

#### NELMA FERREIRA DE PAULA VICENTE

# SUPRESSÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE, COMPOSIÇÃO MINERAL E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia grandifolia Haw)

#### NELMA FERREIRA DE PAULA VICENTE

### SUPRESSÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE, COMPOSIÇÃO MINERAL E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia grandifolia* Haw)

## SUPPRESSION OF SINGLET OXYGEN, MINERAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia grandifolia Haw)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Doutora.

Orientadora Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli

Coorientador Prof. Dr. Adjaci Uchoa Fernandes

## Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Vicente, Nelma Ferreira de Paula.

Supressão de oxigênio singlete, composição mineral e atividade antimicrobiana de extratosde ora-pro-nóbis (*Pereskia grandifolia*Haw) / Nelma Ferreira de Paula Vicente. - 2021. 62 p.

Orientador(a): Roberta Hilsdorf Piccoli.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021. Bibliografia.

1. Ora-pro-nóbis. 2. EDXRF. 3. Antioxidante. I. Piccoli, Roberta Hilsdorf. II. Título.

#### NELMA FERREIRA DE PAULA VICENTE

#### SUPRESSÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE, COMPOSIÇÃO MINERAL E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia grandifolia Haw)

### SUPPRESSION OF SINGLET OXYGEN, MINERAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS OF ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia grandifolia Haw)

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 31 de agosto de 2021.

Profa. Dra. Luciane Vilela Resende UFLA

Prof. Dr Adjaci Uchôa Fernandes UAM

Profa. Dra. Heloisa Helena de Abreu Martins IFBAIANO

Profa. Dra. Angélica Cristina de Souza UFLA

Profa. Dra. Alcilene de Abreu Pereira IFMG

Profa. Dra. Roberta Hilsdorf Piccoli Orientadora

Prof. Dr. Adjaci Uchoa Fernandes Coorientador

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por me guiar e conduzir meus passos transmitindo a Luz Divina para seguir em frente, mesmo nos momentos mais difíceis, e servir a humanidade.

À minha família, pelo apoio e incentivo. A todos os familiares, por estarem sempre ao meu lado.

À minha orientadora, professora Roberta, que lida com sua equipe de maneira única e deixa um modelo de profissional, mãe, mulher e ser humano, por me orientar com grande altruísmo e sabedoria.

Ao pesquisador Divinomar Severino, que acreditou e veio visitar a UFLA, para conhecer o projeto da nossa pesquisa e o nosso departamento de Plantas Medicinais Aromáticas e Condimentares. Assim me conduziu ao pesquisador Adjaci que também acreditou e aceitou a coorientação nos laboratórios da Universidade Estadual de São Paulo e Universidade Anhembi Morumbi no Parque Tecnológico de São José dos Campos. Agradeço pelos ensinamentos valiosos transmitidos, pela confiança depositada em mim, pela compreensão, paciência, pelo incentivo e pela amizade. Ao professor e pesquisador Roney, pela motivação e contribuição com o trabalho. Também ao pesquisador Maurício Baptista e Zângaro, por permitir o uso dos laboratórios.

A professora e pesquisadora Heloisa, que contribuiu e me orientou com dedicação e civilidade, sei que sem ela tudo seria muito mais difícil.

Aos coordenadores e professores do curso de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, cujos preciosos ensinamentos profissionais me foram transmitidos.

Aos técnicos e funcionários da Universidade Federal de Lavras, de maneira geral e, carinhosamente, gostaria de agradecer a Anete (Fitoquímica) e a Eliane (Microbiologia de alimentos), pela disponibilidade de contribuir com este trabalho e aos funcionários do horto de plantas medicinais, Dico, Giulia e Paulo.

Ao Fernando Habib, Abraão, Érica, Michelle, Natália, Júlia Assunção e Sabrina, pelas contribuições nas análises, parceria nos trabalhos de laboratório, pela disponibilidade.

Aos colegas, amigos, pelo companheirismo e agradável convívio durante a realização dos experimentos.

A todas as pessoas que diretamente ou indiretamente conheci e fizeram parte da minha jornada de crescimento!

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, pela oportunidade de cursar o Doutorado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro na realização do experimento; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

A todos que contribuíram para que este trabalho fosse realizado, MUITO OBRIGADA!

O coração agradecido comunica-se diretamente com Deus!

Mokiti Okada

#### **RESUMO**

Dentre tantas espécies vegetais que são pouco estudadas quanto às suas atividades biológicas, Pereskia grandifolia Haw. (ora-pro-nóbis), uma planta alimentícia não convencional (PANC), desperta interesses por apresentar propriedades terapêuticas e nutricionais conhecidas. Os objetivos neste trabalho foram de quantificar e avaliar micro e macronutrientes em diversas partes da planta, bem como a atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de P. grandifolia Haw. Para análise dos componentes presentes na planta utilizou-se Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF), e queima em forno de combustão; já para a ação antioxidante, utilizou-se espectroscopia de UV-vis e de fluorescência para avaliar a supressão do oxigênio singlete; e a ação antimicrobiana foi feita através da técnica de difusão em disco e medida do halo de inibição, contra cepas de Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes Escherichia coli. Frutos, flores, caule, folhas e raiz de P. grandifolia Haw. foram coletados de plantas localizadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras. Extratos foram preparados a partir das folhas secas com solventes em ordem crescente de polaridade, usando: hexano, clorofórmio, acetato de etila, etanol, metanol e água. Resultados da Fluorescência de raio X mostraram os elevados teores de minerais como cálcio e potássio; e proteínas encontrados em todas as partes da P. grandifolia. Quanto à análise de Espectroscopia de UV-vis e de fluorescência, os resultados indicaram que os melhores extratos supressores de oxigênio singlete foram aqueles obtidos com clorofórmio seguido de hexano e acetato de etila. Através dos resultados foi possível elucidar as características nutricionais da planta e confirmar o potencial antioxidante dos extratos apolares da *Pereskia grandifolia* comparados aos polares. Os resultados microbiológicos deste estudo apontaram que os diferentes extratos de P. grandifolia, nas concentrações testadas, não apresentaram ação antimicrobiana contra as bactérias avaliadas.

**Palavras-chave:** Ora-pro-nóbis. EDXRF. Antioxidante. Antimicrobiano natural. Espectroscopia. Oxigênio singlete.

#### **ABSTRACT**

Among so many plant species that are poorly studied regarding their biological activities, Pereskia grandifolia Haw. (ora-pro-nóbis), an unconventional food plant (UFP), arouses interest for having known therapeutic and nutritional properties. The objectives of the work were to quantify and evaluate micro and macronutrients in different parts of the plant, as well as the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of P. grandifolia Haw. To analyze the components present in the plant, Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) and combustion in a combustion oven were used; for the antioxidant action, UV-vis and Fluorescence Spectroscopy was used to assess the suppression of singlet oxygen; and the antimicrobial action was performed through disc diffusion technique and halo of inhibition against strains of Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes and Escherichia coli. Fruits, flowers, stem, leaves and root of P. grandifolia Haw. were collected from plants located in the Medicinal Plants Garden of the Federal University of Lavras. Extracts were prepared from the dried leaves with solvents in increasing order of polarity using: hexane, chloroform, ethyl acetate, ethanol, methanol and water. X-ray Fluorescence results showed the high contents of minerals such as calcium and potassium; and proteins found in different parts of *P. grandifolia*. As for the analysis of UV-vis and Fluorescence Spectroscopy, the results indicated that the best singlet oxygen-suppressing extracts were those obtained with chloroform followed by hexane and ethyl acetate. Through the results, it was possible to elucidate the nutritional characteristics of the plant and confirm the antioxidant potential of nonpolar extracts of P. grandifolia compared to polar extracts. The microbiological results of this study showed that the different extracts of P. grandifolia, at the concentrations tested, did not show antimicrobial action against the bacteria evaluated.

**Keywords:** Ora-pro-nobis. EDXRF. Antioxidant. Natural antimicrobial. Spectroscopy. Singlet oxygen.

### SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	9	
1	INTRODUÇÃO	9	
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11	
2.1	Plantas medicinais e Fitoterapia1		
2.2	Pereskia sp		
2.2.1	Usos terapêuticos e atividade farmacológica de <i>Pereskia</i> sp		
2.2.2			
2.2.3			
2.3	Atividade antioxidante e antimicrobiana de <i>Pereskia</i> sp		
	REFERÊNCIAS		
	SEGUNDA PARTE		
	ARTIGO SUPRESSÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE, COMPOSIÇ	LÃO	
	MINERAL E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE O		
	PRO-NÓBIS (Pereskia grandifolia Haw)		
1	INTRODUÇÃO		
2	MATERIAL E MÉTODOS	31	
<b>2.1</b>	Coleta e preparo da <i>Pereskia grandifolia</i> Haw33		
2.2	Determinação do pH		
2.3	Análise utilizando a técnica de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva		
	(EDXRF)		
2.4	Quantificação de C, N e H utilizando a técnica de análise elementar atravér		
	queimaqueima		
2.5	Processo de Extração e Rendimento extrativo		
2.6	Atividade antioxidante		
2.6.1	Análises Espectrométricas		
2.6.2	Técnica de Fluorescência a Laser	34	
2.7	Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos	35	
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	37	
3.1	Análise do pH	37	
3.2	Análise por EDXRF		
3.3	Análise elementar por queima	41	
3.4	Rendimento extrativo		
3.5	Resultados da análise espectrométrica e de fluorescência		
3.6	Atividade antimicrobiana		
4	CONCLUSÃO	57	
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58	

#### PRIMEIRA PARTE

#### 1 INTRODUÇÃO

O conhecimento científico sobre as espécies de plantas usadas por diferentes grupos populacionais permite seu o uso mais consciente e eficaz. Ainda há muito a se estudar sobre a composição, as propriedades e ações farmacológicas de diversas plantas alimentícias, dentre as quais podemos destacar a ora-pro-nóbis (*Pereskia grandifolia* Haw). Essa espécie tem despertado interesse da comunidade científica devido às suas propriedades nutricionais e farmacológicas. Nas últimas décadas estudos epidemiológicos indicam que a alta ingestão de produtos vegetais está associada à redução no risco de grande variedade de doenças crônicas como aterosclerose e câncer, efeitos que têm sido particularmente atribuídos aos compostos que possuem atividade antioxidante nos vegetais: vitaminas C e E, os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, e os carotenoides.

Os radicais livres são moléculas liberadas pelo metabolismo do corpo com elétrons altamente instáveis e reativos, que podem causar doenças degenerativas, envelhecimento e morte celular. Podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana e o seu alvo celular (proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA).

O interesse das indústrias alimentícia e farmacêutica pelo gênero *Pereskia* vem aumentando nos últimos anos, sobretudo pelo alto teor de proteínas com elevada digestibilidade, e de fibras do tipo mucilagens. As plantas são, geralmente, uma rica fonte de ativos que fornecem benefícios medicinais ou de prevenção contra diversas doenças e enfermidades. Levando em consideração o preocupante aumento na taxa de infecção por microorganismos resistentes aos antibióticos, tem-se estimulado a procura por compostos que possuam potencial antimicrobiano, e os flavonoides possuem grandes atividades biológicas e terapêuticas através do uso de plantas medicinais em infecções como agentes antimicrobianos.

Pereskia grandifolia, conhecida popularmente como ora-pro-nóbis, é considerada planta alimentícia não convencional (PANC) de fácil cultivo, fonte complementar para o combate às carências nutricionais e doenças crônicas não transmissíveis, pela rica composição além de possuir teores elevados de proteínas. Também possui elevados teores de fibra alimentar, minerais que se destaca como cálcio e ferro, vitaminas A, B e C substâncias antioxidantes que a tornam uma fonte alimentícia e funcional promissora (SOUZA, 2014).

A busca pela saúde pode estar associdada ao consumo de vegetais, entre elas plantas alimentícias não convencionais (PANC). Além dos benefícios para saúde, o baixo custo desses

produtos naturais os torna cada vez mais atrativos. Assim, a caracterização e quantificação dos compostos antioxidantes e antibacterianos de *Pereskia grandifolia Haw* fornecem informações importantes para aumentar o uso dessa planta, como fonte alternativa de compostos benéficos à saúde e resgate da cultura do consumo desse tipo de planta pela população brasileira, com elevado teor mineral e proteico.

#### 2 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 2.1 Plantas medicinais e Fitoterapia

A medicina popular exerce importante papel na atenção primária à saúde, principalmente nos países em que a população não tem fácil acesso aos medicamentos.

A organização Mundial de Saúde (OMS) estima que, mesmo com os avanços alcançados nos últimos 30 anos no que se refere às políticas públicas, metade da polulação mundial não tem acesso regular a serviços de saúde convencionais e medicamentos essenciais, principalmente em países considerados de menor desenvolvimento (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 2017). Uma alternativa à terapêutica convencional utilizada é o uso de plantas medicinais e seus derivados.

A utilização de produtos naturais, particularmente da flora, com fins medicinais, nasceu com a humanidade. Indícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas civilizações mais antigas, sendo considerada uma das práticas mais remotas utilizadas pelo homem para cura, prevenção e tratamento de doenças, servindo como importante fonte de compostos biologicamente ativos (ANDRADE *et al.*, 2007). O uso de plantas medicinais é na forma de um remédio caseiro, cujo processamento e o preparo são feitos na própria casa. Estudos indicam que 80% da população mundial faz uso de algum tipo de planta em busca de alívio para sintomas ou dores, a utilização dá-se por ser de fácil acesso, baixo custo e por serem consideradas inofensivas por grande parte da população (ZENI *et al.*, 2017).

Pesquisas sobre as propriedades biológicas das plantas medicinais e dos fitoterápicos estão sendo avaliados para estimular as reações do sistema imune, entre elas, ações imunomoduladoras, conferindo um aumento da resposta imunológica do indivíduo (SONG *et al.*, 2020).

De acordo com Almassy Júnior *et al.* (2005), planta medicinal é toda planta que administrada ao homem ou animal, por qualquer via ou forma, exerça alguma ação terapêutica. O tratamento feito com uso de plantas medicinais é denominado de fitoterapia, e os fitoterápicos são os medicamentos produzidos a partir dessas plantas. Sendo assim, a fitoterapia é caracterizada pelo tratamento com o uso de plantas medicinais e suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de princípios ativos isolados (SCHENKEL; GOSMAN; PETROVICK, 2000).

As propriedades biológicas de substâncias presentes em extratos de plantas como consequência do metabolismo secundário, são, empiricamente, reconhecidas há séculos e têm

sido comprovadas cientificamente (JANSEN; SCHEFFER; SVENDSEN, 1987; SONG et al., 2020).

Com o aumento dos microrganismos resistentes às substâncias antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais estão sendo testados com a finalidade de procurar novos compostos com atividade antimicrobiana reconhecida. Nos últimos anos tem sido observado crescente interesse da comunidade científica pelas plantas medicinais e pela fitoterapia, por apresentarem potenciais terapêuticos e econômicos, visados especialmente pela indústria farmacêutica, que realiza a prospecção de novos produtos, com menos efeitos indesejáveis apresentados por alguns fármacos existentes (BRANDÃO *et al.*, 2006; HENDRY *et al.*, 2009; LIMA *et al.*, 2006; MARTÍNEZ-GUERRA *et al.*, 2000; MEDEIROS *et al.*, 2007).

#### 2.2 Pereskia sp.

Os representantes do gênero *Pereskia* foram os primeiros cactos a serem estudados pelos botânicos, sendo descritos pela primeira vez no final do século XVII (LEUENBERGER, 2008). Abrange as espécies consideradas mais primitivas dentre as cactáceas, já que mantêm muitas características ancestrais perdidas em outros gêneros, como folhas bem desenvolvidas e suculentas; caules finos, pouco espinhosos, sublenhosos ou lenhosos, e relativamente não suculentos; flores terminais dispostas em cimeiras; e hábitos arbóreos ou arbustivos (DUARTE; HAYASHI, 2005; FARAGO *et al.*, 2004; OGBURN; EDWARDS, 2009).

O gênero *Pereskia* contém 17 espécies (EDWARDS; DIAZ, 2006), das quais, *P. bleo*, *P. grandifolia* e *P. aculeata* são amplamente consumidas pelos seres humanos.

Pereskia grandifolia Haw. é cultivada, principalmente, como planta ornamental (ABDELWAHAB, 2013) sendo indicada para a composição de "sebes" ou cercas vivas, por apresentar grande número de espinhos, oferecendo melhor proteção (FARAGO *et al.*, 2004).

Sabe-se que *P. gandifolia* foi introduzida na África do Sul, em meados do ano de 1858, e é amplamente distribuída na Mata Atlântica brasileira (MORAN; ZIMMERMANN, 1991). Quanto à distribuição geográfica em território brasileiro, a espécie se concentra nas regiões nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Piauí), sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e sul (Paraná, Santa Catarina) (TAYLOR *et al.*, 2015) (Figura 1).



Figura 1 - Distribuição geográfica mundial de *Pereskia grandifolia* Haworth, representada por círculos e, em destaque, regiões brasileiras onde predomina a espécie.

Fonte: Androuais (2016) e Taylor et al. (2015)

Considera-se que, provavelmente, a região noroeste da América do Sul tenha sido o centro original da diversificação e propagação do gênero *Pereskia* (BUTTERWORTH; WALLACE, 2005). A partir daí as cactáceas povoaram desde regiões do Caribe, assim como na América Central e na América do Sul, incluindo o norte da Argentina, a leste, Costa andina do Peru e a oeste do Paraguai, Uruguai e leste do Brasil, embora também sejam encontradas em climas frios e úmidos (ARIAS; PÉREZ, 2006).

#### 2.2.1 Usos terapêuticos e atividade farmacológica de Pereskia sp.

Dentre as várias espécies do gênero *Pereskia*, os mais utilizados e também estudados são *P. bleo*, *P. aculeata* e *P. grandifolia*, com grande destaque para *P. bleo*.

Em trabalho de revisão sistemática, Zareisedehizadeh, Tan e Koh (2014) descrevem os usos terapêuticos de *P. bleo*, sendo eles: detoxicação e prevenção do câncer; fins dietéticos, manutenção da saúde e revitalização do corpo, alívio de dores musculares e estomacais, no tratamento de hemorroidas, hipertensão, diabetes, infecções, dor de cabeça e condições inflamatórias (reumatismo e asma) e também para neutralizar a mordida de cobra.

O consumo de folhas de *P. bleo* por comunidades locais da Malasia é comum. As folhas são consumidas cruas ou são feitos chas para tratar diabetes, hipertensão, reumatismo, doenças relacionadas ao câncer, inflamação, dores estomacais, úlceras e também para revitalização do corpo (ABDUL-WAHAB *et al.*, 2012). As folhas de *P. grandifolia* também são utilizadas tradicionalmente na Malásia, sendo relatado seu uso no tratamento de câncer, hipertensão

arterial, diabetes mellitus, doenças reumáticas e inflamação, dor de cabeça, dermatite atópica e hemorroidas.

Já nas Américas, há relato da utilização de folhas de *P. bleo* e *P. grandifolia* no Panamá para o tratamento de problemas gastrointestinais e de edemas, respectivamente (SIM *et al.*, 2010).

No Brasil, *P. gradifolia* e *P. aculeata* são popularmente conhecidas como ora-pro-nóbis e suas folhas são empregadas na culinária regional. Na medicina tradicional são usadas como emolientes, por conta do alto conteúdo de mucilagem (FARAGO *et al.*, 2004). Além disso, os frutos da *P. grandifolia* são tidos como expectorantes e antissifilíticos (TURRA *et al.*, 2007).

Trabalhos têm mostrado que a presença vitamina E, fitona e 2,4-ditert-butilfenol em folhas de *P. grandifolia* (MALEK; SIM; WAHAB, 2009) e de dihidroactinidiolide, 2,4-ditert-butilfenol, α-tocopherol e fitol em *P. bleo* apresentaram efeito citotóxico sobre células de carcinoma epidermoide nasofaríngeo humano (KB), carcinoma cervical humano (CasKi), carcinoma do cólon humano (HCT116), carcinoma mamário dependente de hormônio (MCF7) e carcinoma de pulmão humano (A549) (ABD MALEK *et al.*, 2008).

Tan *et al.* (2005) observaram significante atividade citotóxica das folhas de *P. bleo* sobre as células T47D. Já Er *et al.* (2007) observaram que os extratos aquosos e metanólico das folhas de *P. bleo* não apresentaram efeito significativo antiproliferativo contra as células neoplásicas mamárias de ratos (4T1), não sendo condizente com o argumento utilizado por comunidades da Malásia, de que as folhas são utilizadas para o tratamento do câncer.

Em estudo com o extrato bruto etanólico de folhas de *P. aculeata* foi observado que esse promoveu melhora significativa vascular, fibroblástica e na reepitelização de feridas cutâneas experimentais em ratos (SARTOR *et al.*, 2010). Outro estudo realizado com extratos de *P. aculeata* investigou a atividade tópica de cicatrização de géis contendo o extrato metanólico (ME) e a fração hexânica (HF) das folhas desta planta em modelo de cicatrização de feridas excisional em camundongos (PINTO *et al.*, 2016). Os resultados mostraram que tanto HF como ME aceleraram acentuadamente a cicatrização das feridas da pele; no entanto, a atividade do HF foi mais evidente, pois essa fração induziu o aumento da taxa de fluxo sanguíneo e deposição de colágeno quando comparado estatisticamente ao veículo. Os camundongos tratados com HF e ME também apresentaram menos fibroplasia, vasos sanguíneos e células inflamatórias no último dia de experimento, o que indicou processo de cicatrização mais avançado.

#### 2.2.2 Pereskia grandifolia Haw.

Pereskia grandifolia, ou ora-pro-nobis (OPN) é considerada Planta Alimentícia Não Convencional (PANCS) nos documentos oficiais brasileiros desde 2002 (BRASIL, 2010). Entretanto, sua utilização como PANC é restrita a algumas cidades mineiras, sendo *P. aculeata* bem mais conhecida e consumida.

Pereskia *grandifolia* Haw. é uma planta cuja utilização é principalmente ornamental e alimentícia, sendo utilizada para criar pratos culinários (como saladas, farinhas, tortas, etc.) e remédios como anti-inflamatórios, cicatrizantes e antitumorais. Rosa e Souza (2003) destacam que ora -pro-nóbis contém altas taxas de minerais em sua composição, sobretudo sais, além de altos índices de fibras e de ferro, sendo usada também no tratamento de anemias.

Pereskia grandifolia é uma planta de fácil propagação, rápido crescimento e baixa incidência de pragas e doenças, adaptada a diferentes tipos de climas e solos (QUEIROZ, 2012). Possui flores hermafroditas, de cor geralmente rosa ou rosa-escuro, nectaríferas e/ou produtoras de pólen. É nativa da América do sul, e quanto à distribuição geográfica em território nacional, a espécie se concentra nas regiões nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Piauí), sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e sul (Paraná, Santa Catarina) (TAYLOR et al., 2015).

A espécie *P. grandifolia* Haw apresenta flores em pequenos cachos, lembrando rosas, e folhas, no geral, de tamanho grande, o que, possivelmente, está relacionado ao seu nome específico (Figura 2). Também é conhecido como cacto de rosa ou *Rhodocactus grandifolia*. É um arbusto ou pequena árvore, de 2 a 5 m de altura, com um tronco marrom acinzentado com até 20 cm de diâmetro. Os espinhos variam do preto ao marrom e seu número em cada aréola aumenta gradualmente com a idade. Suas folhas são comestíveis variam em tamanho de 9 a 23 cm de comprimento e as formas variam de elípticas a ovadas e obovadas-lanceoladas (FARAGO *et al.*, 2004; SOUZA, 2014).

a b

Figua 2 - Pereskia grandifolia Haw (ora-pro-nóbis). a) folha; b) fruto; c) flores.

Fonte: Do autor (2021).

#### 2.2.3 Composição química de *Pereskia grandfolia* Haw

A ora-pro-nóbis tem sido estudada principalmente em relação às características químicas das folhas. Para os caules e frutos os estudos são restritos e para raízes, nenhum relato foi encontrado. Na literatura também foram encontradas poucas referências vinculando as características químicas ao manejo e aos fatores ambientais como em trabalho com plantas cultivadas em função de sombreamentos (MORAES *et al.*, 2011), em diferentes substratos (GUIMARÃES *et al.*, 2010) e na produção de mudas em função de lâminas de irrigação (VIEIRA *et al.*, 2011). Atribui-se à Almeida Filho e Cambraia (1974) o primeiro estudo científico acerca do valor nutritivo das folhas da OPN, com destaque para alto teor de proteínas, alta fração proteica digestível, presença de aminoácidos essenciais e proporcionalidade adequada entre eles.

Dayrell e Vieira (1977a, 1977b) analisaram o concentrado proteico de folhas de OPN, para o qual consideraram a análise de aminoácidos comparável ao padrão de referência da FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação), já há resultados de pesquisas indicando potencial de melhoria na qualidade nutricional e/ou sensorial de produtos formulados com a inclusão de OPN, na forma de farinhas (folhas secas moídas) ou mesmo folhas frescas, (ALMEIDA; CORRÊA, 2012). Existem poucos relatos dessa espécie de *Pereskia grandifolia* Haw, até para uso alimentar.

Mesmo sendo nativa do Brasil, *P. grandifolia* é ainda uma planta pouco conhecida e estudada, mas com grande potencial, podendo ser comparada a *P. aculeata* que é também conhecida por OPN e cujos estudos têm ampliado com avanços nutricionais, mas sem expansão comercial farmacêutica.

Investigações acerca da constituição química das folhas da OPN já permitiram a caracterização de polissacarídeos (SIERAKOWSKI et al., 1987), aldoses (SIERAKOWSKI et al., 1987), aldoses (SIERAKOWSKI et al., 1987).

al., 1990), esteróis (SALT; TOCKER; ADLER, 1987), aminoácidos (ALBUQUERQUE; SABAA-SRUR; FREIMAN, 2001), luteína (NACHTIGALL *et al.*, 2007) e ausência de alcaloides alucinógenos, embora contenha tiramina, substância precursora de muitos deles (DOETSCH; CASSADY; MCLAUGHLIN, 1980). Os aminoácidos sulfurados são os de menor contribuição para constituição proteica das folhas da OPN, as quais possuem também alto teor de cinzas, o que faz da OPN, possivelmente, desmineralizante para o solo (ALBUQUERQUE; SABAA-SRUR; FREIMAN, 2001).

Biopolímeros comestíveis formados por arabinogalactanos complexados com metais, obtidos de folhas de OPN, fazem-nas, uma fonte potencial de aditivo para indústria alimentícia e farmacêutica (MERCÊ *et al.*, 2001). A composição centesimal de folhas de OPN também foi determinada (GIRÃO *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2010; TAKEIT *et al.*, 2009) em plantas sem condição de cultivo especificado, em plantas cultivadas em diferentes substratos (GUIMARÃES *et al.*, 2010), em plantas jovens cultivadas em função de níveis de luz solar direta (MORAES *et al.*, 2011) e em análise de diferentes matrizes de OPN em folhas apicais e basais (MAGALHÃES *et al.*, 2011). Já há resultados de pesquisas indicando potencial de melhoria na qualidade nutricional e/ou sensorial de produtos formulados com a inclusão de OPN, na forma de farinhas (folhas secas moídas) ou mesmo folhas frescas, em massas de macarrão (ROCHA *et al.*, 2008; WANG *et al.*, 1996) e bolos (ROSA *et al.*, 2011).

#### 2.3 Atividade antioxidante e antimicrobiana de Pereskia sp.

A importância de descobrir novos antioxidantes seguros e eficazes é de considerável interesse em medicina preventiva. Antioxidantes são substâncias que retardam ou previnem significativamente a oxidação de lipídios ou outras moléculas, ao inibirem a iniciação ou propagação da reação de oxidação em cadeia, além de prevenirem ou repararem danos ocasionados às células pelas espécies reativas de oxigênio.

Quantidade substancial de evidências tem indicado o papel-chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, declínio do sistema imune, doenças cardiovasculares e disfunções cerebrais. Assim, antioxidantes que possam suprimir ou sequestrar os radicais livres apresentam elevado potencial terapêutico em prevenir doenças que apresentam estes radicais (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

A oxidação de ácidos graxos insaturados nas membranas biológicas leva à diminuição na fluidez (DOBRESTOVA *et al.*, 1977), ruptura da estrutura da membrana e alterações da

função celular (MACHLIN; BENDICH, 1987; SLATER *et al.*, 1987). Danos devidos à peroxidação lipídica estão associados com carcinogênese (YAGI, 1987) e outras doenças (GAREWAL, 1997), assim, a inibição da peroxidação da membrana tem efeito protetor contra certos cânceres (ROUSSEAU; DAVISON; DUNN, 1992).

Turra *et al.* (2007), ao avaliarem os extratos brutos das folhas de *P. grandifolia*, nas concentrações de 100 e 1.000 g mL-1, na presença de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil), observaram que, na concentração de 1.000 g mL<sup>-1</sup>, a capacidade de neutralização dos radicais livres de DPPH variou de 10,0% a 31,5%, enquanto, na concentração de 100 g mL<sup>-1</sup>, a capacidade de inibição variou de 3,5% a 5,8%. Tais autores destacam que esta planta não atuou como eficaz agente antioxidante. Nenhum dos extratos avaliados apresentou atividade antimicrobiana para as cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa e Candida albicans*.

Philip *et al.* (2009) observaram que nenhum dos extratos de *P. grandifolia*, nas concentrações de 50 e 500 mg mL<sup>-1</sup>, demonstrou atividade contra a *Escherichia coli*. Somente o extrato acetato de etila, na concentração de 500 mg mL<sup>-1</sup>, mostrou atividade antimicrobiana contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.

#### REFERÊNCIAS

ABDELWAHAB, S. I. Anticancer, antioxidant and antibacterial activities of different extracts of Pereskia grandifolia Haw. (Cactaceae). **Applied Science Branch**, New York, v. 2, n. 1, p. 20-27, 2013.

ABD MALEK, S. N. *et al.* Cytotoxic activity of *Pereskia bleo (Cactaceae)* against selected human cell lines. **International Journal of Cancer Research**, New York, v. 4, n. 1, p. 20-27, 2008.

ABDUL-WAHAB, I. R. *et al.* Anti-nociceptive activity of Pereskia bleo Kunth.(Cactaceae) leaves extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 144, n. 3, p. 741-746, Dec. 2012.

ALBUQUERQUE, M. G. P. T.; SABAA-SRUR, A. U. O.; FREIMAN, L. O. Composição centesimal e escore de amino-ácidos em três espécies de ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill., P. bleu, P. pereskia (L) Karsten). **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 7-12, 2001.

ALMASSY JÚNIOR, A. A. *et al.* **Folhas de chá**: plantas medicinais na terapêutica humana. Viçosa: Ed. UFV, 2005. 233 p.

ALMEIDA FILHO, J.; CAMBRAIA, J. Estudo do valor nutritivo do "Ora-Pro-Nobis". **Revista Ceres**, Viçosa, v. 21, n. 114, p. 105-111, 1974.

ALMEIDA, M. E. F. de; CORRÊA, A. D. Utilização de cactáceas do gênero Pereskia na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 42, n. 4, p. 751-756, abr. 2012.

ANDRADE, S. F. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive activities of extract, fractions and populnoic acid from bark wood of Austroplenckia populnea. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 109, n. 3, p. 464-471, Feb. 2007.

ANDROUAIS, A. **2015 Annual Report:** to discover and share knowledge about plants and their environment in order to preserve and enrich life. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 2016. 20 p.

ARIAS, S.; PÉREZ, M. E. V. Diversidad y distribución de las Cactáceas en Guatemala. *In:* CANO, E. (Ed.). **Biodiversidad de Guatemala.** Guatemala: Universidad del Valle de Guatemala, 2006. p. 229-238.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, fev. 2006.

BARROS, K. N. de *et al.* Desenvolvimento de uma pomada contendo extrato de Pereskia aculeata. *In:* ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6., 2009, Maringá. **Anais** [...]. Maringá: Cesumar, 2010. p. 1-5.

- BARROS, K. N. de *et al.* Desenvolvimento de uma pomada contendo extrato de pereskia aculeata. *In:* ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6., 2009, Maringá. **Anais** [...]. Maringá: Cesumar, 2010. p. 1-5.
- BLOODWORTH, A. J.; EGGELTE, H. J. Reassignment of configurations for 5-bromo-2,3-dioxabicyclo[2.2.1]heptanes and its mechanistic implications. **Tetrahedron Letters**, Elmsford, v. 22, n. 2, p. 169–172, 1981.
- BRANDÃO, M. G. L. *et al.* Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 408-420, set. 2006.
- BRASIL. Decreto nº 7.272, de 25 de agosto de 2010. Regulamenta a Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006, que cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional PNSAN, estabelece os parâmetros para a elaboração do Plano Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 ago. 2010.
- BUTTERWORTH, C. A.; WALLACE, R. S. Molecular phylogenetics of the leafy cactus genus Pereskia (Pereskioideae). **Systematic Botany**, Kent, v. 30, n. 4, p. 800–808, Oct./Dec. 2005.
- CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 78, supl. 1, p. 98-106, 2008.
- CHEESEMAN, K. H.; SLATER, T. F. An introduction to free radical biochemistry. **British Medical Bulletin**, Edinburgh, v. 49, n. 3, p. 481-493, 1993.
- DAYRELL, M. S.; VIEIRA, E. C. Leaf protein concentrate of the cactaceae Pereskia aculeata Mill. I. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 15, n. 5, p. 529-537, 1977a.
- DAYRELL, M. S.; VIEIRA, E. C. Leaf protein concentrate of the cactaceae Pereskia aculeata Mill. II. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 15, n. 5, p. 539-545, 1977b.
- DOBRESTOVA, G. E. *et al.* The increase of phospholipid bilayer rigidity after lipid peroxidation. *FEBS Letters*, Amsterdam, v. 84, n. 1, p. 125-128, Dec. 1977.
- DOETSCH, P. W.; CASSADY, J. M.; MCLAUGHLIN, J. L. Cactus alkaloids: XL.: identification of mescaline and other b-phenethylamines in Pereskia, Pereskiopsis and islaya by use of fluorescamine conjugates. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 189, p. 79-85, 1980.
- DUARTE, M. C. T. *et al.* Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 97, n. 2, p. 305-311, Feb. 2005.
- DUARTE, M. R.; HAYASHI, S. S. Estudo anatômico de folha e caule de *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 15, n. 2, p. 103-109, jun. 2005.

- EDWARDS, E. J.; DIAZ, M. Ecological physiology of Pereskia guamacho, a cactus with leaves. **Plant, Cell and Environment**, Hoboken, v. 29, n. 2, p. 247-256, Feb. 2006.
- EDWARDS, E. J.; DONOGHUE, M. J. Pereskia and the orgin of the cactus lifeform. **The American Naturalist**, Salem, v. 167, n. 6, p. 777-793, June 2006.
- ENOCH, S.; LEAPER, D. J. Basic science of wound healing. **Surgery**, Oxford, n. 6, p. 31–37, 2008.
- ER, H. M. *et al.* Anti-proliferative and mutagenic activities of aqueous and methanol extracts of leaves from Pereskia bleo (Kunt) DC (Cactaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 113, n. 3, p. 448-456, Sept. 2007.
- FARAGO, P. V. *et al.* Análise morfo-anatômica de folhas de *Pereskia grandifolia* Haw., Cactaceae. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 23, n. 3, p. 323-327, Apr. 2004.
- FREITAS, P. C. D. de. Atividade antioxidante de espécies medicinais da família Piperaceae: Pothomorphe umbellata (L) Miq e Piper regnellii (Miq) CDC. 1999. 115 p. Tese (Doutorado em Fármaco e Medicamentos) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.
- FRYKBERG, R. G.; BANKS, J. Challenges in the treatment of chronic wounds. **Advances in Wound Care**, New Rochelle, v. 4, n. 9, p. 560–582, Sept. 2015.
- GAREWAL, H. S. **Antioxidants and disease prevention**. Boca Raton: CRC Press, 1997. 240 p.
- GAREWAL, H. S.; SHAMDAS, G. J. Intervention trials with beta-carotene in precancerous conditions of the upper aerodigestive tract. *In:* BENDICH, A.; BUTTERWORTH JÚNIOR, C. E. (Ed.). **Micronutrients in health and in desease prevention**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 127-140.
- GIRÃO, L. V. C. *et al.* Avaliação da composição bromatológica de ora-pro-nóbis. *In:* CONGRESSO DE OLERICULTURA, 43., 2003, Recife, PE. **Anais** [...]. Recife: ABH, 2003. p. 1-4.
- GOH, K. L. **Malaysian herbaceous plants millennium**. Advanco Press: Malaysia, 2000. 260 p.
- GONZALEZ, M. J. Lipid peroxidation and tumor growth: an inverse relationship. *Medical Hypotheses*, Penrith, v. 38, n. 2, p. 106-110, June 1992.
- GUIMARÃES, H. E. T. *et al.* Cultivo e avaliação do teor proteico das folhas de Pereskia aculeata. *In:* ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR, 6., 2010, Maringá. **Anais** [...]. Maringá: Cesumar, 2010. p. 1-5.
- GURTNER, G. C. *et al.* Wound repair and regeneration. **Nature**, London, v. 453, n. 7193, p. 314–321, May 2008.

- HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical Research Communications*, Chur, v. 9, n. 1, p. 1-32, 1990.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Clarendon Press, 1989. 543 p.
- HENDRY, E. R. *et al.* Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 64, n. 6, p. 1219-1225, Dec. 2009.
- JANSSEN, A. M.; SCHEFFER, J. J. C.; SVENDSEN, A. B. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Medica*, Stuttgart, v. 53, n. 5, p. 395-398, Oct. 1987.
- KAY, M. M. *et al.* Oxidation as a possible mechanism of cellular aging: Vitamin E deficiency causes premature aging and IgG binding to erythrocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 83, n. 8, p. 2463-2467, Apr. 1986.
- KINUPP, V. F. Plantas alimentícias alternativas no Brasil: uma fonte complementar de alimento e renda. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 1., 2006, Porto Alegre. **Resumos** [...]. Porto Alegre: [s.n.], 2006. p. 333-336.
- KUMAR, A. *et al.* Biodeterioration of some herbal raw materials by storage fungi and aflatoxin and assessment of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and its components as antifungal. **International Biodeterioration & Biodegradation**, Barking, v. 63, n. 6, p. 712-716, 2009.
- LEUENBERGER, B. E. Pereskia, Maihuenia, and Blossfeldia: taxonomic history, updates, and notes. **Haseltonia**, [S.l.], n. 14, p. 54–93, Dec. 2008.
- LIMA, M. R. F. *et al.* Antibacterial activity of some Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 105, n. 1-2, p. 137-147, Apr. 2006.
- MACHLIN, L. J.; BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 1, n. 6, p. 441-445, Dec. 1987.
- MAGALHÃES, R. de O. *et al.* Avaliação físico-química de folhas de ora-pro-nóbis obtidas de plantas catalogadas no município de Uberlândia, MG. *In:* SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 2011, Uberlândia, MG. **Anais** [...] Uberlândia: IFTM, 2011. p. 1-4.
- MALEK, S. N. A.; SIM, K. S.; WAHAB, N. A. Phytochemical and cytotoxic investigations of Pereskia grandifolia Haw. (Cactaceae) leaves. **Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 9, n. 5, p. 488-493, May 2009.
- MARTÍNEZ-GUERRA, M. J. *et al.* Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80 porciento de Schinus terebinthifolius Raddi (copal)/23. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, La Habana, v. 5, n. 1, p. 23-25, Enero/Abr. 2000.

- MERCÊ, A. L. *et al.* Complexes of arabinogalactan of Pereskia aculeata and Co2+, Cu2+, Mn2+ e Ni2+. **Bioresource Technology**, Barking, v. 76, n. 1, p. 29-37, Jan. 2001.
- MEDEIROS, K. C. P. *et al.* Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: eucalyptus globulus labill, peltodon radicans pohl and schinus terebinthifolius radd in inflammatory models. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 23-28, mar. 2007.
- MORAES, C. M. dos S. *et al.* Composição centesimal de folhas de ora-pro-nóbis cultivada sob níveis de luminosidade por sombreamento artificial. *In:* SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 2011, Uberlândia, MG. **Anais** [...] Uberlândia: IFTM, 2011. p. 1-4.
- MORAN, V. C.; ZIMMERMANN, H. G. Biologicalcontrol of jointed cactus, Opuntia aurantiaca (Cacta-ceae), in South Africa. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 37, n. 1-3, p. 5–27, Oct. 1991.
- NACHTIGALL, A. M. *et al.* Determinação do teor de luteína em hortaliças. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 2, p. 181-192, jul./ago. 2007.
- OGBURN, R. M.; EDWARDS, E. J. Anatomical variation in Cactaceae and relatives: trait lability and evolucionary innovation. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 96, n. 2, p. 391-408, Feb. 2009.
- PAZYAR, N. *et al.* Skin wound healing and phytomedicine: a review. **Skin Pharmacology and Physiology**, Basel, v. 27, n. 6, p. 303–310, 2014.
- PHILIP, K. *et al.* Antimicrobial activity of some medicinal plants from Malaysia. **American Journal of Applied Sciences**, Vails Gate, v. 6, n. 8, p. 1613-1617, 2009.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, July 2000.
- PINTO, W. de J. *et al.* Atividade motora em camundongos submetidos a tratamento prévio com cloreto de magnésio (MgCl2) e clonazepam. *Revista* de *Ciencias* Medicas e Biologicas, Salvador, v. 15, n. 1, p. 62-67, jan./abr. 2016.
- PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review. *LWT* Food Science and Technology, London, v. 40, n. 1, p. 1-11, Jan. 2007.
- QUEIROZ, C. R. A. dos A. Cultivo e composição química de Ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill.) sob déficit hídrico intermitente no solo. 2012. 144 p. Tese (Doutorado em Agronomia Ciência do Solo) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2012. Disponível em: http://hdl.handle.net/11449/100813. Acesso em: 14 ago. 2021.
- ROCHA, D. R. da C. *et al.* Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 459-465, out./dez. 2008.

- ROSA, L. *et al.* Avaliação físico-química de bolo com folhas de ora-pro-nóbis in natura. *In:* SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 2011, Uberlândia, MG. **Anais** [...] Uberlândia: IFTM, 2011. p. 1-4.
- ROSA, S. M. da; SOUZA, L. A. de. Morfo-anatomia do fruto (hipanto, pericarpo e semente) em desenvolvimento de Pereskia aculeata Miller (Cactaceae). **Acta Scientarium Biological Sciences**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 415-428, 2003.
- ROUSSEAU, E. J.; DAVISON, A. J.; DUNN, B. Protection by β-carotene and related compounds against oxygen-mediated cytotoxicity and genotoxicity: implications for carcinogenesis and anticarcinogenesis. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 13, n. 4, p. 407-433, 1992.
- SAHU, N. P.; BANERJI, N.; CHAKRAVARTI, R. N. A new saponin of oleanolic-acid from Pereskia grandifolia. **Phytochemistry**, Oxford, v. 13, p. 529-530, 1974.
- SALT, T. A.; TOCKER, J. E.; ADLER, J. H. Dominance of  $\Delta 5$  -sterols in eight species of the cactaceae. **Phytochemistry**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 731-733, 1987.
- SARTOR, C. F. P. *et al.* Estudo da ação cicatrizante das folhas de Pereskia acuelata. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 3, n. 2, p. 149-154, maio/ago. 2010.
- SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. *In:* SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Ed.). **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 3. ed. Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, 2000. p. 301-332.
- SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, jun. 2004.
- SIERAKOWSKI, M. R. *et al.* Location of O-acetyl groups in the heteropolysaccharide of the cactus Pereskia aculeata. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 201, n. 2, p. 277-284, 1990.
- SIERAKOWSKI, M. R. *et al.* Some structural features of a heteropolysaccharide from the leaves of the cactus Pereskia aculeata. **Phytochemistry**, Oxford, v. 26, n. 6, p. 1709-1713, 1987.
- SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **The** *American Journal* **of** *Medicine***,** New York, v. 91, n. 3C, p. 31-38, 1991. Supplement.
- SIKORA, E. *et al.* The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 55-59, Mar. 2008.
- SILVA JÚNIOR, A. A. da *et al*. Pão de ora-pro-nóbis: um novo conceito de alimentação funcional. *In:* JORNADA CATARINENSE DE PLANTAS MEDICINAIS, 6., 2010, Florianópolis, SC. **Anais** [...]. Florianópolis, SC: UFSC, 2010. p. 35-40.
- SIM, K. S. *et al.* Acute oral toxicity of Pereskia bleo and Pereskia grandifolia in mice. **Pharmacognosy Magazine**, Bangalore, v. 6, n. 21, p. 67-70, Jan./Mar. 2010.

- SLATER, T. F. *et al.* Free radical mechanisms in relation to tissue injury. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 46, n. 1, p. 1–12, Feb. 1987.
- SONG, L. *et al.* Antifungal effect and possible mechanism of curcumin mediated photodynamic technology against *Penicillium expansum*. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 167, n. 3, p. 111234, Sept. 2020.
- SOUZA, L. F. Aspectos fitotécnicos, bromatológicos e componentes bioativos de Pereskia aculeata, Pereskia grandifolia e Anredera cordifolia. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Faculdade de Agronomia, *Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em:* http://hdl.handle.net/10183/110057. Acesso em: 14 ago. 2021.
- TAKEIT, C. Y. *et al.* Nutritive evaluation of a non-convencional leafy vegetable (Pereskia aculeata Miller). **International Journal of Food Science and Technology**, Basingstoke, v. 60, p. 148-160, 2009. Supplement 1.
- TAN, M. L. *et al.* Methanolic extract of Pereskia bleo (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 96, n. 1, p. 287-294, Jan. 2005.
- TAYLOR, N. P. *et al.* Cactaceae in lista de espécies da flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB 1636. Acesso em: 14 ago. 2021.
- TURRA, A. F. *et al.* Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de Pereskia grandifolia Haworth (Cactaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 9-14, jan./abr. 2007.
- UBBINK, D. T. et al. Evidence-based care of acute wounds: a perspective. **Advances in Wound Care**, New Rochelle, v. 4, n. 5, p. 286–294, May 2015.
- VIEIRA, H. M. P. *et al.* Uso de composto de resíduo agroindustrial e lâminas de irrigação na formação de mudas de Pereskia aculeata Mill. em ambiente protegido. *In:* SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 1., 2011, Uberlândia, MG. **Anais** [...] Uberlândia: IFTM, 2011. p. 1-4.
- WERKMAN, C. *et al.* Aplicações terapêuticas da Punica granatum L (romã). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 10, n. 3, p. 104-111, 2008.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **World health statistics 2017**: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva: World Health Organization, 2017. 108 p.
- YAGI, T. Inhibition of NADH-ubiquinone reductase activity by N, N`-dicyclohexylcabodiimide and correlation of this inhibition with the occurrence of energy coupling site 1 in various organisms. **Biochemistry**, Washington, v. 26, n. 10, p. 2822–2828, May 1987.

ZAREISEDEHIZADEH, S.; TAN, C. H.; KOH, H. L. A review of botanical characteristics, traditional usage, chemical components, pharmacological activities, and safety of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. **Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Thousand Oaks, n. 7, p. 326107, June 2014.

ZENI, A. L. B. *et al.* Utilização de plantas medicinais como remédio caseiro na Atenção Primária em Blumenau, Santa Catarina, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, v. 22, n. 8, p. 2703-2712, ago. 2017.

#### **SEGUNDA PARTE**

#### **ARTIGO**

# SUPRESSÃO DE OXIGÊNIO SINGLETE, COMPOSIÇÃO MINERAL E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ORA-PRO-NÓBIS (Pereskia grandifolia Haw)

#### **RESUMO**

As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) vêm sendo bastante estudadas buscando a comprovação científica do conhecimento popular sobre elas. Entre as PANC destaca-se a Pereskia grandifolia Haw. (ora-pro-nóbis), uma espécie com alto valor nutricional e rica em compostos bioativos. O objetivo com presente estudo foi contribuir com dados sobre os teores de proteína e minerais em P. grandifolia Haw, comparando os constituintes presentes na folha, com demais partes da planta. Para isso, foram utilizadas a técnica de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF) e análise elementar pela queima em forno de combustão. Outro objetivo neste estudo foi avaliar o potencial antioxidante e antimicrobiano de extratos obtidos de folhas da P. grandifolia Haw, sendo estes de polaridade diferente de acordo com o solvente utilizado. A atividade antioxidante de cada extrato foi avaliada utilizando-se a técnica de espectroscopia de UV-vis e de Fluorescência, que mede a supressão de oxigênio singlete, uma substância reativa que pode levar ao estresse oxidativo das células. A ação antimicrobiana foi realizada através da difusão em disco e medida do halo de inibição. Os resultados obtidos por EDXRF mostraram maior quantidade do elemento K (potássio) nas flores; Ca (cálcio) e Sr (estrôncio) nas folhas; S (enxofre), Fe (ferro), P (fósforo) e Zn (zinco) no caule; Cu (cobre) e Co (cobalto) nas raízes; Rb (rubídio) e Tb (térbio) nos frutos. Através da análise elementar por queima observou-se maior quantidade de carbono e hidrogênio nas raízes, e nitrogênio no caule. Maiores quantidades de proteínas foram encontradas no caule, nas folhas e nos frutos. Os extratos obtidos das folhas apresentaram ação supressora de oxigênio singlete em diferentes níveis, podendo ser utilizados como agentes antioxidantes. Entretanto, o extrato obtido com clorofórmio se destacou dentre todos. Em relação à atividade antimicrobiana, os extratos e concentrações testadas não foram eficientes contra os microrganismos avaliados. A partir dos resultados foi possível conhecer melhor o potencial nutritivo da Pereskia grandifolia Haw, já que os elementos encontrados são considerados essenciais e benéficos para a saúde. Além disso, destaca-se a importância da polaridade dos extratos e a sua influência no potencial antioxidante da planta.

**Palavras-chave:** Ora-pro-nóbis. Análise quantitativa. Nutrientes. Espectroscopia. Polaridade. Antioxidante.

#### **ABSTRACT**

Unconventional Food Plants (UFP) have been extensively studied seeking scientific proof of popular knowledge about them. Among the UFP, the *Pereskia grandifolia* Haw. (ora-pro-nobis) stands out, a species with high nutritional value and rich in bioactive compounds. The aim of the present study was to contribute data on protein and mineral contents in P. grandifolia Haw, comparing the constituents present in the leaf, with other parts of the plant. For this, the technique of Energy Dispersive X-ray Fluorescence (EDXRF) and elemental analysis by burning in a combustion oven were used. Another objective of the study was to evaluate the antioxidant and antimicrobial potential of extracts obtained from P. grandifolia Haw leaves, with different polarity according to the solvent used. The antioxidant activity of each extract was evaluated using the UV-vis and Fluorescence Spectroscopy technique, which measures the suppression of singlet oxygen, a reactive substance that can lead to oxidative stress in cells. The antimicrobial action was performed through disk diffusion and measurement of the inhibition halo. The results obtained by EDXRF showed a greater amount of the element K (potassium) in the flowers; Ca (calcium) and Sr (strontium) in leaves; S (sulfur), Fe (iron), P (phosphorus) and Zn (zinc) in the stem; Cu (copper) and Co (cobalt) in the roots; Rb (rubidium) and Tb (terbium) in fruits. Through the elemental analysis by burning it was observed a greater amount of carbon and hydrogen in the roots, and nitrogen in the stem. Greater amounts of proteins were found in the stem, leaves and fruits. The extracts obtained from the leaves showed a singlet oxygen suppression action at different levels, and can be used as antioxidant agents. However, the extract obtained with chloroform stood out among all. Regarding the antimicrobial activity, the tested extracts and concentrations were not efficient against the evaluated microorganisms. From the results, it was possible to better understand the nutritional potential of Pereskia grandifolia Haw, since the elements found are considered essential and beneficial to health. Furthermore, the importance of the polarity of the extracts and their influence on the plant's antioxidant potential is highlighted.

**Keywords:** Ora-pro-nóbis. Quantitative analysis. Nutrients. Spectroscopy. Polarity. Antioxidant.

#### 1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui a maior biodiversidade vegetal do planeta, onde são encontradas diferentes espécies de plantas, sendo usadas para fins alimentícios ou não; medicinais ou ornamentais. Entre essas plantas, estão as PANC - plantas alimentícias não convencionais. As PANC apresentam um grande potencial nutricional e, quando utilizadas na dieta, podem promover benefícios à saúde, além de fortalecer a biodiversidade local (JACOB, 2020).

Entre essas plantas não convencionais está a ora-pro-nóbis, pertencente ao gênero *Pereskia* da família *Cactaceae*. Ora-pro-nóbis, em latim, significa "rogai por nós" e é o nome popular das espécies *Pereskia aculeata* Mill. e *Pereskia grandifolia* Haword, planta rústica bastante conhecida na medicina popular devido às suas propriedades emoliente, anti-inflamatória e de cicatrização de feridas (ZAREISEDEHIZADEH; TAN; KOH, 2014). Essa planta também tem alto teor de proteínas quando comparada às outras plantas.

Embora algumas PANC estejam ganhando espaço no mercado, a maioria delas é desconhecida. Portanto, o estudo científico dessas plantas se faz cada vez mais necessário, já que podem constituir uma fonte de renda alternativa na agricultura familiar, influenciar a alimentação e a cultura de populações tradicionais, e despertar interesse de indústrias alimentícias e farmacêuticas. Em relação a ora-pro-nobis, esta tem sido estudada em função de suas características químicas principalmente de suas folhas. Para os caules, frutos, flores e raízes os estudos são escassos. Assim, são necessárias investigações acerca da constituição química da planta como um todo, incluindo a quantidade de micro e macronutrientes. Os micronutrientes são os minerais e as vitaminas; o organismo precisa dos micronutrientes em quantidade menor se comparado aos macronutrientes. Sua principal função é facilitar as reações químicas que ocorrem no corpo, além de contribuir para a produção de hormônios, a formação de dentes e ossos e a regulação da pressão sanguínea. Já os macronutrientes são nutrientes que ajudam a fornecer energia e o organismo precisa deles em grande quantidade; são eles a água, os carboidratos, as gorduras e proteínas. Um ponto relevante, quando se trata de hortaliças não convencionais, está relacionado aos teores de minerais os quais são, geralmente, significativamente maiores que em plantas cultivadas (VIANA et al., 2015).

Estas hortaliças podem apresentar também compostos com função antioxidante e biomoléculas cujo efeito protetor é atribuído, em parte, à presença de fibra alimentar, ácidos graxos essenciais, algumas vitaminas e minerais, compostos fenólicos e carotenoides, além de outros (BENEVIDES *et al.*, 2013). A função antioxidante é importante devido às espécies reativas de oxigênio (EROS) e radicais livres que podem ser altamente prejudiciais e

desempenham papeis importantes no envelhecimento e na patogênese de diversas doenças; ERO são potencializadas pelo estilo de vida e hábitos alimentares pouco saudáveis, que levam desequilíbrio chamado estresse oxidativo (EL-GUEZZANE etal., NARAYANASAMY; RAGAVAN, 2012). As EROS, como o oxigênio singlete (O<sub>2</sub>), o ânion superóxido  $(O_2^-)$ , o radical hidroxila (·OH) e o peróxido de hidrogênio  $(H_2O_2)$  são subprodutos de reações biológicas ou fatores exógenos e causam danos oxidativos nas células vivas, assim o excesso de EROs deve ser eliminado por um antioxidante, podendo esses serem de fontes naturais, como a vitamina C e E, e os metabólitos secundários encontrados em algumas plantas (ARASU et al., 2014; VARGAS et al., 2016). Espécies do gênero Pereskia possuem compostos fitoquímicos com atividade antioxidante, entre eles alcaloides, flavonoides, terpenos e taninos (ZAREISEDEHIZADEH; TAN; KOH, 2014). Além disso, alguns trabalhos também demostram potencial antimicrobiano de extratos obtidos das folhas dessa planta (PHILIP et al., 2009; VICENTE et al., 2020).

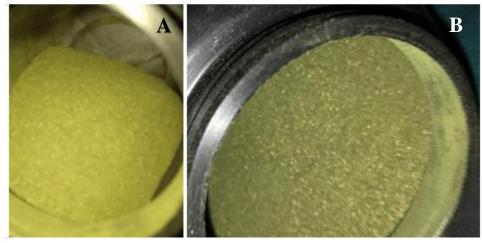
Diante do exposto, e da escassez de estudos relacionados à composição elementar e mineral de plantas não convencionais, o objetivo do presente estudo foi a determinação quantitativa e quali-quantitativa de elementos químicos, contribuindo assim com dados sobre os teores de proteína e minerais em *P. grandifolia* Haw, comparando os constituintes presentes na folha, com demais partes da planta. Além disso, objetivou-se avaliar a supressão do oxigênio singlete, ou seja, a capacidade dos compostos fitoquímicos presentes nos extratos de *P. grandifolia* Haw de impedirem a formação dessa espécie reativa, demonstrando assim, o potencial antioxidante da planta. A atividade antimicrobiana dos extratos também foi avaliada contra diferentes microrganismos: *Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*.

#### 2 MATERIAL E MÉTODOS

#### 2.1 Coleta e preparo da Pereskia grandifolia Haw

O material vegetal foi coletado no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras (21°14′ 07″ S; 44°58′22″ O; 879 m de altitude) no mês de julho de 2018, a exsicata foi depositada no Herbário da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Sendo registrado sob o código PAMG 58224. Após a coleta, o material vegetal foi levado ao laboratório, lavados em água corrente e, posteriormente, em água destilada. Em seguida foi submetida à desidratação em estufa a 40 °C com circulação de ar, onde foi mantida até estabilização do peso. Após a secagem, o material foi pulverizado em moinho (RetschGmbH ®) com crivo de 2 mm e armazenado em frascos de vidro com proteção da luz até o momento das análises. A amostra pode ser observada na Figura 1.

Figura 1 - Material vegetal pulverizado de folhas de *Pereskia grandifolia*. A) material em moinho de 2 mm e B) material pulverizado em almofariz com nitrogênio líquido.



Fonte: Do autor (2021)

#### 2.2 Determinação do pH

Para a determinação do pH, o material vegetal pulverizado foi suspendido em água destilada na concentração de 5% (m/v), aguardado 10 minutos e então realizada a medida. As análises foram realizadas em pH metro digital (GEHAKA, PG 2000) previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 6,86 (BRASIL, 2010). O resultado corresponde à média de três determinações (MUNHOZ *et al.*, 2014).

### 2.3 Análise utilizando a técnica de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDXRF)

A técnica de EDXRF foi realizada no laboratório Multiusuário LIPEMVALE-UFVJM da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina-MG. O equipamento utilizado neste procedimento foi o espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva, modelo EDX 720 (Shimadzu).

A fluorescência de raios X por energia dispersiva é uma técnica analítica multielementar não destrutiva capaz de identificar elementos com número atômico Z maior ou igual a 12, através dos raios X característicos Kα, Kβ ou Lα, Lβ dos elementos que estão presentes em uma amostra particular. Na análise realizada neste trabalho utilizou-se apenas ar atmosférico, restringindo a detecção dos metais compreendidos entre Al<sup>13</sup> e U<sup>92</sup>, sendo neste tipo de análise quali-quantitativa o resultado é expresso em 100% dos elementos detectados entre Al<sup>13</sup> e U<sup>92</sup>. O EDXRF é um aparelho empregado para a determinação quantitativa e qualiquantitativa de elementos químicos em uma ampla gama de amostras. Neste método, o material a ser analisado é atingido com um feixe de Raios X que interage com os átomos da amostra, provocando a ionização das camadas mais internas dos átomos. O preenchimento das vacâncias resultantes, por elétrons mais periféricos, induz a emissão de raios X característicos dos elementos constituintes da amostra. O software utilizado foi o PCEDX, versão 1.11 Shimadzu.

Foram realizadas análises de EDXRF com material vegetal de partes da planta como: raiz, caule/raiz, folhas, caule/flores, flores e frutos.

#### 2.4 Quantificação de C, N e H utilizando a técnica de análise elementar através da queima

Para esta análise, o material já pulverizado em moinho, foi submetido à outra pulverização em almofariz utilizando nitrogênio líquido, posteriormente peneirado em peneira de 0,42 mm de malha.

Para a análise elementar utilizou-se o Analisador elementar LECO® CHNS/O, modelo TruSpec Micro, localizado no Laboratório de Análise Elementar, pertencente ao Laboratório Integrado de Pesquisa Multiusuário dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – LIPEMVALE, Campus JK, UFVJM.

Foram realizadas as análises de Nitrogênio, Carbono e Hidrogênio, utilizando padrões de referência para curvas de calibração. As amostras foram incineradas a 1075 °C em tubo de quartzo para os elementos C, H e N, em que os gases gerados foram quantificados em detector

de infravermelho para C e H, enquanto para o N utilizado um detector térmico. Utilizou-se uma massa em torno de 2,0 mg de amostra para realização das análises.

#### 2.5 Processo de Extração e Rendimento extrativo

Após a desidratação do material vegetal, este foi submetido à moagem. Foram pesados 50 g do material moído a 2 mm e adicionado de solvente extrator em recipiente âmbar. O mesmo foi submetido à agitação ultrassônica por dois ciclos de 30 minutos (Maxsonic D-409XA). Após a agitação, a amostra permaneceu em repouso pelo período de 40 dias. Decorrido este período, o material foi filtrado, e o solvente eliminado por rotaevaporação, a pressão reduzida em temperatura ambiente (25 °C). O processo de extração foi realizado em 6 diferentes solventes (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, etanol e água) em ordem crescente de polaridade. Os extratos foram ressuspendidos (solubilizados) em seus respectivos solventes para a determinação dos espectros de absorção. Os extratos foram utilizados para as análises espectrométricas e microbiológicas.

Os rendimentos extrativos foram determinados por gravimetria, a partir da secagem em estufa, a 105 °C, de 10 mL de cada extrato em cadinhos de porcelana, até peso constante (Farmacopéia Brasileira, 2010). As análises foram realizadas em triplicata.

#### 2.6 Atividade antioxidante

#### 2.6.1 Análises Espectrométricas

As análises espectrométricas foram realizadas no Instituto de Química, no Departamento de Bioquímica – Butantã, na Universidade Estadual de São Paulo.

O equipamento utilizado foi um Espectrofotômetro de laser (Shimadzu - modelo UV-1800. A configuração experimental do equipamento foi constituída de uma fonte de laser (532 nm) usada para estimular as moléculas de fotossensibilizador (Azul de Metileno) que formam estados tripletos e reagem com o oxigênio formando  $^{1}O_{2}$ .

Transientes de decaimento da emissão  $^{1}O_{2}$  a 1270 nm foram obtidos por excitação em 532 nm em solução de azul de metileno em acetonitrila com densidade óptica de 0,263 em 532 nm, na presença de 6 extratos de *P. Grandifolia*.

#### 2.6.2 Técnica de Fluorescência a Laser

Preparou-se solução 2,0 mg/mL de azul de metileno em acetonitrila (como fotossensibilizador para gerar oxigênio singlete, chamado de solução 1). Para leitura recomenda-se 0,2 a 0,3 (absorção) em 532 nm. Preparou-se solução de extrato conforme descrita em solução 1 (2 mg/ 2mL). Foi agitado em vortex e em sonicação 25 °C, 15 minutos até solubilização seguida da leitura no equipamento multifuncional Shimatzo modelo UV-1800. Solução 1 é o padrão, demais são adicionadas em cubetas 2000 μL – D.O. de leitura. Em alíquotas crescentes de 20 em 20 μL até 100 μL Extratos de *P. grandfolia* contendo os solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila, metanol, etanol, aquoso.

O tempo de meia vida da espécie gerado de oxigênio singlete foi determinado pelo ajuste exponencial da curva 1/t (tempo) e concentração. A quantificação foi determinada pela supressão dada pela leitura do laser e aplicando a equação Stern Volmer, utitlizando-se o programa Origin 8,5 obtendo o ângulo da reta e a constante em estudo gerado pela supressão de oxigênio singlete . Usou-se azul de metileno em  $D_2O = 1,90$ . Supressão de oxigênio singlete com azul de metileno e solvente (metanol).

O decaimento de fluorescência foi obtido através da dissolução dos extratos na mistura de azul de metileno nos solventes, obetendo as concentrações demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração volumétrica dos extratos para 2mL de solvente Azul de metileno com acetonitrila, metanol, e água

acetomuna, metanor, e agu				
Concentração volumétrica dos extratos para 2mL de solvente Azul de metileno com				
Acetonitrila.				
Soluto	Concentração (%)			
Hexano	0; 1;2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9.			
Clorofórmio	0; 1;2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9,10.			
Acetato de Etila	0; 1;2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9,10.			
Metanol	0; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35; 40.			
Etanol	0; 1; 2; 5; 10; 15; 20; 25; 50.			
Água	0; 5; 10; 15; 20; 25.			
Concentração volumétrica dos extratos para 2mL de solvente de Azul de metileno com				
Metanol.				
Soluto	Concentração (%)			
Hexano	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
Clorofórmio	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
Acetato de Etila	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
Metanol	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
Água	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
Concentração volumétrica dos extratos para 2mL de solvente de Azul de metileno com água.				
Soluto	Concentração (µL)			
Metanol	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
Etanol	0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.			
<b>'</b>	0 1 2 2 4 5 6 7 0 0 10 15 20 25			

Fonte: Do autor (2021)

#### 2.7 Determinação da atividade antimicrobiana dos extratos

As análises microbiológicas dos extratos foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, no Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG.

0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 15; 20; 25.

As cepas utilizadas no experimento foram *Staphylococcus aureus* GL 8548, *Staphylococcus aureus* ATCC 8702, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117 e ATCC 7644, *Escherichia coli* ATCC 25922, e *Escherichia coli* Enteropatogênica (EPEC) CDC O55. As culturas estoques foram armazenadas em meio de congelamento (glicerol: 15 mL; peptona bacteriológica: 0,5 g; extrato de levedura: 0,3 g; NaCl: 0,5 g; água destilada: 100 mL) e congeladas durante o período de execução do experimento.

A reativação das cepas foi realizada inoculando-se 100 μL da cultura em tubos contendo 10 mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion Broth) com incubação a 37 °C/24h. Os inóculos foram padronizados em cerca de 108 UFC/mL por elaboração de curva de crescimento. Após reativação das cepas, 100 μL das culturas foram transferidas para frascos contendo 500 mL de

TSB (caldo triptona de soja) e incubadas a 37 °C. Alíquotas das culturas foram retiradas periodicamente para determinação da absorbância (D.O. 600nm) e contagem em placas. As placas contendo TSA (Agar triptona de soja) foram incubadas a 37 °C por 24h.

A atividade antimicrobiana dos extratos de *P. grandifolia* foi realizada utilizando método de disco-difusão e microdiluição (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE - CLSI, 2019), ambos com adaptações.

Os extratos foram solubilizados pela adição de 500 mg de pó em solução aquosa de 10% de dimetilsulfóxido (DMSO). Após reativação e padronização dos inóculos, alíquotas de 200 µL foram espalhadas em superfície em TSA, sendo em seguida adicionados discos de papel filtro contendo 5µL de cada extrato. O controle positivo foi realizado pela adição de disco de cloranfenicol (30mg). As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e, após esse período, os halos de inibição formados foram mensurados com auxílio de paquímetro digital.

A concentração mínima bactericida (CMB) dos extratos que apresentaram atividade antimicrobiana foi determinada em seguida. Alíquotas de 150 μL das soluções dos extratos foram adicionadas nas cavidades contendo 150 μL TSB e inoculado 10 μL das culturas padronizadas. Foram avaliadas as concentrações de 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,63 mg/mL. As microplacas foram vedadas e incubadas a 37 °C/24h. Após esse período foi realizado o plaqueamento das culturas de cada poço em TSA com incubação a 37 °C por 24h. Os experimentos foram realizados em triplicata e três repetições.

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 3.1 Análise do pH

Não houve diferença entre os valores de pH entre as diferentes partes da planta seca (Tabela 2).

Tabela 2 - pH em diferentes partes da P. grandifolia Haw.

P.grandifolia	рН
Raiz	7,3
Caule/raiz	6,5
Folha	6,5
Caule/flores	6,6
Flores	6,2
Frutos	6,5
	- 7 -

Fonte: Do autor (2021)

Observou-se valores entre 6,2 a 6,5; exceto a raiz que foi 7,3 levemente alcalina. Dentre as diferentes partes da *Pereskia grandifolia* foi comparado o pH das folhas com resultados das demais partes que é objeto de estudo. O pH do ponto de vista físico-químico do solo pode influenciar as diferentes comunidades microbianas que habitam os solos. Para avaliação microbiológica a temperatura e os valores de pH influenciam a atividade dos complexos enzimáticos microbianos dentre as diversas microbiotas, permitindo a classificação dos microrganismos em acidófilos, neutrófilos ou basófilos de acordo com o pH ótimo de atuação de suas enzimas. Os microrganismos acidófilos são os que preferem valores de pH baixos (ácidos); neutrófilos preferem valores de pH mais próximos da neutralidade e os basófilos preferem valores de pH mais elevados (básicos) (VERMELHO; BASTOS; SÁ, 2007). De acordo com Ferreira e Áquila (2000), valores extremos de pH podem mascarar o efeito fitoterápico dos extratos. O pH microbiologicamente avaliado levemente ácido é favorável, pois mantem o meio estável para uso de fitoterápicos.

### 3.2 Análise por EDXRF

Avaliando os elementos químicos em abundância pela análise de EDXRF (Figura 2 e Tabela 3), em se tratando que neste tipo de análise quali-quantitativa o resultado é expresso em 100% dos elementos detectados entre Al<sup>13</sup> e U<sup>92</sup>, observou-se a presença dos macronutrientes

minerais que são considerados essenciais por fazerem parte da composição orgânica estrutural fundamental para as funções fisiológicas, são eles, cálcio, fósforo, enxofre e potássio.

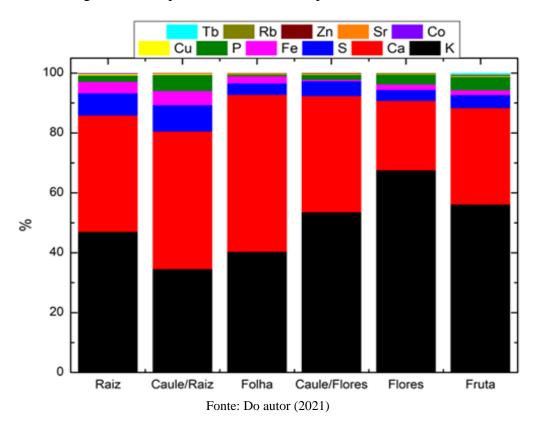


Figura 2 - Componentes identificados por análise de EDXRF.

Tabela 3 - Composição dos elementos químicos de *P.grandifolia* provenientes da análise de EDXRF.

Composição Química (%)	Raízes	Caule/ Raízes	Folhas	Caule/ Flores	Flores	Frutos
K	46,939	34,499	40,245	53,468	67,515	56,087
Ca	38,835	45,937	52,439	38,764	23,124	32,161
S	7,421	8,831	3,793	4,955	3,675	4,363
Fe	3,813	4,67	2,38	0,507	1,805	1,614
P	2,142	5,389	0,588	1,676	3,317	4,435
Cu	0,466	0,294	0,077	0,195	0,175	0,18
Co	0,217	0	0	0	0	0
Sr	0,167	0,214	0,278	0,19	0	0,143
Zn	0	0,166	0,074	0,137	0,129	0,143
Rb	0	0	0,125	0,108	0,26	0,257
Tb	0	0	0	0	0	0,617

No presente trabalho foram realizadas análises de EDXRF com seis amostras de *Pereskia grandifolia*, constatando a ausência de elementos químicos tóxicos como Arsênio (As), Cádmio (Cd), Mercúrio (Hg), Cromo (Cr) e Chumbo (Pb). As plantas medicinais podem ser contaminadas por metais por meio do solo em que são cultivadas. Esta contaminação pode ocorrer por meio da absorção dos metais que se acumulam nos tecidos vegetais. A contaminação do solo pode se suceder através de fertilizantes, pesticidas, extração do minério, refinamento e queimada de resíduos industriais e urbanos (FRANCO *et al.*, 2011; LUIZ *et al.*, 2019).

As análises quali-quantitativas (EDXRF) das amostras pulverizadas indicaram a presença de Potássio (K), Cálcio (Ca), Enxofre (S), Ferro (Fe), Fósforo (P), Cobre (Cu), Cobalto (Co), Estrôncio (Sr), Zinco (Zn), Rubídio (Rb) e Térbio (Tb), enquanto a análise elementar quantificou o Carbono (C), Nitrogênio (N) e Hidrogênio (H) em diferentes partes de *P. grandifolia*.

As funções básicas dos minerais essenciais são divididas em três grupos principais: no primeiro, as funções relacionam-se com o crescimento e a manutenção dos tecidos corporais; no segundo, funções da regulação dos processos corporais dos animais; e, no terceiro grupo estão as funções de regulação na utilização da energia dentro das células do corpo. Todas com suas devidas importâncias para o organismo. São substâncias de origem inorgânica que fazem parte dos tecidos duros do organismo, como ossos e dentes. Também encontrados nos tecidos moles como músculos, células sanguíneas e sistema nervoso (TAKEITI *et al.*, 2009).

O Potassio K, se sobressaiu nas flores (67,515%), seguido por frutos (56,087%), caule (52,46 %), raiz (46,929 %), folhas (40,245%) e o menor teor na parte do caule próximo a raiz (24,429 %), mesmo assim considerados significativos. O potássio atua na fotossíntese, interfere na constituição da firmeza das paredes celulares das plantas, promovendo a absorção de água e regula a translocação de nutrientes na planta, dentre outras funções. Outro elemento de maior abundância foi o Ca, variando entre 52,43 % a 20,03 %, sendo a maior concentração nas folhas (52,43 %) e a menor concentração na raiz (20,03 %). O cálcio é essencial para o crescimento e desenvolvimento vegetal, exerce funções bioquímicas na planta, tais como constituinte da lamela média das paredes celulares, sendo requerido como cofator por algumas enzimas envolvidas na hidrólise de ATP e de fosfolipídeos. Além disso, atua como mensageiro secundário na regulação metabólica (TAIZ *et al.*, 2017).

Além do K e Ca, outros macronutrientes encontrados foram o S (3,67 a 8,83%) e P (0,57 a 5,29%). O enxofre é componente de proteínas, participa da síntese de clorofila e de diversas reações no metabolismo das plantas.

O fósforo desempenha papel fundamental na formação de ATP (Trifosfato de adenosina), sendo ela a principal fonte de energia para a realização de processos como a fotossíntese, divisão celular, transporte de assimilados e carga genética.

Avaliando os micronutrientes encontrados na análise de EDXRF (Figura 2 e Tabela 2), o Fe se encontra em destaque, variando de 0,51% (caules/flores) a 4,67% (caule/raiz), sendo inclusive neste órgão, seu teor maior que os macronutrientes S e P em alguns órgãos. O ferro pode ativar ou ser um componente de enzimas que influencia na fixação do Nitrogênio, atua como catalisador na biossíntese da clorofila, também no desenvolvimento de troncos e raízes. O teor de cobalto foi encontrado somente na raiz (0,22 %), sendo responsável pelo desenvolvimento da parte aérea das plantas.

Outros elementos como o estrôncio foi encontrado nas folhas (0,28 %) e ausente nas flores. O estrôncio é um metal frequentemente encontrado nos solos e em altas concentrações pode ser nocivo às plantas. O térbio, elemento químico raro encontrado apenas nos frutos em pequeno teor, é um metal medianamente reativo, é estável em contato com o ar em temperatura ambiente, reage com ácidos concentrados ou diluídos, com água e oxigênio, formando diversos compostos químicos como haletos, carbonatos, sulfatos, nitratos, oxalatos, acetatos, boratos e óxidos. Todavia, há poucos relatos sobre os constituintes químicos do ora pro-nóbis, especialmente da *P. grandifolia*.

Embora na literatura não tenham sido encontrados registros oficiais sobre as partes da planta *P. grandifolia*, somente sobre as folhas alguns estudos com extratos, segundo Takeiti *et al.* (2009), observaram a quantidade de ferro (14,18 mg .100 g <sup>-1</sup>) foi considerada alta, quando comparada com a do espinafre (3,10 mg .100 g <sup>-1</sup>). Silva e Pinto (2006) observaram 28,12 g 100 g <sup>-1</sup> do mineral ferro em folhas de *P. aculeata*. A absorção do ferro heme presente nas moléculas de hemoglobina e mioglobina é de 37%, e apenas 5% no ferro não heme (TAKEITI *et al.*, 2009). A presença de oxalato em alimentos tem sido associada à redução na absorção de ferro, bem como dos minerais magnésio e zinco (LINDNER, 1995).

Considerando a recomendação diária (RDA), segundo a Dietary Reference Intakes - DRI (NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 2001), dos minerais e vitaminas para adultos de 19 a 50 anos (cálcio: 1.000 mg; cobre: 900 mg; zinco: 11 mg, para homens e 8 mg para mulheres; magnésio: 400 a 420 mg, para homens e 310 a 320 mg, para mulheres e ferro: 8 mg, para homens e 18 mg, para mulheres; ácido fólico: 400 mg, para ambos os sexos e vitamina C:

90 mg, para homens e 75 mg, para 30 mulheres), as folhas de ora-pro-nóbis, na quantidade de 100 g dia -1, supre a necessidade dos minerais, em ambos os sexos, para cálcio, magnésio e zinco, e ferro para o sexo masculino, assim como para a vitamina C em ambos os sexos. Takeiti *et al.* (2009) destacam que esta planta é uma boa fonte de minerais e vitaminas.

Especialmente quando se trata de hortaliças e frutas silvestres, geralmente os teores minerais são significativamente maiores do que em plantas domesticadas (BOOTH; BRESSANI; JOHNS, 1992; FLYMAN; AFOLAYAN, 2006; ODHAV *et al.*, 2007). Além dos minerais, em geral, frutas e hortaliças não convencionais são mais ricas em fibras e compostos com funções antioxidantes (ODHAV *et al.*, 2007; SCHMEDA-HIRSCHMANN *et al.*, 2005) e muitas são fontes de proteínas superiores às fontes vegetais convencionais (ALETOR *et al.*, 2002; FASUYI, 2006, 2007; ODHAV *et al.*, 2007).

Estudos realizados com Almeida, 2013, relatando quando se comparam, em matéria seca, 100 g das farinhas de ora-pro-nóbis p. aculeata e p. grandifolia com 100 g de leite e derivados, que são fontes de cálcio (NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO - NEPA, 2006), observa-se que o teor deste mineral presente na P. grandifolia foi superior ao presente nos iogurtes (integral e desnatado), leite em pó (integral e desnatado) e em vários tipos de queijos (minas frescal, parmesão, requeijão cremoso e ricota). O cálcio é um importante mineral, cujas principais fontes alimentares (leite e seus derivados) não têm sido consumidas diariamente, nas quantidades recomendadas, por grande parte da população brasileira. Assim como destacado por Weaver e Heaney (2006) que o brócolis e a couve são fontes alternativas de cálcio, sugere-se que as espécies de ora-pro-nóbis avaliadas também sejam, podendo melhorar a qualidade nutricional daqueles indivíduos que não consomem a quantidade diária recomendada deste mineral.

#### 3.3 Análise elementar por queima

Em relação à análise elementar pela queima em forno de combustão, os resultados podem ser observados na Figura 3 e Tabela 4.

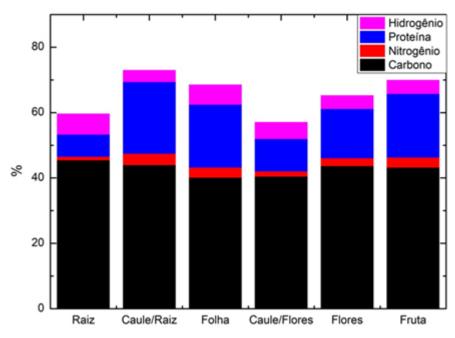


Figura 3 - Componentes identificados por análise elementar quantitativa.

Tabela 4 - Composição dos elementos químicos de *P.grandifolia* provenientes da análise de Elementar.

Composição Química (%)	Raízes	Caule/ Raízes	Folhas	Caule/ Flores	Flores	Frutos
${C}$	45,402	43,91	40,055	40,407	43,635	43,135
N	1,0858	3,5025	3,0795	1,5826	2,406	3,1115
Н	6,4156	3,7066	6,1594	5,2083	41974	4,292
Proteína	6,786	21,89	19,25	9,891	15,04	19,45

Fonte: Do autor (2021)

Foi possível quantificar de maneira total o Carbono orgânico, variando de 40,05% (folha) a 45,40% (raiz). O carbono forma a estrutura das biomoléculas das plantas, incluindo amido e celulose. É fixado através da fotossíntese a partir do gás carbônico do ar e faz parte desses carboidratos, que armazenam energia nos vegetais. O teor de Nitrogênio variou de 1,08 a 3,50%, destacando maiores teores no caule, folhas e frutos, resultado importante que reforça onde há maiores teores de proteínas comparando dentre as diversas partes da planta que é interesse no nosso estudo. A proteína foi calculada através dos valores de nitrogênio cujo fator de conversão 6,25 (N x 6,25). O nitrogênio nas plantas está diretamente ligado à composição de aminoácidos e proteínas, constituinte de macromoléculas e enzimas. Segundo Faquin (2005), o nitrogênio é um dos nutrientes exigidos em maior quantidade pelas plantas, constituindo de 2 a 5% da matéria seca da planta, sendo necessário para suprir a exigência de aminoácidos

essenciais e decisivo para aumentar o rendimento e a qualidade das culturas nos estádios fisiológicos, em geral.

Em relação às proteínas, é sabido que as de origem animal têm maior valor biológico em comparação com as proteínas vegetais. No entanto, populações de baixo poder aquisitivo têm acesso limitado a proteínas animais. Assim, a identificação de espécies vegetais ricas em proteínas e incentivos de cultivo e consumo destas espécies pode contribuir para diminuir as deficiências nutricionais destas populações e fornecer alternativas nutricionais para a população em geral, especialmente àquelas com hábitos e dietas alimentares diferenciados, os vegetarianos. As hortaliças folhosas são boas alternativas, sendo consideradas as mais acessíveis e abundantes fontes de proteínas (ALETOR *et al.*, 2002). Essas proteínas extraídas principalmente das folhas das plantas são denominadas em inglês pela expressão genérica leaf proteins (proteínas foliares), mas, especialmente no caso de plantas herbáceas, podem ser extraídas das plantas inteiras (FERRANDO, 1980).

No Brasil, segundo Vieira (1983), as pesquisas sobre proteínas foliares estão ainda em estágio incipiente. Apesar dos anos passados, poucas informações estão disponíveis sobre proteínas vegetais de espécies nativas no Brasil. Vieira ressalta que os estudos, geralmente, são relacionados às forrageiras utilizadas por ruminantes. Dentre as folhas com uso potencial na alimentação humana, o autor destaca estudos com as folhas de duas espécies nativas brasileira a hortaliça não convencional *P. aculeata* Mill. e *P. grandifolia*. onde esta PANC sobressai em maiores teores em minerais e proteínas.

As folhas, caule próximo a raiz e os frutos representam importante fonte de proteínas (FASUYI, 2006), mas poucos estudos com hortaliças folhosas nativas, no Brasil, foram realizados. Quanto aos elementos minerais, sabe-se que são largamente distribuídos na natureza e exercem importantes funções no organismo humano. Segundo Franco (2004), o corpo humano apresenta, na composição elementar, 96% de sua parte sólida formada pelos compostos de hidrogênio, carbono, oxigênio e nitrogênio, os quais constituem os chamados princípios imediatos: água, proteínas, carboidratos e lipídios. Os 4% restantes são formados pelos minerais, sendo que somente cálcio (1,5%) e fósforo (1%) respondem por 2,5%, cabendo ao 1,5% restante todos os demais minerais, potássio, manganês, magnésio, enxofre, zinco, cobre e outros. O corpo humano, em condições normais, excreta diariamente de 20 a 30 g de minerais e necessita de reposição imediata por meio da alimentação. Fonte rica em cálcio, potássio, ferro e minerais em todas as partes da *P. grandifolia* (KINUPP; LORENZI, 2014). Mediante o fato de a caracterização química da *P. grandifolia* não ter sido descrita na literatura previamente, os

resultados deste estudo serão comparados com o de outras folhas, incluindo a taioba, que também é considerada PANC.

As duas espécies de ora-pro-nóbis (P. aculeata e P. grandifolia), são consideradas como hortalicas não convencionais fontes de proteínas, apresentando teores proteicos semelhantes ou maiores que o de outras folhas, como a taioba (Xanthosoma sagittifolium Schott nos limbos com nervura foi de 27,59 g 100 g <sup>-1</sup> MS e nos limbos sem nervuras foi de 26,68 g 100 g <sup>-1</sup> MS) (PINTO et al., 2001), urtiguinha (*Urtica circularis*, 28,00 g 100 g <sup>-1</sup> MS), mestruz (*Coronopus* didymus, 28,17g.100 g<sup>-1</sup> MS) e erva-moura (Solanum americanum, 29,90g.100g<sup>-1</sup> massa seca) (KINUPP; BARROS, 2008). Já na farinha de folha de mandioca (Manihot esculenta Crantz cv. Cacao) o teor de proteína determinado foi de 29,86g .100 g<sup>-1</sup> de massa seca (MELO et al., 2007). Quando se compara, em matéria seca, 100 g das farinhas de ora-pro-nóbis com 100 g dos feijões cozidos (preto e roxo), que são fontes de proteínas de origem vegetal (NEPA, 2006), observa-se que as farinhas destas cactáceas apresentaram maiores teores proteicos. Como alguns grupos populacionais ainda apresentam dieta com acesso limitado às proteínas animais, o consumo de fontes vegetais ricas em proteínas e de alto valor biológico poderá prevenir ou tratar carências nutricionais relacionadas a este nutriente. Segundo Takeit et al. (2009) o teror proteico das folhas secas de P. grandifolia é superior ao de P. aculeata, sendo os valores encontrados pelo autor de 32,02±0,4 e 28,99±0,59 (g/100 g de matéria seca), respectivamente.

#### 3.4 Rendimento extrativo

Após o processo de extração com 6 diferentes solventes (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol, etanol e água) os extratos foram submetidos à secagem. Após a eliminação total dos solventes, foi aferida a massa dos extratos e correlacionada a porcentagem de massa extraída com relação à massa total do material vegetal. Estes resultados estão representados na Tabela 5.

Tabela 5 - Relação de extratos de *Pereskia grandfolia* Haw e massas obtidas a partir de 50 gramas do material desidratado.

Extratos	Massa (g)	% em massa em relação a massa total
Hexano	1,9	3,8
Clorofórmio	1,7	3,4
Acetato de etila	0,4	0,8
Metanol	4,82	9,64
Etanol	4,75	9,50
Água	2,8	5,60

Do material vegetal total (50 gramas), foi extraído um total de 15,37 gramas, o que corresponde a 37,4% solúvel nos diferentes solventes, sendo a diferença correspondente ao material fibroso, considerado insolúvel. Dentre o material solúvel, pode-se destacar que 3,8% extraído com hexano corresponde ao material lipídico, o que corresponde aos ácidos graxos e álcool graxo. Ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados encontrados na estrutura cis que são um tipo de lipídeo que o organismo absorve e utiliza em seu metabolismo lipídico ou na síntese de degradação das células. São encontradas nas gorduras de origem vegetal, é de grande interesse para as indústrias de alimentos e bebidas que buscam alternativas para elaboração de produtos mais saudáveis (BIESAGA, 2011; HORNSTRA, 1999).

O extrato em clorofórmio rendeu 3,4%, segundo a literatura este extrato é rico em terpenos e flavonoides. Os metabólitos secundários de destaque, tanto para os seres humanos como em animais e plantas, são os alcaloides, os fenóis, os óleos essenciais, os taninos, os flavonoides e as saponinas. Os alcaloides são compostos de bases nitrogenadas, insolúveis em água e solúveis em éter, clorofórmio ou solvente apolar (BIESAGA, 2011; CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; PANDEY; TRIPATHI, 2014).

O extrato em acetato de etila foi aquele que apresentou a massa mais reduzida, correspondendo a 0,8% da massa vegetal, visto que, no solvente apolar (hexano) foram extraídos o material lipídico, e que em clorofórmio as moléculas de baixa polaridade, espera-se que, o extrato em acetato de etila seja constituído por moléculas de polaridade intermediarias, tais como: alguns alcaloides, flavanoides, esteroides glicosilados, flavanoides glicosilados, e outras moléculas de polaridades intermediarias. Solventes como o metanol, etanol, acetato de etila, possibilita a extração de um maior número de compostos polares, como os compostos fenólicos, dentre eles os flavonoides (BIESAGA, 2011; CECHINEL FILHO; YUNES, 1998).

Foi observado que a maior massa de material extraído foi de elevada polaridade. Visto que 9,64% foi extraído com metanol, 9,50% em etanol e 5,60 em água. Esta relação mostra que o vegetal é rico em moléculas de alta polaridade. Esta faixa de polaridade pode ser composta desde flavonoides glicosilados, passando por sacarídeos, proteínas e material inorgânico, tais como alguns sais. (PANDEY; TRIPATHI, 2014).

### 3.5 Resultados da análise espectrométrica e de fluorescência

As análises espectroscópicas são muito utilizadas em estudos que envolvem a fototerapia dinâmica (TFD), pela necessidade de caracterizar as regiões de maior absorção e os

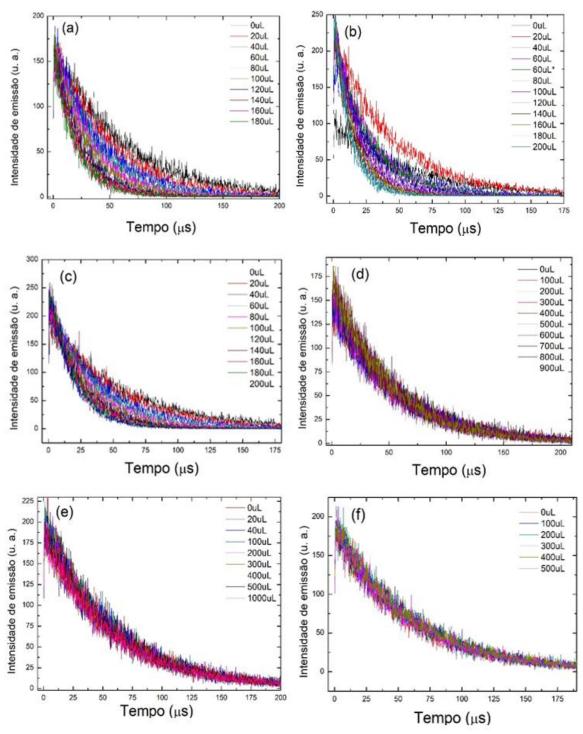
comprimentos de onda específicos do fotossensibilizador (FS) utilizado, sempre com o intuito de que haja maior eficácia nas emissões (INADA *et al.*, 2012; KOON *et al.*, 2006).

Os transientes de emissão foram obtidos em 1270 nm após a fotoexcitação a laser com azul de metileno (MB) em acetonitrila em 532 nm e emissão de luz O 2 (1Dg). O tempo de vida do oxigênio singlete (1O2) gerado pela fotoexcitação dos extratos foi determinado através do ajuste monitorado ao decaimento exponencial.

Os espectros emitidos pela excitação a laser para cada extrato podem ser observados na Figura 4. Todos os espectros foram obtidos pela excitação a laser. Pode-se observar que todos os extratos de folhas de *P. grandifolia* apresentaram atividade antioxidante, uma vez que, em seus espectros foi observado o decaimento de intensidade de emissão de fluorescência.

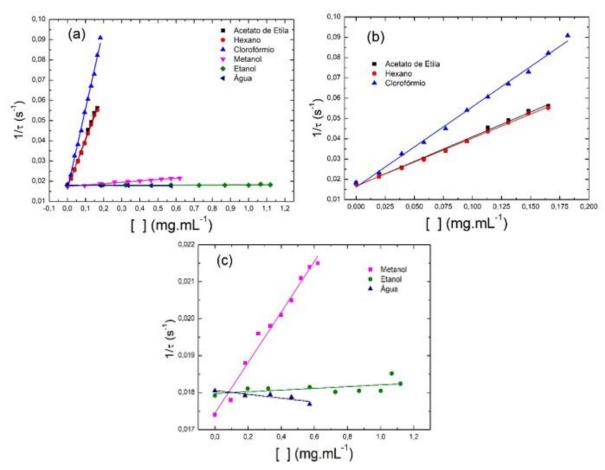
Pode-se observar, entretanto, que os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram os apolares, dessa forma, esses foram selecionados para análises.

Figura 4 - Transiente de decaimento da emissão  $^1O_2$  a 1270 nm. Obtido por excitação de fonte laser em 532 nm em solução de azul de metileno em acetonitrila com densidade ótica 0,263, na presença de extrato de: a) Hexano; b) Clorofórmio; c) Acetato de Etila; d) Metanol; e) Etanol; f) Aquoso. Ressuspendido em solução de azul metileno em acetonitrila com *Pereskia grandifolia*.



No mecanismo de supressão de luminescência é usado o modelo cinético de Stern Volmer que tem importância em fotofísica e fotoquímica, na determinação quantitativa de substâncias (JUNQUEIRA *et al.*, 2003). Sob iluminação com luz visível, dando ênfase especial à geração fotoinduzida de oxigênio singlete. Dessa forma, na Figura 5 pode-se observar os gráficos gerados empregando-se o modelo cinético de Stern-Volmer, que descreve a supressão de <sup>1</sup>O <sub>2</sub> dos extratos apolares de *P. grandifolia*, obtido por excitação de azul de metileno em aceto nitrila. O tempo de vida do azul de metileno foi determinado pelo ajuste exponencial da curva 1/τ, em que τ é o tempo médio do estado excitado (Tabela 6).

Figura 5 - Stern-Volmer plot: Supressão de <sup>1</sup>O <sup>2</sup> dos extratos de *Pereskia grandifolia*, obtido por excitação de azul de metileno em aceto nitrila excitado em 532 nm com densidade óptica de 0,263. a) Todos os extratos; b) Destacando Clorofórmio, Acetato de Etila; c) Destacando Metanol, Etanol e Água.



Fonte: Do autor (2021)

Por meio dos modelos cinéticos obtidos para cada extrato foi possível calcular as Constantes de Supressão do oxigênio singlete em acetonitrila (Tabela 6).

Tabela 6 - Tempo de vida do estado excitado do oxigênio singleto em diferentes extratos e concentrações em acetonitrila.

	Extratos						
Concentração (µL)	Hexano	Clorofórmio	Acetato de Etila	Metanol	Etanol	Água	
			Tempo de v	vida (µs)			
0	59,64127	58,14785	58,3965	60,16574	58,33485	60,10002	
20	49,52911	45,53919	49,50565		57,25715		
40	40,38121	32,67468	40,05596		58,7637		
60	35,99118	27,68479	35,25169				
80	31,02601	23,63737	30,94086				
100	27,84761	19,77663	27,26413	59,28947	57,91815	58,01463	
120	24,70535	17,82122	24,94989				
140	22,26667	15,8221	23,64476				
160	20,80725	14,53634	21,9208				
180	19,59769	13,11174	20,50834				
200		11,81136	18,54368	55,86979	59,25268	59,30573	
300				53,86438	57,71499	57,82266	
400				53,59251	57,77936	57,94214	
500				52,75853	57,72065	58,73902	
600				50,55293			
700				49,60616			
800				49,09932			
1000				50,03867	56,29781		

Tabela 7- Constantes de Supressão em acetonitrila. Calculado pela equação da reta do gráfico Stern Volmer.

Extrato	$k(\frac{L}{g.s})$
Hexano	0,23592
Clorofórmio	0,39662
Acetato de Etila	0,24364
Metanol	0,00684
Etanol	2,34861 x 10 <sup>-4</sup>
Água	$-5,17819 \times 10^{-4}$

Fonte: Do autor (2021)

O melhor e menor tempo de vida do oxigênio singlete em relação aos solventes foi encontrado no extrato obtido com clorofórmio (Tabela 7) sendo também melhor na supressão dos decaimentos de emissão que geraram estes resultados. O maior tempo de supressão foi o extrato aquoso ressuspendido em solução azul de metileno e em acetonitrila com densidade ótica 0,263 em 532 nm, podendo dizer que é onde ocorre maiores danos biológicos de oxidação comparados aos demais extratos.

Assim, os extratos apolares foram mais eficientes em suprimir a emissão de fluorescência, em menores concentrações, apresentando os menores tempos de vida. Já os polares (água e etanol) apresentaram em maiores concentrações e tempo de vida fraco o efeito do fotossenssibilisador e extratos com fraca interação entre a energia de tranferência de elétrons, portanto fraca supressão de oxigênio singlete (STRAIGHT; SPIKES, 1985).

Após avaliação da acetonitrila como solvente para a fotoexitação do azul de metileno, outros solventes foram testados.

O transiente de decaimento da emissão  $^{1}$ O  $_{2}$  a 1270 nm obtido por excitação de fonte laser em 532 nm em solução de azul de metileno em metanol para os diferentes extratos pode ser visto na Figura 5.

Diferente da acetonitrila, o metanol não promoveu a rápida supressão do oxigênio singlete, quando utilizado solvente para os diferentes extratos das folhas de *P. grandifolia*.

Solventes com a presença de hidroxilas em suas moléculas suprimem o oxigênio singlete com extrema rapidez, ou seja, em curto tempo de vida (FOOTE, 1991), entretanto, parece que a interação entre o solvente e os extratos não proporcionou essa rápida supressão.

Na Figura 6 encontram-se os modelos cinéticos de Stern-Volmer para a Supressão de  $^{1}$ O  $_{2}$  dos extratos de P. grandifolia, obtido por excitação de azul de metileno em metanol. Na Tabela 5 o tempo de vida do estado excitado do oxigênio singleto em diferentes extratos e concentrações em azul de metileno com metanol.

Figura 6 - Transiente de decaimento da emissão  $^1O_2$  a 1270 nm. Obtido por excitação de fonte laser em 532 nm em solução de azul de metileno em metanol com densidade ótica 0,263, na presença de extrato de: a) Hexano; b) Clorofórmio; c) Acetato de Etila; d) Metanol; e) Aquoso. Ressuspendido em solução de azul metileno em metanol com *Pereskia grandifolia*.

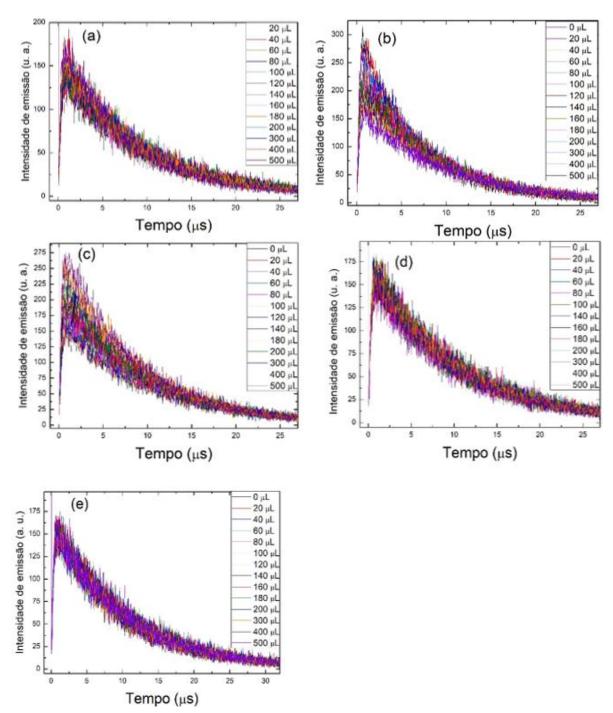


Figura 7 - Modelo cinético de Stern-Volmer para a Supressão de <sup>1</sup>O <sub>2</sub> dos extratos de *Pereskia grandifolia*, obtido por excitação de azul de metileno em metanol excitado em 532 nm com densidade óptica de 0,263. a) Todos os extratos; b) Destacando Hexano, Clorofórmio e Acetato de Etila.

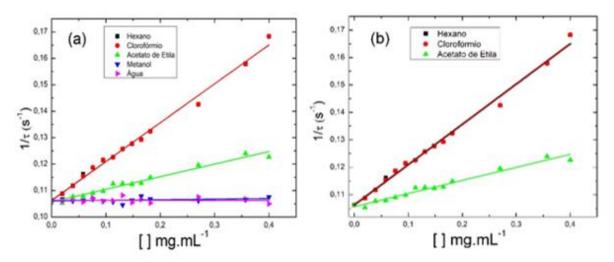


Tabela 8 - Tempo de vida do estado excitado do oxigênio singleto em diferentes extratos e concentrações em azul de metileno com metanol.

	Extratos					
Concentração (µL)	Hexano	Clorofórmio	Acetato de Etila	Metanol	Etanol	Água
			Tempo d	e vida (μs)		
0		11,00664	11,30151	10,95489		11,16208
20	10,93686	10,57679	10,89327	11,18079		11,10343
40	10,8951	10,44586	11,01914	11,11638		11,00734
60	10,81975	10,11869	10,74507	11,18681		11,12545
80	10,57417	9,79346	10,64599	11,12352		10,98138
100	10,36887	9,63034	10,3641	11,16591		10,98943
120	10,33143	9,6429	10,43272			11,02314
140	10,09213	9,35387	10,41157	11,19979		11,02672
160	10,05208	9,20223		11,21855		11,1677
180	9,90832	9,05796	10,19936	11,06457		10,9668
200	9,75097	8,76402	9,96413	10,94165		11,16906
300	9,21098	8,18179	9,68701	10,95095		10,98264
400	8,75413	7,48247	9,47361	10,98264		11,04861
500	8,34633	7,03432	9,16311	10,83777		11,25215
600						
700						
800						
1000						

OBS-O extrato de hexano não teve o branco. Os demais são iguais.

Tabela 9 - Constantes de Supressão em metanol.

Extrato	$k(\frac{L}{g.s})$
Hexano	0,14686
Clorofórmio	0,14723
Acetato de Etila	0,04755
Metanol	0,00219
Água	-3,04344 x 10 <sup>-4</sup>
п. п	(2021)

Figura 8 - Transiente de decaimento da emissão  $^1O_2$  a 1270 nm. Obtido por excitação de fonte laser em 532 nm em solução de azul de metileno em  $D_2O$  com densidade ótica 0,263, na presença de extrato de: a) Metanol; b) Etanol; c) Água. Ressuspendido em solução de azul metileno em  $D_2O$  com *Pereskia grandifolia*.

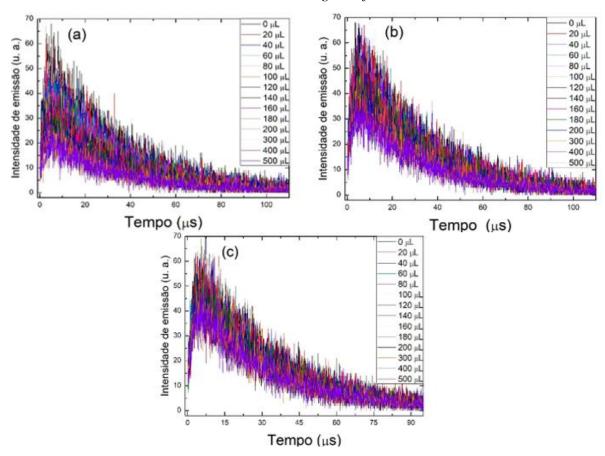
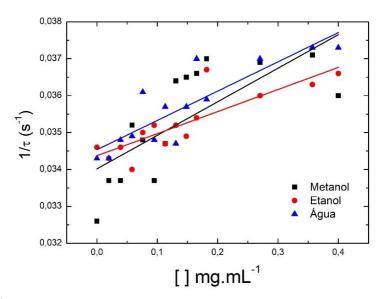


Figura 9 - Stern-Volmer plot: Supressão de <sup>1</sup>O <sub>2</sub> dos extratos de *Pereskia grandifolia*, obtido por excitação de azul de metileno em água excitado em 532 nm com densidade óptica de 0,263.



Embora não tenha ocorrido um bom ajuste do modelo aos dados obtidos o tempo de vida do estado excitado do oxigênio singleto foi calculado (Tabela 10).

Tabela 10 - Tempo de vida do estado excitado do oxigênio singleto em diferentes extratos e concentrações em azul de metileno e água.

	Extratos					
Concentração (µL)	Metanol Etanol		Água			
	Tem	(μs)				
0	39,13663	38,75721	38,32497			
20	38,84895	38,43915	38,79798			
40	40,14711	38,52772	38,39277			
60	38,22414	38,50195	38,72			
80	38,3749	39,34853	37,88115			
100	37,8323	38,2877	38,10832			
120	39,0425	38,43745	37,95384			
140	37,8974	38,08667	37,85299			
160	36,38156	38,16697	37,52923			
180	37,40213	39,53624	36,59054			
200	36,28874	38,20739	37,64784			
300	37,58578	37,78399	36,42703			
400	36,24471	36,70894	36,10092			
500	35,27461	37,84625	36,3252			

Conforme acima da água deuterada rica em prótons, não houve resultados satisfatório, quanto à supressão de oxigênio singlete excitado em 532 nm com densidade óptica de 0,263.

#### 3.6 Atividade antimicrobiana

A Tabela 14 representa a atividade antimicrobiana avaliada pela técnica de discodifusão dos diferentes extratos de *P. grandifolia* sobre as cepas de *S.* aureus (GL854 e GL 8702), *L.* monocytogenes (ATCC 1911 e 7644), e *Escherichia coli (EPEC CDC 055 e ATCC* 25922).

Tabela 11 - Atividade antimicrobiana, mostrado pela formação de halo de inibição, dos diferentes extratos de folhas de *Pereskia grandifolia* Haw sobre diferentes microrganismos.

	Halo de inibição (mm)						
Extratos	S. aureus		L. monocytogenes		E. coli		
Extratos	GL8548	GL8702	ATCC ATCC 19117 7644		EPEC CDC O55	ATCC 25922	
Hexano	1,04	0	0	0	0	0	
Clorofórmio	1,53	0	1,34	0	0	0	
Acetato de etila	0,42	0	3,03	0	0	0	
Metanol	4,3	0	6,54	0	0	0	
Etanol	5,75	0	6,44	0	0	0	
Água	2,55	0	6,33	1,58	0	0	

Fonte: Do autor (2021)

Pode-se observar que todos os extratos apresentaram atividade sobre as cepas de *S. aureus* GL 8548. Para *L. monocytogenes* ATCC 19117, apenas o extrato obtido com hexano não apresentou atividade. Os resultados encontrados estão de acordo com Turra *et al.* (2007) que avaliaram a espécie *P. grandifolia* Haworth (Cactaceae) quanto à atividade antibacteriana e não observaram ação contra *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 6623) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), nem atividade antifúngica contra *Candida albicans* (ATCC 10231). Entretanto, a atividade bactericida de extrato obtido com diclorometano e etil acetato sobre *P. aeruginosa* são relatados (ABDELWAHAB, 2013; PHILIP *et al.*, 2009).

Santos et al. (2010) objetivaram avaliar o perfil de susceptibilidade do extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata* sobre as bactérias cariogênicas *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus me casei*, e do fungo *Cândida albicans*, utilizando o

método de difusão em ágar. Através dos testes, verificou-se que o extrato bruto de *Pereskia aculeata* não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de *Streptococcus mutans, Lactobacillus casei* e *Cândida albicans*, porém, foi observada uma inibição no crescimento de *Enterococcus faecalis*, quando exposto à ação do extrato de *Pereskia aculeata* nas concentrações utilizadas (0,25 g/mL e 0,50 g/mL).

Vargas (2017) avaliou a atividade antimicrobiana de *P. aculeate* Miller. sobre *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Candida albicans* e *Candida tropicalis*. A análise de atividade antimicrobiana por difusão em disco revelou que apenas o extrato obtido com éter de petróleo apresentou ação sobre um microrganismo, o *S. aureus*.

Já na avaliação da concentração mínima bactericida, não foi observada ação sobre os microrganismos avaliados. Essa diferença provavelmente ocorreu devido à concentração máxima utilizada nessa técnica, a microdiluição, em que a concentração mais elevada avaliada foi a metade daquela testada na técnica de disco-difusão, devido à limitação da técnica e da solubilidade conseguida dos extratos em solução aquosa de DMSO.

# 4 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados revelam-se promissores para o estudo de diferentes partes das hortaliças não convencionais e plantas medicinais. Ressalta-se ainda que os elevados teores de minerais como cálcio, potássio, ferro; e proteínas encontrados em todas as partes corroboram para conhecer o potencial nutritivo e farmacêutico desta espécie da ora-pro-nóbis.

Considerando que substâncias naturais podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra o risco de muitos processos patológicos, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que esta planta, além de apresentar importantes propriedades nutricionais, pode atuar como um significante supressor e agente antioxidante de radicais livres. Esses resultados abrem uma nova linha de pesquisa com boas perspectivas quanto ao desenvolvimento de uma nova geração de ingredientes e extratos naturais a serem incluídos em novos produtos formulados.

# 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELWAHAB, S. I. Anticancer, antioxidant and antibacterial activities of different extracts of Pereskia grandifolia Haw. (Cactaceae). **Applied Science Branch**, New York, v. 2, n. 1, p. 20-27, 2013.

ALETOR, V. A. *et al.* Chemical composition of common leafy vegetables and functional properties of their leaf protein concentrates. **Food Chemistry**, London, v. 78, n. 1, p. 63-68, July 2002.

ALMEIDA, M. E. F. de *et al.* Chemical characterization of the non-conventional vegetable known as ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 431-439, 2014. Suplemento.

ARASU, M. V. *et al.* Identification and characterization of Lactobacillus brevis P68 with antifungal, antioxidant and probiotic functional properties. **Indian Journal of Microbiology**, New Delhi, v. 55, p. 19-28, 2015.

ARASU, M. V. *et al.* In vitro and in vivo enhancement of adipogenesis by Italian ryegrass (Lolium multiflorum) in 3T3-L1 cells and mice. **PLoS One**, San Francisco, v. 9, n. 1, p. 85297, Jan. 2014.

BENEVIDES, C. M. J. *et al.* Effect of processing on oxalate and tannin levels in maxine (Cucumis anguria L.), eggplant (Solanum gilo), green bean (Vigna unguiculata (L.) Walp) and andu bean (Cajanus cajan (L.) Mill SP). **Brazilian Journal of Food Nutrition**, Araraquara, v. 24, n. 3, p. 321-327, jul./set. 2013.

BIESAGA, M. Influence of extraction methods on stability of flavonoids. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1218, n. 18, p. 2505-2512, May 2011.

BOOTH, S.; BRESSANI, R.; JOHNS, T. Nutrient content of selected indigenous leafy vegetables consumed by the Kekchi people of Alta Verapaz, Guatemala. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 5, n. 1, p. 25-34, Mar. 1992.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. Brasília, DF: ANVISA, 2010. v. 2, 546 p.

CECHINEL FILHO, F.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105, fev. 1998.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Perfomance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 27. ed. Wayne: CLSI, 2019. 15 p.

CORRÊA, M.; PENA, L. de A. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. 765 p.

- DESIDERI, D.; MELI, M. A.; ROSELLI, C. Determination of essential and non-essential elements in some medicinal plants by polarised X ray fluorescence spectrometer (EDPXRF). **Microchemical Journal**, New York, v. 95, n. 2, p. 174-180, July 2010.
- EL-GUEZZANE, C. *et al.* A comparative study of the antioxidant activity of two Moroccan prickly pear cultivars collected in different regions. **Chemical Data Collections**, [S.l.], v. 31, p. 100637, Feb. 2021.
- ESTANAGEL, T. H. P. et al. Pollutants harmful to health in herbal products detected by X-ray fluorescence spectroscopy. **Semina:** ciências exatas e tecnológicas, Londrina, v. 41, n. 2, p. 211-228, jul./dez. 2020.
- FAQUIN, V. Nutrição mineral de plantas. Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 183 p.
- FASUYI, A. O. Bio-nutritional evaluations of three tropical leaf vegetables (Telfairia occidentalis, Amaranthus cruentus and Talinum triangulare) a sole dietary protein sources in rat assay. **Food Chemistry**, London, v. 103, n. 3, p. 757-765, 2007.
- FASUYI, A. O. Nutritional potentials of some tropical vegetable leaf meals: Chemical characterization and functional properties. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 5, n. 1, p. 49-53, Jan. 2006.
- FERRANDO, R. Alimentos tradicionales y no tradicionales. Roma: FAO, 1980. 168 p.
- FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal,** Brasília, v. 12, nesp, p. 175-204, 2000.
- FLYMAN, M. V.; AFOLAYAN, A. J. The suitability of wild vegetables for alleviating human dietary deficiencies. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 72, n. 4, p. 492-497, Nov. 2006.
- FOOTE, C. S. Definition of Type I and Type II photosensitized oxidation. **Photochemistry** *and* **Photobiolog**, Augusta, v. 54, n. 5, p. 659, Nov. 1991.
- FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. 307 p.
- FRANCO, M. J. *et al.* Determinação de metais em plantas medicinais comercializadas na região de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 121-127, maio/ago. 2011.
- HĘŚ, M. *et al.* Effect of boiling in water of barley and buckwheat groats on the antioxidant properties and dietary fiber composition. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 69, n. 3, p. 276-282, Sept. 2014.
- HORNSTRA, G. Lipids in functional foods in relation to cardiovascular disease. **Lipids**, Berlin, v. 101, n. 12, p. 456-466, 1999.

- INADA, N. M. *et al.* Photodiagnosis and treatment of condyloma acuminatum using 5-aminolevulinic acid and homemade devices. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 60-68, Mar. 2012.
- JACOB, M. C. M. Biodiversidade de plantas alimentícias não convencionais em uma horta comunitária com fins educativos. **Demetra**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 1-17, jan./mar. 2020.
- JUNQUEIRA, N. T. V. *et al.* Reação as doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivados sem agrotóxicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 8, p. 1005-1010, Ago. 2003.
- JYOTHSNA, S. *et al.* Trace elemental analysis of Anti-Jaundice medicinal plants of Telangana using EDXRF technique. **Materials Today:** proceedings, Clveland, v. 43, n. 1, p. 1526-1533, Nov. 2021.
- KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 4, p. 846-857, out./dez. 2008.
- KINUPP, V. F.; 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. 768 p.
- KOON, H. K. *et al.* Photodynamic effect of curcumin on NPC/CNE2 cells. **Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology**, New York, v. 25, n. 1-2, p. 2005-2015, 2006.
- LINDNER, E. **Toxicologia de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1995. 262 p.
- LUIZ, L. da C. *et al.* Caracterização de um grupo de ervas medicinais comercializadas no estado do Rio de Janeiro através de espectroscopia por XRF. **Demetra**, Rio de Janeiro, v. 14, p. 1-13, Mar. 2019.
- MELO, D. S. de *et al*. D. Efeitos da farinha de folhas de mandioca sobre a peroxidação lipídica, o perfil lipídico sangüíneo e o peso do fígado de ratos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 420-428, abr. 2007.
- MUNHOZ, V. M. *et al.* Extraction of flavonoids from Tagetes patula: process optimization and screening for biological activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 24, n. 5, p. 576-583, set./out. 2014.
- NARAYANASAMY, K.; RAGAVAN, B. *In vitro* antioxidant activity of Zanthozylum Tetraspermum (W&A) stem bark. **International Journal of Engineering, Science and Technology**, Gurpukur, v. 4, n. 1, p. 155–162, Jan. 2012.
- NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Dietary reference intakes. Applications in dietary reference intakes and the standing committee of the scientific evaluation of dietary reference intakes, food and nutrition board. Washington: Institute of Medicine, 2001. 306 p.

- NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO (NEPA). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos TACO.** 2. ed. Campinas: NEPA, 2006. 114 p.
- ODHAV, B. *et al.* Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 5, p. 430-435, Aug. 2007.
- PANDEY, A.; TRIPATHI, S. Concept of stadardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. **Journal of Pharmacy Phytochemitry**, [S.l.], v. 2, n. 5, p. 115-119, 2014.
- PEREIRA, J. C. *et al.* Medicinal species from Brazil with anti-inflammatory or antioxidant potential: a review. **Research, Society and Development**, Oxford, v. 10, n. 7, p. e10310716196, 2021.
- PETROVIC, S. M. *et al.* The determination of macro and microelements in chamomile teas (*Matricaria chammomilla* L.). **Advanced Technologies**, New York, v. 4, n. 2, p. 37-42, Jan. 2015.
- PHILIP, K. *et al.* Antimicrobial activity of some medicinal plants from Malaysia. **American Journal of Applied Sciences**, Vails Gate, v. 6, n. 8, p. 1613-1617, Aug. 2009.
- PINTO, N. A. V. D. *et al.* Variabilidade da composição centesimal, vitamina c, ferro e cálcio de partes da folha de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* Schott). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n. 3, p. 205-208, set./dez. 2001.
- QUERALT, I. *et al.* Quantitative determination of essential and trace element content of medicinal plants and their infusions by XRF and ICP techniques. **X-RAY Spectrometry**, London, v. 34, n. 3, p. 213-217, May 2005.
- ROCHA, D. R. C. *et al.* Noodles added of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) dehydrated. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 459-65, out./dez. 2008.
- SALVADOR, M. J. *et al.* Quality control of commercial tea by x-ray fluorescence. **X-RAY Spectrometry**, London, v. 31, n. 2, p. 141-144, Mar./Apr. 2002.
- SANTOS, A. G. *et al.* Estudo do efeito antimicrobiano do extrato bruto das folhas de Pereskia aculeata Mill. sobre patógenos bucais. *In:* MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO CIÊNTIFICA, 5., 2010, Maringá. **Anais** [...]. Maringá: Cesumar, 2010. p. 1-5.
- SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. *et al.* Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentina Yungas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, n. 8, p. 1357-1364, June 2005.
- SILVA, M. C.; PINTO, N. A. V. D. Teores de nutrientes nas folhas de taioba, ora- pro-nóbis, serralha e mostarda coletadas no município de Diamantina. *In:* FUNDAÇÃO EDUCACIONAL CIENTÍFICA E TECNOLOGIA DA UFVJA, 8., 2006, Diamantina. **Anais** [...]. Diamantina, 2006, 124 p.
- STRAIGHT, R. C.; SPIKES, J. D. Photosensitized oxidation of biomolecules. *In:* FRIMER, A. A. (Ed.). **Singlet O2.** Boca Raton: CRC Press, 1985. p. 91–143.

- SUN, H.; WEAVER, C. M. Rise in potassium deficiency in the US population linked to agriculture practices and dietary potassium deficits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 68, n. 40, p. 11121-11127, Oct. 2020.
- TAIZ, L. *et al.* **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.
- TAKEITI, C. Y. *et al.* Nutritive evaluation of non-conventional leafy vegetable (Pereskia aculeata Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition,** Basingstoke, v. 60, n. 1, p. 148-160, 2009. Supplement.
- TURRA, A. F. *et al.* Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (Cactaceae). **Arquivos de Ciências da Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 9-14, jan./abr. 2007.
- VARGAS, A. G. de. Influência da sazonalidade na composição química e nas atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas de ora-pro-nobis (Pereskia aculeata Miller). 2017. 80 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2017.
- VARGAS, F. S. *et al.* Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 16, p. 83, Feb. 2016.
- VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; SÁ, M. H. B. **Bacteriologia geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 582 p.
- VIANA, M. M. S. *et al.* Phytochemical composition and antioxidant potential of unconventional vegetables. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 4, p. 504-509, out./dez. 2015.
- VICENTE, N. F. de P. *et al.* Determination of the phenolic, antioxidant and antimicrobial potential of leaf extracts of Pereskia grandifolia Haw. **Research, Society and Development**, Oxford, v. 9, n. 10, p. 1-27, 2020.
- VIEIRA, E. C. Leaf protein research in Brazil. *In:* TELEK, L.; GRAHAM, H. D. (Ed.). **Leaf protein concentrates**. Westport: AVI Publishing, 1983. p. 661-668.
- WEAVER, C. M.; HEANEY, R. P. Food sources, supplements, and bioavailability. *In:* WEAVER, C. M.; HEANEY, R. P. **Calcium in human health**. Totowa: Human Press, 2006. p. 129-142.
- ZAREISEDEHIZADEH, S.; TAN, C.-H.; KOH, H.-L. A review of botanical characteristics, traditional usage, chemical components, pharmacological activities, and safety of Pereskia bleo (Kunth) DC. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, v. 2014, p. 1-11, June 2014.