encoraja você a citar conjuntos de dados subjacentes ou relevantes em seu manuscrito, citando-os em seu texto e incluindo uma referência de dados em sua Lista de Referências. As referências de dados devem incluir os seguintes elementos: nome(s) do(s) autor(es), título do conjunto de dados, repositório de dados, versão (quando disponível), ano e identificador global persistente. Adicione [dataset] imediatamente antes da referência para que possamos identificá-lo corretamente como uma referência de dados. O identificador [conjunto de dados] não aparecerá em seu artigo publicado.

Software de gerenciamento de referência

A maioria dos periódicos da Elsevier tem seu modelo de referência disponível em muitos dos produtos de software de gerenciamento de referência mais populares. Isso inclui todos os produtos que suportam estilos de linguagem de estilo de citação, como Mendeley. Usando plug-ins de citação desses produtos, os autores só precisam selecionar o modelo de revista apropriado ao preparar seu artigo, após o qual as citações e bibliografias serão formatadas automaticamente no estilo da revista. Se nenhum modelo ainda estiver disponível para esta revista, siga o formato das referências e citações de amostra conforme mostrado neste Guia. Se você usa software de gerenciamento de referências, certifique-se de remover todos os códigos de campo antes de enviar o manuscrito eletrônico. Mais informações sobre como remover códigos de campo de diferentes softwares de gerenciamento de referência.

Texto de *estilo de referência* : Indique as referências por número(s) entre colchetes de acordo com o texto. Os autores reais podem ser referidos, mas o(s) número(s) de referência deve(m) ser sempre indicado(s).

Exemplo: '..... como demonstrado [3,6]. Barnaby e Jones [8] obtiveram um resultado diferente...'

Lista: Numere as referências (números entre colchetes) na lista na ordem em que aparecem no texto.

Exemplos:

Referência a uma publicação de periódico: *As referências a artigos de periódicos devem incluir os números DOI.*

[1] J. van der Geer, JAJ Hanraads, RA Lupton, A arte de escrever um artigo científico, J. Sci. Comum. 163 (2010) 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Referência a uma publicação de periódico com número de artigo:

[2] J. van der Geer, JAJ Hanraads, RA Lupton, 2018. A arte de escrever um artigo científico. Helião. 19, e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>.

Referência a um livro:

[3] W. Strunk Jr., EB White, The Elements of Style, quarta ed., Longman, Nova York, 2000.

Referência a um capítulo em um livro editado:

[4] GR Mettam, LB Adams , Como preparar uma versão eletrônica de seu artigo, em: BS Jones, RZ Smith (Eds.), Introdução à Era Eletrônica, E-Publishing Inc., Nova York, 2009, pp. 281–304.

Referência a um site:

[5] Cancer Research UK, relatórios de estatísticas de câncer para o Reino Unido. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>, 2003 (acessado em 13 de março de 2003).

Referência a um conjunto de dados:

[conjunto de dados] [6] M. Oguro, S. Imahiro, S. Saito, T. Nakashizuka, Dados de mortalidade para a doença da murcha do carvalho japonês e composições da floresta circundante, Mendeley Data, v1, 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Referência ao software:

[7] E. Coon, M. Berndt, A. Jan, D. Svyatsky, A. Atchley, E. Kikinzon, D. Harp, G. Manzini, E. Shelef, K. Lipnikov, R. Garimella , C. Xu, D. Moulton, S. Karra, S. Painter, E. Jafarov, S.

Molins, Simulador Terrestre Avançado (ATS) v0.88 (Versão 0.88), Zenodo, 25 de março de 2020. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3727209>.

Vídeo

A Elsevier aceita material de vídeo e sequências de animação para apoiar e aprimorar sua pesquisa científica. Os autores que possuem arquivos de vídeo ou animação que desejam enviar com seu artigo são fortemente encorajados a incluir links para eles no corpo do artigo. Isso pode ser feito da mesma forma que uma figura ou tabela, referindo-se ao conteúdo do vídeo ou da animação e anotando no corpo do texto onde deve ser colocado. Todos os arquivos enviados devem ser devidamente rotulados para que estejam diretamente relacionados ao conteúdo do arquivo de vídeo. Para garantir que seu vídeo ou material de animação seja diretamente utilizável, forneça o arquivo em um de nossos formatos de arquivo recomendados com um tamanho máximo preferencial de 150 MB por arquivo, 1 GB no total. ScienceDirect . Por favor, forneça 'stills' com seus arquivos: você pode escolher qualquer quadro do vídeo ou animação ou fazer uma imagem separada. Eles serão usados em vez de ícones padrão e personalizarão o link para seus dados de vídeo. Para obter instruções mais detalhadas, visite nossas páginas de instruções em vídeo . Nota: uma vez que o vídeo e a animação não podem ser incorporados na versão impressa da revista, forneça texto para a versão eletrônica e impressa para as partes do artigo que se referem a este conteúdo.

Visualização de dados Inclua visualizações

interativas de dados em sua publicação e permita que seus leitores interajam e se envolvam mais de perto com sua pesquisa. Siga as instruções aqui para saber mais sobre as opções de visualização de dados disponíveis e como incluí-las em seu artigo.

Material

complementar Material complementar, como aplicativos, imagens e clipes de som, pode publicado com seu artigo para melhorá-lo. Os itens suplementares enviados são publicados exatamente como são recebidos (os arquivos do Excel ou do PowerPoint aparecerão como tal online). Envie seu material junto com o artigo e forneça uma legenda concisa e descritiva para cada arquivo suplementar. Se você deseja fazer alterações em material complementar durante qualquer etapa do processo, certifique-se de fornecer um arquivo atualizado. Não anote quaisquer correções em uma versão anterior. Desative a opção 'Rastrear alterações' nos arquivos do Microsoft Office, pois eles aparecerão na versão publicada.

Dados de pesquisa

Esta revista incentiva e permite que você compartilhe dados que apoiem sua publicação de pesquisa, quando apropriado, e permite que você interligue os dados com seus artigos publicados. Dados de pesquisa referem-se aos resultados de observações ou experimentação que validam os resultados da pesquisa. Para facilitar a reprodutibilidade e a reutilização de dados, esta revista também incentiva você a compartilhar seu software, código, modelos, algoritmos, protocolos, métodos e outros materiais úteis relacionados ao projeto.

Abaixo estão algumas maneiras pelas quais você pode associar dados ao seu artigo ou fazer uma declaração sobre a disponibilidade de seus dados ao enviar seu manuscrito. Se você estiver compartilhando dados de uma dessas maneiras, é recomendável citar os dados em seu

manuscrito e na lista de referências. Consulte a seção "Referências" para obter mais informações sobre citação de dados. Para obter mais informações sobre como depositar, compartilhar e usar dados de pesquisa e outros materiais de pesquisa relevantes, visite a página de dados de pesquisa .

Vinculação de dados

Se você disponibilizou seus dados de pesquisa em um repositório de dados, pode vincular seu artigo diretamente ao conjunto de dados. A Elsevier colabora com vários repositórios para vincular artigos no ScienceDirect a repositórios relevantes, dando aos leitores acesso a dados subjacentes que lhes dão uma melhor compreensão da pesquisa descrita.

Existem diferentes maneiras de vincular seus conjuntos de dados ao seu artigo. Quando disponível, você pode vincular diretamente seu conjunto de dados ao seu artigo fornecendo as informações relevantes no sistema de submissão. Para obter mais informações, visite a página de vinculação do banco de dados .

Para repositórios de dados suportados, um banner de repositório aparecerá automaticamente ao lado de seu artigo publicado no ScienceDirect.

Além disso, você pode vincular dados ou entidades relevantes por meio de identificadores no texto de seu manuscrito, usando o seguinte formato: Banco de dados: xxxx (por exemplo, TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

Este periódico suporta Mendeley Data, permitindo que você deposite quaisquer dados de pesquisa (incluindo dados brutos e processados, vídeo, código, software, algoritmos, protocolos e métodos) associados ao seu manuscrito em um repositório de acesso aberto e gratuito . Durante o processo de submissão, após o upload de seu manuscrito, você terá a oportunidade de fazer upload de seus conjuntos de dados relevantes diretamente para *Mendeley Data* . Os conjuntos de dados serão listados e diretamente acessíveis aos leitores ao lado do seu artigo publicado online.

Para obter mais informações, visite a página Mendeley Data for journals .

Dados em resumo

Você tem a opção de converter uma ou todas as partes de seus dados brutos suplementares ou adicionais em um artigo de dados publicado em *Dados em resumo* . Um artigo de dados é um novo tipo de artigo que garante que seus dados sejam ativamente revisados, organizados, formatados, indexados, recebam um DOI e sejam disponibilizados publicamente para todos após a publicação (assista a este vídeo que descreve os benefícios de publicar seus dados em *Data in Brief*). Você é encorajado a enviar seu artigo de dados para *Data in Brief* como um item adicional diretamente ao lado da versão revisada de seu manuscrito. Se seu artigo de pesquisa for aceito, seu artigo de dados será automaticamente transferido para *Data in Brief* onde será revisado editorialmente, publicado em acesso aberto e vinculado ao seu artigo de pesquisa no ScienceDirect. Observe que uma taxa de acesso aberto é paga para publicação

em *Data in Brief*. Detalhes completos podem ser encontrados no site *Data in Brief*. Use este modelo para escrever seu artigo de dados *Dados em resumo*.

MethodosX

Você tem a opção de converter protocolos e métodos relevantes em um ou vários artigos *MethodosX*, um novo tipo de artigo que descreve os detalhes de métodos de pesquisa personalizados. Muitos pesquisadores gastam uma quantidade significativa de tempo no desenvolvimento de métodos para atender às suas necessidades ou configurações específicas, mas muitas vezes sem obter crédito por essa parte de seu trabalho. *MethodosX*, uma revista de acesso aberto, agora publica essas informações para torná-las pesquisáveis, revisadas por pares, citáveis e reproduzíveis. Os autores são incentivados a enviar seu artigo *MethodosX* como um item adicional diretamente ao lado da versão revisada de seu manuscrito. Se seu artigo de pesquisa for aceito, seu artigo de métodos será automaticamente transferido para *MethodosX*, onde será revisado editorialmente. Observe que uma taxa de acesso aberto é paga para publicação no *MethodosX*. Site *MethodosX*. Use este modelo para preparar seu artigo *MethodosX*.

Declaração de dados

Para promover a transparência, incentivamos você a declarar a disponibilidade de seus dados em seu envio. Isso pode ser um requisito do seu órgão ou instituição financiadora. Se seus dados não estiverem disponíveis para acesso ou inadequados para publicação, você terá a oportunidade de indicar o motivo durante o processo de envio, por exemplo, declarando que os dados da pesquisa são confidenciais. A declaração aparecerá com seu artigo publicado no ScienceDirect. Para obter mais informações, visite a página *Declaração de dados*.

Uma nota adicionada na prova deve ser datada e o autor deve ter solicitado e recebido a aprovação do Editor.

Correção de prova online

Para garantir um processo de publicação rápido do artigo, pedimos aos autores que nos forneçam suas correções de prova em até dois dias. Os autores correspondentes receberão um e-mail com um link para o nosso sistema de provas online, permitindo a anotação e correção das provas online. O ambiente é semelhante ao do MS Word: além de editar o texto, você também pode comentar figuras/tabelas e responder perguntas do Copy Editor. A prova baseada na Web fornece um processo mais rápido e menos propenso a erros, permitindo que você digite diretamente suas correções, eliminando a possível introdução de erros. Se preferir, você ainda pode optar por anotar e fazer upload de suas edições na versão em PDF. Todas as instruções para revisão serão dadas no e-mail que enviamos aos autores, incluindo métodos alternativos à versão online e PDF. Faremos todo o possível para que seu artigo seja publicado com rapidez e precisão. Por favor, use esta prova apenas para verificar a composição, edição, integridade e correção do texto, tabelas e figuras. Alterações significativas no artigo aceito para publicação somente serão consideradas nesta fase com autorização do Editor. É importante garantir que todas as correções sejam enviadas de volta para nós em uma única comunicação. Por favor, verifique cuidadosamente antes de responder, pois a inclusão de quaisquer correções subsequentes não pode ser garantida. A revisão é de sua exclusiva responsabilidade.

Separações

O autor correspondente receberá, sem nenhum custo, um Link de compartilhamento personalizado, fornecendo 50 dias de acesso gratuito à versão final publicada do artigo no ScienceDirect. O Link de compartilhamento pode ser usado para compartilhar o artigo por meio de qualquer canal de comunicação, incluindo e-mail e redes sociais. Por um custo extra, as separatas em papel podem ser solicitadas através do formulário de pedido de separatas que é enviado assim que o artigo for aceito para publicação. Tanto os correspondentes quanto os coautores podem solicitar separatas a qualquer momento através dos Serviços de Autor da Elsevier. Os autores correspondentes que publicaram seu artigo gold open access não recebem um link de compartilhamento, pois sua versão final publicada do artigo está disponível em acesso aberto no ScienceDirect e pode ser compartilhada através do link do artigo DOI.

10. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base na pesquisa científica desenvolvida neste trabalho, foi possível verificar que a revisão dos artigos analisados demonstrou um grande potencial dos seus compostos bioativos, com um grande interesse nas indústrias químicas, alimentícias e farmacêuticas, por seu poder antioxidante. É importante entender qual método extrativo é mais eficaz na extração de compostos bioativos, fenólicos e antioxidantes. A melhor alternativa a ser escolhida é a que adeque processos de extração de produtos com baixo consumo de energia, operações unitárias reduzidas, menor consumo de solventes convencionais e/ou uso de solventes biodegradáveis, e que promovam maior rendimento, com o propósito de química verde, onde a condição extrativa seja mais limpa e eficiente. Segundo Oliveira *et al* (2016), a grande preocupação das indústrias é justamente desenvolver tecnologias inovadoras que apresentem essas características. Portanto, buscar estratégias diferentes de extrações, integradas aos processos de tecnologias limpas, demonstra um potencial inovador em pesquisas futuras. Assim como também já existem acordos internacionais e marcos regulatórios para um desenvolvimento mais sustentável, dentro deles encontra-se as ODS-2030, onde uma das normas regulamentadas, é a do uso sustentável dos recursos naturais, a conservação da diversidade biológica, bem como a utilização sustentável dos seus componentes (EMBRAPA, 2018).

A utilização de diferentes métodos de extração (ultrassom, maceração, fluído supercrítico), demonstrou neste trabalho que o método escolhido, bem como os diferentes solventes utilizados, pode gerar uma maior quantidade de compostos bioativos. A caracterização da ora-pro-nobis (OPN) por Cromatografia líquida e também por Cromatografia gasosa podem identificar e quantificar mais compostos fenólicos e antioxidantes existentes na planta. Até que até o presente momento, poucos dados haviam sido explorados desta forma na comunidade científica.

O método extrativo escolhido e solvente destacado: ultrassom e o etanol, demonstrou no presente trabalho, que este método, bem como o solvente escolhido possuem características

que resultam em menor produção de resíduos tóxicos, seguindo a ODS 2030, pois esta tem sido a grande preocupação em colocar em prática ações mais sustentáveis, pelas indústrias químicas, alimentícias.

Portanto, o método e condições escolhidas para se extrair os compostos bioativos das folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia acuelata* Miller), demonstraram eficiência para o propósito exposto, além de atender requisitos da química verde, mostrando também o potencial que a planta tem para obter boas fontes de compostos fenólicos e antioxidantes.

Este fato é de extrema relevância para a população mundial, uma vez que a planta sendo considerada uma PANC, se adapta em vários tipos de solos, sendo considerada como uma “erva daninha”, vem colaborar mais uma vez para as ODS 2030, ajudando a erradicar a pobreza, auxiliando no consumo e produção responsáveis, e propondo uma química mais verde ao Planeta.

BIBLIOGRAFIA

ADAMS, R. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. 4th ed. **Allured Publishing Corporation**. Illinois, USA, 2012.

ARNOSO, B.; COSTA, G.; SCHIMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**. V.18; n. 01; pg. 39-48, 2019.

Disponível em <https://doi.org/10.33233/nb.v18i1.1432>

ALLKIN, B. World Health Organization. Royal Botanic Garden Kew. State of the World's Plants. **Useful Plants – medicines**. C. 4, p. 22, 2017. **Malaria Fact sheet** No 94.

Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>.

ALMEIDA, M.; CORRÊA, A. Utilização de cactáceas do Gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, vol. 42, num. 4, pag. 751- 756, 2012.

Disponível em <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000400029>.

ALMEIDA, M.; JUNQUEIRA, A.; SIMÃO, A.; CORRÊA, A. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. **Bioscience Journal** - ISSN 1981-3163. Vol.30, num.3, 2014.

Retrieved from <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/17555>

ALMEIDA-FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Miller). **Revista Ceres**, v. 21, p 105-111, 1974.

ALLKIN, B. World Health Organization. Royal Botanic Garden Kew. State of the World's Plants. **Useful Plants – medicines**. C. 4, p. 22, 2016. **Malaria Fact sheet** No 94.

Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/en/>.

ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P., PATSALIDES, E., MCDONALDS, S., ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. **School of science and technology**. Vol. 127, pag. 183-198, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1039/B009171P>

ANVISA, Ministério da Saúde Farmacopéia Brasileira: parte I – métodos gerais. 4 ed. São Paulo: Atheneu, 1996.

ANVISA. **Farmacopéia Brasileira**. Vol. 01, pag. 546, 2010. Disponível em: www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm.

BEZERRA, R.; YOSHIDA, C.; CARVALHO, R.; MACIEL, V. Obtenção do extrato de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) para aplicação em sistemas carreadores de compostos bioativos. In: **Congresso Brasileiro de ciência e tecnologia de alimentos–Alimentação: a árvore que sustenta a vida**. 2016.

BENDICHO, C.; CALLE, I.; PENA, F.; COSTAS, M.; CABALEIRO, N.; LAVILLA, I. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 31, pag. 50–60, 2012.

Available in: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M., BERSET, C. Use of a free radical method evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**. V 28, cap 01, pag 25- 30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Corporativismo. **Manual de hortaliças não-convencionais**. P 62, 2010.

BROWN, P.; GETTNER, S.; SOMERVILLE, C. Genetic engineering of plants lipids. **Annual Review of Nutrition**. V. 19. P. 197-216, 1999.

Available in: <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.19.1.197>

BRUNNER, G. Supercritical Fluids: technology and application to food processing. **Journal of food Engineering**. Vol. 67, pag. 21-33, 2005.

CARDOSO, W.; ALMEIDA, W.; GEREMIAS, R.; PUCKOSKI, A.; ANGIOLETTTO, E. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. **Revista de Iniciação Científica**. V. 12, p.1-12, 2014.

CASSEL, E.; VARGAS, R.; BRUN, G. Fundamentos de tecnologia de produtos fito terapêuticos. Processos de extração supercrítica aplicados a produtos naturais. 2ª ed. Porto Alegre, 2008.

COLLINS, C. BRAGA, G.; BONATO, P. Fundamentos de cromatografia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. V. 42, N. 02. In: **Fundamentos de cromatografia**, 2006. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000200018>

CONTADO, E.; PATTO, L.; ROCHA, D.; ABREU, C.; CORRÊA, A.; SANTOS, C. Estudo dos métodos de extração de carotenóides em cenoura por fluido supercrítico (efs) e convencional. **Ciência e Agrotecnologia**. V. 34, N. esp. ISSN 1413-7054, 2010. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000700005>

CORRÊA, R.; GARCIA, J.; CORREA, V.; VIEIRA, T.; BRACHT, A.; PERALTA, R. Pigmentos e vitaminas de plantas como ingredientes funcionais: tendências e perspectivas atuais. In: **Advances in food and nutrition research**. Academic Press. p. 259-303, 2019.

Disponível em <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.003>

CRUZ, T., SANTOS, J., CARMO, M., HELLSTRÖM., PIHLAVA, J., AZEVEDO, L., GRANATO, D., MARQUES, M. OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE FOLHAS DE ORA-PRO-NÓBIS (*PERESKIA ACULEATA* MILLER) E SUAS ATIVIDADES ANTIOXIDANTES E ANTI-HEMOLÍTICAS *IN VITRO*. **QUÍMICA DE ALIMENTOS**. VOL. 361, 2021. [HTTPS://DOI.ORG/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130078](https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130078).

DA SILVA, R.; ROCHA-SANTO, T.; DUARTE, A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **Trac Trends in Analytical Chemistry**, v.76, p. 40-52, 2016.

DEGANI, A.; CASS, Q.; VIEIRA, P. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, n. 7, p. 21-25, 1998.

Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc07/atual.pdf>, acesso em 10/10/2020.

DIPLOCK, A.; CHARULEUX, J.; CROZIER-WILLI; KOK. Functional food science and defense against reactive oxidative species. **British Journal of Nutrition**, v. 80, n S1, p S77-S112, 1998. Available in: <https://doi.org/10.1079/BJN19980106>

DUARTE-ALMEIDA, J., SANTOS, R., GENOVESE, M., LAJOLO, F. Antioxidant activity evaluation using Beta-carotene / linoleic acid system and sequestration method of DPPH*. **Science and Technology Food**. Vol. 26, cap. 02, pag. 446-452, 2006.

FERREIRA, B., BEIK, J., ALVES, S., HENRIQUE, F., SAUER, E., CHORNOBAI, C., BOWLES, S., CHAVES, E. Extração Assistida por ultrassom para determinação de lipídeos em alimentos: um experimento em Laboratório. **Química Nova**. Vol. 43, num. 9, pag. 1320-1325, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170592>

FONSECA, S. **Farmacotécnica de fitoterápicos**. p. 62, 2005.

Disponível em: www.farmacotecnica.ufc.br/arquivos/Farmacot_Fitoterapicos.PDF.

FREITAS, S, SILVA, O.; MIRANDA, I.; COELHO, M. Extração e fracionamento simultâneo de óleo castanha-do-brasil com etanol. **Revista Ciência Tecnologia de Alimentos**. V. 27, sup. 01, p. 14 -17, 2007. Disponível em <https://doi.org/10.1590/S0101-20612007000500002>

GARCIA, J.; CORRÊA, R.; BARROS, L.; PEREIRA, C.; ABREU, R.; ALVES, M.; CALHELHA, R.; BRACHT, A.; PERALTA, R., FERREIRA, I. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019. Disponível em : <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.074>

GARCIA, J.; ANGELO, C.; CORRÊA, R.; VIEIRA, T.; CORREA, V.; BRACHT, A.; PERALTA, R. Total Phenolic content and antioxidant potential of 'Ora-Pro-Nobis' leave: An *in vitro* comparative study between *Pereskia aculeata* Miler and *Pereskia Grandifolia* Haw. **International Journal of development research**. V. 10, Issue 4, p. 35310-35314, 2020. Available in: <https://doi.org/10.37118/ijdr.18629.04.2020>.

GARMUS, T.; PAVIANI, L. Extraction of phenolic compounds from pepper-rosmarin (*Lippia sidoides* Cham.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**. V. 99, p. 68-75, 2015. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.01.016>.

GOREN, A.; TOPÇU, G.; BILSEL, M.; AYDOGMUS, Z.; PEZZUTO, J. The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, c. 9-10, p. 797- 800, 2002.

Available in: <https://doi.org/10.1515/znc-2002-9-1007>.

GOULA, A. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - Kinetic modeling. **Journal of food Engineering**. V. 117, p. 492-498, 2013.

Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.009>

GRONNER, A.; SILVA, V. D.; MALUF, W. R. Ora-Pro-Nóbis (*Pereskia aculeata*) - a carne de pobre. **Boletim Técnico de Hortaliças**. 1. Ed., n. 37, 1999.

HANDA S.; KHANUJA, S.; LONGO, G.; RAKESH, D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology. **ICS -UNIDO, AREA Science Park**. P. 266, 2008.

Available in:

https://www.unido.org/sites/default/files/200910/Extraction_technologies_for_medicinal_and_aromatic_plants_0.pdf

HAO, DA-CHENG. Genomics and Evolution of medicinal Plants. Ranunculales Medicinal Plants. **Biodiversity, Chemodiversity and Pharmacotherapy**. P. 1-33, 2019.

Available in: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814232-5.00001-0>.

HOLLIS, H. B.; SCHEINVAR, L. **El interesante mundo de las cactáceas**. México: Fondo de Cultura Económica, p. 235, 1995.

HORST, M.; LAJOLO, F. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. In: COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 5ª ed. São Paulo (Barueri): Editora Manole, p. 949-987, 2016.

JANTAN, I.; LING, Y.; ROMLI, S.; AYOP, N.A. Comparative study of the constituents of the essential oils of three *Cinnamomum* species from Malaysia. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p.387-91, 2003.

Available in:

<https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1080%2F10412905.2003.9698618>

JESUS, I.; NOGUEIRA, F.; FONSECA, A. Redução de compostos carbonílicos: os talos de mamoeiro (*Carica papaya*) como reagente biocatalisador. **Scientia Plena**. V. 9, n. 7, p. 4, 2013. Disponível em: <https://www.scientiaplenua.org.br/sp/article/view/1528/823>. Acesso em 10/10/2020.

KINUPP, V. Plantas alimentícias não-convencionais da Região Metropolitana de Porto Alegre, RS. 562 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KINUPP, V., BARROS, I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência tecnologia de Alimentos**. V. 28. N. 4. Out/dez.2008. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400013>.

KINUPP, V.; LORENZI, H. Plantas Alimentícias Não-convencionais (PANC) no Brasil: Guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. 1 ed. São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 2014. ISBN: 978-85-86714-46-7.

KIM, S; CHO, AH.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v.29, n.1, p.112-120, 2013.

Available in:

<https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%2Fj.foodcont.2012.05.060>

KNEZ, Ž.; Markočič, E.; Leitgeb, M.; Primožič, M.; Knez Hrnčič, M.; Škerget, M. Industrial applications of supercritical fluids: A review. **Energy**, v. 77, p. 235-243, 2014.

KNORR, D.; ZENKE, M.; HEINZ, V.; UN-LEE, D. Applications and potential of ultrasonics in food processing. **Trends in Food Science & Technology**. V. 15. P. 261-266, 2004. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.12.001>

KOBORI, C.; RODRIGUEZ, A.; DELIA, B. Uncultivated Brazilian Green leaves are richer sources of carotenoids than are commercially produced leafy vegetables. **Food and Nutrition Bulletin**, v.29, n.4, p.320-328, 2008.

Available in: <https://doi.org/10.1177%2F156482650802900408>

KRUG, J.; ROCHA, F.; *Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar*, 1ª ed., **Editora SBQ**: São Paulo, 2016.

LEE, J.; PARK, K.; LEE, M.; KIM, PENEDO, P.; COELHO, G. Purificação de óleos vegetais por extração com CO2 supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V. 17, n.4, p. 380-383, 1997.

<https://doi.org/10.1590/S0101-20611997000400007>

H.; SEO, WOO.; KIM, J.; BAEK, I.; JANG, D.; HA, T. Identification, characterization, and quantification of phenolic compounds in the antioxidant activity-containing fraction from the seeds of Korean perilla (*Perilla frutescens*) cultivars. **Food Chemistry**. v.136, n. 2, p. 843-852, 2013.

Available in: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.057>

LI, S.; HARTLAND, S. Supercritical fluid extraction of alkylamides from *Echinacea angustifolia*. **Journal of Supercritical Fluids**, v.50, n.14, p.3947-3953, 2002.

LIU, Y.; QI, Y.; CHEN, X.; HE, H.; LIU, Z.; ZHANG, Z.; REN, Y.; REN, X. Phenolic compounds and antioxidant activity in red- and in green-fleshed kiwifruits. **Food Research International**. V. 116, P. 291-301, 2019.

Available in: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.038>

MACEDO, A. PANC- PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS. Ações de resgate e de multiplicação promovem sua volta ao campo. **Hortaliças em Revista**. Embrapa Hortaliças. Ano VI. N. 22, 2017. ISSN 2359-3172. Disponível em: www.embrapa.com.br Acesso em: 20/09/2020.

MADEIRA, N; AMARO, G.; MELO R.; BOTREL, N.; ROCHINSKI, E. Cultivo de ora-pro-nóbis (*Pereskia*) em plantio adensado sob manejo de colheitas sucessivas. **Circular Técnica. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Embrapa**. V.156, P. 07-08, 2016. ISSN 1415-3033. Disponível em: www.embrapa.com.br. Acesso em: 20/09/2020.

MANAF, S.; MOHD, H.; DAUD.; ALIMON, A.; MUSTAPHA, N.; HAMDAN, R.; MUNIADY, K.; MOHAMED, N.; RAZAK, R.; HAMID, N. The Effects of *Vitex trifolia*, *Strobilanthes crispus* and *Aloe vera* Herbal-mixed Dietary Supplementation on Growth Performance and Disease Resistance in Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.). *Journal of Aquaculture Research & Development*. Vol. 7, ISSUE 4, 2016. DOI: 10.4172/2155-9546.1000425.

MAUL, A.; WASICKY, R.; BACCHI, E. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol. 5, num. 2, pag. 185-200, 1996.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X1996000200006>.

MESQUITA, C.; HOLVORCEM, C.; TAMBOSI, L.; SILVA, S. Da teoria a prática: Planejando e implantando mosaicos florestais sustentáveis no corredor central da mata atlântica. **Cadernos do diálogo**. C. 2, v. 3, p. 12, 2011.

Disponível em <http://www.conservation.org.br/como/index.php?id=11>

MIRANDA, M. O potencial da Ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v. 4, n. 2, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em 20/09/2020.

MOLTIVA, M.; SERRA, A.; MACIÀ, A. Analysis of food polyphenols by ultra high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: An overview. **Journal of Chromatography A**, V.1292, p.66–82, 2013.

MOHAMED, R. Extração e fracionamento de produtos de ocorrência natural com fluidos supercríticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.17, n.4, p.344-345, 1997.

MUKHOPADHYAY, M. *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*. Boca Raton: CRC Press, 2000.

MULET, A; BENEDITO, J.; GOIÁS, I.; CÁRCEL, J. **Foods Review International**. Noninvasive ultrasonic measurements in the food industry. V. 18, c. 02, p. 123-133, 2002. Available in: <https://doi.org/10.1081/FRI-120014354>.

NACZK, M.; SHAHID, F. EXTRACTION AND ANALYSIS OF PHENOLICS IN FOOD. **JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY**. V. 1054, ISSUE 1-2, P. 95-111, 2004. DISPONÍVEL EM: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>

OLIVEIRA, D.; ZANUZO, M.; SEVERGNINI, C. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, p. 472–475, 2013.

Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/hb/v31n3/21.pdf> . Acesso em 23/07/2020.

PENEDO, P.; COELHO, G. Purificação de óleos vegetais por extração com CO₂ supercrítico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V. 17, n.4, p. 380-383, 1997. <https://doi.org/10.1590/S0101-20611997000400007>

PERES, T. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002. Disponível em: http://www.biologico.agricultura.sp.gov.br/uploads/docs/bio/v64_2/peres.pdf. Acesso em 03/11/2020

ROCHA, D.; PEREIRA JUNIOR, G.; VIEIRA, G.; PANTOJA, L. Macarrão adicionado de *ora-pro-nobis* (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.4, p.459-465, 2008.

Disponível em: <http://servbib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/656/552>.

RODRIGUES, S.; MARINELLI, P.; OTOBONI, A.; TANAKA, A.; OLIVEIRA, A. Caracterização química e nutricional da farinha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller). **Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAEF**. 2015. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/9w5WLNyeuBN8Ro2_2015-1-26-16-10-54.pdf. Acesso em 12/10/2020.

RUFINO, M.; ALVES, R.; BRITO, E.; MANCINI FILHO, J.; MOREIRA, A. **Metodologia científica**: Determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema b-caroteno/ácido linoleico. Embrapa, 2006. (Comunicado Técnico).

RUFINO, M.; ALVES, R.; BRITO, E.; MORAIS, S.; SAMPAIO, C.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. **Metodologia científica**: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa, 2007. (Comunicado Técnico).

SÁ, A.; MORENO, Y.; CARCIOFI, B. Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. **Trends in food Science & technology**. v. 97, p. 170-184, 2020.

Available in: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011>

SHARIFAH, R.; MANAF AND HASSAN; DAUD, M. Screening of phytochemical properties and antimicrobial activity of Malaysian medicinal plants against aquatic bacteria. **Malaysian Journal of Microbiology**, V 12, n. 4, p. 284-290, 2016.

Available in: <http://dx.doi.org/10.21161/mjm.83816>

SANTANA, C.; KWIATKOWSKI, A.; QUEIROS, A.; SOUZA, A.; MINAS, R. Desenvolvimento de Suplemento Alimentar Utilizando Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*). **Cadernos de Agroecologia**, v. 13, n. 2, p. 1–10, 2018. Acesso em 15/11/2020. <http://cadernos.agroecologia.org.br/index.php/cadernos/article/view/2318>

SANTOS, I.; PEDROSA, M.; CARVALHO, O.; GUIMARÃES, C.; SILVA, L. Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG**. Circular Técnica, num.177, dezembro, 2012. ISSN 0103-4413. Disponível em: <http://www.epamig.br/download/circular-tecnica-177/> . Acesso em: 20/08/2020.

SANTOS, O.; CORRÊA, N.; CARVALHO, R.; COSTA, C.; LANNES, S. Yield, Nutritional quality, and thermal-oxidative stability of Brazil nut oil (*Bertholletia excels* H.B.K.) obtained by supercritical extraction. **Journal Food Engineering**. N. 17, p. 499-504, 2013. Disponível em: <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/501495>. Acesso em 20/08/2020.

SARAH, S; SINGH, A.; KESHARI, A.; RAJ, V.; RAI, A.; MAITY, S. Chapter 2: Modern Extraction techniques for drugs and medical agents. Ingredients extraction by Physico-chemical methods in food. **Elsevier**. P. 65-106, 2017.

Available in: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811521-3.00002-8>

SARVIN, B.; FDOROVA, E.; SHPIGUN, O.; TITOVA, M.; NIKITIN, M.; KOCHKIN, D.; RODIN, I.; STAVRIANIDI. LC-MS Determination of steroidal glycosides from *Dioscorea deltoidea* Wallcell suspension culture: Optimization of pre-LC-MS procedure parameters by Latin Square design. **Journal of Chromatography B**. V. 1080, p. 64-70, 2018. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.02.012>

SERAFINI, L.; BARROS, N.; AZEVEDO, J. Biotecnologia na agricultura e na agroindústria. **Livraria e editora Agropecuária**, 2001.

SHALMASHI, A. Ultrasound-assisted extraction of oil from tea seeds. **Journal of food Lipids**. V. 16, p. 465-474, 2009.

Available in: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4522.2009.01159.x>

SHARIF, K.; RAHMAN, M.; ZAIDUL, I.; JANNATUL, A.; AKANDA, M. Pharmacological Relevance of Primitive Leafy *Cactuses Pereskia*. **Research Journal of Biotechnology**. V. 8(12), p. 134-142, 2013.

Available in:

https://www.researchgate.net/profile/Mohammad_Sharif_Khan/publication/261722251_Pharmacological_Relevance_of_Primitive_Leafy_Cactuses_Pereskia/links/545ea8aa0cf2c1a63bfc20b3/Pharmacological-Relevance-of-Primitive-Leafy-Cactuses-Pereskia.pdf. Acesso em: 20/08/2020.

SIERAKOWSKI, M.; GORIN, P.; REICHER, F.; CORRÊA, B. Location of O-acetyl groups in the heteropolysaccharide of the cactus *Pereskia aculeata*. **Carbohydrate Research**. V. 201, p. 277-284, 1990. Available in: [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(90\)84243-N](https://doi.org/10.1016/0008-6215(90)84243-N)

SILVA, A; SPRICIGO, P.; FREITAS, T.; ACIOLY, T.; ALENCAR, S.; JACOMINO, A. Ripe Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* miller) fruits express high contents of bioactive compounds and antioxidant capacity. **Revista Brasileira de Fruticultura**. V. 40, n. 3, E-749, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018749>

SILVEIRA, J; BUSATO, N.; COSTA, A.; COSTA JUNIOR, E. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**. Centro científico conhecer. V. 8, n. 15; p. 2038-2052, 2012.

SIMÕES, C. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: UFRG; Florianópolis: UFSC, 2002.

SIMÕES, C.; SCHENKEL, E. **Farmacognosia da planta ao medicamento**, 5. ed. UFRGS/UFSC, p.576-614, 2003. ISBN: 9788570256829.

SKOOG, D.; WEST, D.; HOLLER, F.; CROUCH, S. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. [S.l.]: Grupo Editorial Norma, 2006.

SONG, L.; LIU, P.; YAN, Y.; HUANG, Y. Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (SONG, L. *et al.* Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) leaves and associated biological activities and flavonoid compositions. **Industrial Crops and Products**. V. 139, 2019. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111508>

SOUZA, M.; CORREA, E.; GUIMARÃES, G.; PEREIRA, P. Potencial da ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.3550–3554, 2009.

Disponível em:

<http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>.

SOUZA, R.; LIRA, C.; RODRIGUES, A.; MORAIS, S. Antioxidant activity of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves extract using spectrophotometric and voltametric assays in vitro. **Bioscience Journal**. V. 30, sup. 1, p. 448-457, 2014.

Available in: <https://www.researchgate.net/publication/263116284>.

SOUZA, L., CAPUTO, L., DE BARROS, I., FRATIANNI, F., NAZZARO, F., DE FEO, V. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. *International Journal of Molecular Science*. 2016; 17(9):1478 <https://doi.org/10.3390/ijms17091478>

STATSOFT, I. STATISTICA,2001. Data Analysis Software System, Version 6. <http://www.statsoft.com>

TAKEIT, C.; ANTONIO, G.; MOTTA, E.; COLARES-QUEIROZ, F. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Science and Nutrition**. V 60, sup 1, p. 148-160, 2009. PMID: 19468927.

Available in: <http://dx.doi.org/10.1080/09637480802534509>.

TAYLOR, L. Supercritic Fluid Extraction. New York: John Wiley & Sons, 1996.

THIESEN, L.; SUGAURA, E.; TESEVIC, V.; GLAMOCLIIA, J.; SOKOVIC, M.; GONÇALVES, J., GAZIM, Z., LINDE, G., COLAUTO, N. Antimicrobial activity and chemical composition of *Brunfelsia uniflora* flower oleoresin extracted by supercritical carbon dioxide. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, p. 1-12, 2017.

Available in: <https://doi.org/10.4238/gmr16029548>

THOE, T. ASPINWAL, D., WISE, M. Review on ultrasonic machining. **Int. J. Mach. Tool. Manu.** V.38, n.4, p. 239-255, 1998.

TIAN, Y.; XU, Z.; ZHENG, B.; LO, M. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. **Ultrasonics Sonochemistry**. V. 20, p. 202-208, 2012. Available in: <http://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.010>.

TOFANELLI, M.; RESENDE, S. Sistemas de condução na produção de folhas de ora-pro-nóbis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. V. 41, n. 3, p. 466-469, 2011. ISSN: 1517-6398. Disponível em <https://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>

[TORRES, T., GUEDES, J., BRITO, E., MAZZUTTI, S., FERREIRA, S. Biorefinação de alta pressão de ora-pro-nobis \(*Pereskia acuelata*\). **O Diário dos Fluidos Supercríticos**. Vol. 181, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105514>.](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105514)

[TORRES, T., ÁLVAREZ-RIVERA, G., MAZZUTI, S., SÁNCHEZ, J., CIFUENTES, M., IBÁÑEZ, E., FERREIRA, X. Potencial neuroprotetor de extratos de folhas de ora-pro-nobis \(*Pereskia acuelata*\) recuperados por fluidos comprimidos limpos. **O Jornal de Fluidos Supercríticos**. Vol. 179, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105390.T>.](https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105390.T)

TORRES, T., MAZZUTTI, S., CASTIANI, M., SIDDIQUE, I., VITALLI, L., FERREIRA, S. Compostos fenólicos recuperados de folhas de ora-pro-nobis por extração assistida por micro-ondas. **Biocatálise e Biotecnologia Agrícola**. Vol. 39, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102238>.

TUNG MUNNITHUM, D; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. **Medicines**. C. 5, p .93; 2018.

Available in: <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>. Acesso em 23/09/2020.

VENSKUTONIS, P.; DAGYLITE, A. Composition essential oil of sweet flag (*Acorus calamus* L.) leaves at different growing phases. **Journal of Essential Oil Research**, v.15, p. 313-8, 2003. Available in: <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9698598>

WANG, H.; LIU, Y.; QI, Z. ; WANG, S. ; LIU, S. ; WANG, H.; XIA, X. An overview on natural polysaccharides with antioxidant properties. **Current Medicinal Chemistry**. V. 20, n. 23, p. 2899-2913, 2013.

WANKANNE, M. Os Antioxidantes. **Revista Food Ingredients Brasil**. N. 6, p. 16, 2009. Disponível em: www.revista-fi.com.

WHO/FAO/UNU Expert Consultation. Protein and amino acid requirements in human nutrition. **World Health Organization Technical Report Series**, p. 1–265, 2007. ISBN92 4 120935 6. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18330140/> . Acesso em 20/08/2020.

ZHAN-WU, S.; WEI-HONG, M.; JIN-HE, G; YANG, B; WEI-MIN, Z; HUA-TING, D; ZHI-QIANG, J. Antioxidant properties of banana flower of two cultivars in China using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH,) reducing power, 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6- sulphonate (ABTS) and inhibition of lipid peroxidation assays. **African Journal of Biotechnology**. V. 10(21), p. 4470-4477, 2011.

DOI: 10.5897/AJB10.1659

ZUIN, V.; STAHL, A.; ZANOTTI, K.; SEGATTO, L. Green and Sustainable Chemistry in Latin America: which type of research is going on? And for what? **Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, v. 25, p. 100-379, 2020.