

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

MURYELL WALLEF DE PONTES COSTA

**OBTENÇÃO DE EXTRATO DE *Zanthoxylum*
rhoifolium (Lam.) E AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL
ANTIOXIDANTE**

Cuité - PB

2024

MURYELL WALLEF DE PONTES COSTA

**OBTENÇÃO DE EXTRATO DE *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção de título de Bacharel em Nutrição, com linha específica em tecnologia dos alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Vanessa Bordin Viera.

Coorientador: Bel. Jair Francisco de Lima Segundo

Cuité - PB
2024

C837o Costa, Muryell Wallef de Pontes.

Obtenção de extrato de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam). e avaliação do seu potencial antioxidante. / Muryell Wallef de Pontes Costa. - Cuité, 2024. 31 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Educação e Saúde, 2024.

"Orientação: Profa. Dra. Vanessa Bordin Viera; Bel. Jair Francisco de Lima Segundo".

Referências.

1. Tecnologia dos alimentos. 2. Método Frap. 3. Método ABTS. 4. *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.). 5. Limãozinho. 6. Mamica-de-cadela. 7. Mamica-de-porco. 8. Centro de Educação e Saúde. I. Viera, Vanessa Bordin. II. Lima Segundo, Jair Francisco de. III. Título.

CDU 664(043)

MURYELL WALLEF DE PONTES COSTA

**OBTENÇÃO DE EXTRATO DE *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) E
AVALIAÇÃO DO SEU POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Unidade Acadêmica de Saúde da Universidade
Federal de Campina Grande, como requisito
obrigatório para obtenção de título de Bacharel
em Nutrição, com linha específica em tecnologia
dos alimentos.

Aprovado em ___ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra Vanessa Bordin Viera
Universidade Federal de Campina Grande
Orientadora

Bel. Jair Francisco de Lima Segundo
Coorientador e examinador externo

Prof. Dra Heloísa Maria Ângelo Jerônimo
Universidade Federal de Campina Grande
Examinadora

Em homenagem a meus avôs, Francisco e
Geraldo e às minhas avós, Eletice e
Marluce por serem e terem sido pessoas
que marcaram minha vida e a de todos
que tiveram a honra e o privilégio de
terem convivido com vocês e que serão
eternamente lembrados em meu
coração.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida, e por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos que surgiram ao longo do curso.

Aos meus pais Maurílio e Mercês por além de me criarem e educarem, serem os maiores exemplos nos quais pude me inspirar para me tornar quem sou hoje, por todo o amor, afeto e incentivo que me deram para que eu pudesse vivenciar este momento, obrigado por serem os melhores pais que alguém poderia ter e pedir amo muito vocês.

A minha irmã Monielly que apesar das nossas briguinhas bestas comuns de irmãos, obrigado por ser alguém que eu sempre posso contar nos bons e maus momentos, obrigada por me acalmar e me tranquilizar em momentos de ansiedade, te amo minha chatinha.

A minha namorada Ana, que com toda certeza foi o melhor presente que a universidade poderia me dar. Obrigado por ser meu porto seguro, por me trazer amor e paz, por todas as risadas que me faz soltar, por me escutar e apoiar em momentos difíceis. obrigada por ser tão compreensiva e perfeita pra mim meu amor te amo além do universo!

Aos amados melhores amigos:

Weslly amigo que não importa onde a vida nos leve, distância ou tempo sei que nossa amizade se mantém a mesma, obrigado por todos os conselhos e incentivos que me deste, obrigado pelas risadas meu mano, desculpa o distanciamento que naturalmente a universidade causa embora sei que independente disso posso contar contigo pra tudo e saiba que pode contar comigo da mesma maneira. obrigado por ser um segundo irmão que a vida me deu.

Isabela por ser mais que uma amiga, ser quase uma segunda mãe, obrigado além de proporcionar momentos felizes e risadas. Obrigado por todo suporte, ouvindo reclamações e frustrações, me apoiando desde sempre antes mesmo de ingressar na universidade. Agradeço todos os conselhos, puxões de orelha que com certeza sem eles dificilmente conseguiria estar onde estou hoje.

Anne, presentinho que a universidade me trouxe uma amizade que sempre pude me apoiar ao longo do curso, muito obrigada pelas distrações nos momentos apertados do curso e da vida, pelos momentos sinceros. Tu és incrível pra mim obrigada pela amizade.

Letícia por todas as risadas, zueiras, conselhos, apoio nos bons e maus momentos você com certeza é uma das amizades que vou levar da universidade pra vida! joga o dado.

João Victor que eu nunca chamei de João, Vitin obrigado por ser um amigo incrível, por todos os momentos de irmandade e jogos variados que por muitas vezes me fizeram esquecer alguns obstáculos que a universidade trouxe.

Higor amizade que começou por causa de um joguinho mais que seguirá por toda a vida obrigado por todas as risadas e momentos de descontração, você tem uma energia incrível que deixa todos ao seu redor felizes.

Paulo obrigado pela parceria e conselhos em todos os momentos sejam bons ou ruins da universidade, ou nos momentos de descontração parecendo até uma dupla dinâmica.

A vitória e Nephtys que tem que ser citadas em duplas por não se desgrudarem uma da outra, obrigada por serem amigas incríveis que a universidade trouxe que levarei para a vida obrigado por todas as danças e momentos que me fizeram rir e ser bastante feliz.

A Vanessa minha orientadora maravilhosa que me incentivou e apoiou imensamente durante toda a execução deste trabalho, obrigado por todo o conhecimento

passado a mim e obrigado por servir como inspiração de uma profissional de excelência que um dia espero me tornar também. Como já deu certo uma vez vou fazer o mesmo pedido, já deixe reservada ai uma vaguinha para ser orientadora no meu mestrado também, caminho que graças a você consegui me imaginar seguindo se Deus permitir.

A Jair por todos os conselhos, dicas, ensinamentos e direcionamentos obrigado por tudo.

A UFCG por todo o conhecimento, amizades , momentos bons que me fizeram feliz , pelos momentos difíceis que me fortaleceram e com certeza me capacitaram para ser um profissional capaz de lidar com as adversidades que poderei encontrar no futuro. O período em que passei aqui nunca será esquecido!

Milagres só acontecem com as pessoas que não desistem.
ONE PIECE

COSTA, M. W. P. **Obtenção de extrato de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) e avaliação do seu potencial antioxidante.** 2024. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal de Campina Grande, Cuité, 2024.

RESUMO

O *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) conhecido popularmente como limãozinho, mamica-de-cadela, mamica-de-porco, entre outros, possui um alto teor de compostos bioativos com ação antioxidante, podendo atender a nova demanda do mercado consumidor. Os antioxidantes sintéticos vêm sendo utilizados pela indústria para preservar a qualidade nutricional e sensorial dos produtos cárneos, pois evitam reações químicas que causam um sabor desagradável. Porém, há uma forte tendência para uma substituição dos antioxidantes sintéticos pelos naturais, uma vez que estes estão associados a efeitos carcinogênicos e mutagênicos. Dessa forma, objetivou-se obter extratos a partir das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) para avaliação de seu potencial antioxidante. Para tal, os extratos serão obtidos por agitação por 15 minutos a 40°C utilizando álcool etílico 40%, 60% e 80% e a partir destes será determinado o teor de fenólicos totais, flavonoides totais e a atividade antioxidante pelos métodos de FRAP e ABTS.

Palavras-chaves: Tecnologia dos alimentos, Método FRAP, Método ABTS.

ABSTRACT

Zanthoxylum rhoifolium (Lam.), popularly known as limãozinho, mamica-de-cadela, mamica-de-porco, among others, has a high content of bioactive compounds with antioxidant action, and can meet the new demand of the consumer market. Synthetic antioxidants have been used by the industry to preserve the nutritional and sensorial quality of meat products, as they prevent chemical reactions that cause an unpleasant taste. However, there is a strong tendency to replace synthetic antioxidants with natural ones, as these are associated with carcinogenic and mutagenic effects. Therefore, the objective was to obtain extracts from the leaves of *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) to evaluate their antioxidant potential to this end, the extracts will be obtained by shaking for 15 minutes at 40°C using 40%, 60% and 80% ethyl alcohol and from these the content of phenolics, total flavonoids and antioxidant activity will be determined using the FRAP and ABTS methods.

Keywords: Food technology, FRAP method , ABTS method.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	13
3.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS	13
3.1.1 <i>Zanthoxylum rhoifolium</i> (Lam.)	13
3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS	14
3.3 CONSERVANTE SINTÉTICOS E SEUS IMPACTOS À SAÚDE.....	14
3.4 TENDÊNCIAS DE SAUDABILIDADE.....	14
3.5 EXTRATOS VEGETAIS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS	15
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1 TIPO DE ESTUDO	16
4.2 MATÉRIA PRIMA E OBTENÇÃO DO EXTRATO	16
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS	18
4.3.1 Composição Físico-químico das folhas	19
4.3.2 Determinação do conteúdo de fenólicos totais	19
4.3.3 Determinação de Flavonóides Totais	19
4.3.4 Método do radical ABTS.....	19
4.3.5 Método FRAP	20
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	23
REFERÊNCIAS.....	24
APÊNDICE	28

1 INTRODUÇÃO

Os produtos cárneos podem se deteriorar rapidamente devido aos processos oxidativos e o crescimento microbiano no decurso da cadeia produtiva (Krishnan *et al.*, 2014). Comumente as indústrias alimentícias adicionam antioxidantes sintéticos que podem inibir ou minimizar a oxidação lipídica, entretanto, sua utilização é limitada a determinadas quantidades, ademais, estes aditivos sintéticos foram identificados como agentes toxicológicos e cancerígenos, e ainda estão associados a problemas como rinite, cefaleia, alergias, asma e diaforese (Kumar *et al.*, 2015; Lorenzo *et al.*, 2014; Krishnan *et al.*, 2014).

Já os antioxidantes naturais podem agir como antioxidantes, antimicrobianos e realçadores de sabor, que consequentemente podem preservar e melhorar a vida útil, a qualidade sensorial e nutricional da carne e dos produtos cárneos (Hygreeya, Pandey, Radhakrishna, 2014; Karre, Lopez, Getty, 2013; Shah, Don Bosco, Mir, 2014). Sendo assim, a adição dos mesmos pode satisfazer a expectativa do consumidor, que não deseja a alteração de cor, sabor e aroma destes produtos a serem lançados, quando comparados aos convencionais (Bagnara, 2015).

Existem plantas que ainda são pouco exploradas pela comunidade técnico-científica, necessitando serem mais exploradas, entre elas estão as plantas alimentícias não convencionais (PANC), a *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) além de PANC é uma árvore da família Rutáceas, que pode ser popularmente conhecida como limãozinho, mamica-de-porca, maminha-preta, mamica-de-cadela, espinheiro, entre outras nomenclaturas.

Mais de 400 metabólitos secundários já foram isolados e caracterizados na espécie vegetal supracitada, esses compostos possuem diversas atividades biológicas que compreendem alcalóides, flavonóides, cumarinas, lignanas, álcoois, ácidos graxos, amidas, monoterpenos e hidrocarbonetos. Os extratos brutos, frações e compostos químicos isolados do gênero demonstraram uma ampla gama de atividades biológicas *in vivo* e *in vitro*, incluindo; anticâncer, antimicrobiano, anti-falciforme, hepatoprotetor, antitumoral e outras atividades farmacológicas (Mutinda *et al.*, 2023).

Diante do exposto, os antioxidantes artificiais trazem inúmeros malefícios à saúde humana a longo prazo, portanto a tendência é que a indústria busque métodos de substituição aos aditivos sintéticos, uma vez que a população busca cada vez mais uma alimentação saudável. Entretanto, como substituir os antioxidantes sintéticos mantendo a sua função antioxidante sem trazer malefícios à saúde humana?

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade antioxidante de extratos obtidos a partir de folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Obter extratos hidroalcoólicos em diferentes concentrações a partir das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.);
- ✓ Determinar o conteúdo de compostos fenólicos totais e flavonóides totais dos extratos obtidos;
- ✓ Quantificar a atividade antioxidante dos extratos obtidos pelos métodos ABTS e FRAP;
- ✓ Identificar o extrato com maior atividade antioxidante.

3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS

Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) é a nomenclatura utilizada para definição de plantas nativas que possuem excelentes características nutricionais (a exemplo de uma exacerbada quantidade de compostos bioativos), as quais podem proporcionar uma gama de benefícios à saúde humana, porém, estas ainda são desconhecidas por grande parcela da população (Kinupp; Lorenzi, 2014). Apesar de não serem cultivadas em larga escala, as PANC apresentam um papel importante no desenvolvimento sustentável, diante de suas altas adaptabilidades, ao solo e ao clima, o que demanda poucos cuidados para seus crescimentos, visto que a maioria destas possuem origem espontânea (Kinupp, 2007).

Diante dos aspectos supracitados, ainda pode-se afirmar que essas plantas possuem uma relação íntima com a soberania alimentar, uma vez que tornam possíveis o poder de escolha de alimentos livres de insumos químicos, tanto quanto a ampliação da diversidade alimentar, de forma considerável, em que, conseqüentemente, atua no aumento da variedade de substâncias nutricionais presentes nos alimentos postos à mesa (Filho, 2015).

3.1.1 *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.)

Dentre as PANC, destaca-se o *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) uma espécie de maior distribuição geográfica, ocorrendo desde o México até o Uruguai. No Brasil está presente em praticamente todo o território nacional, desde o Norte ao Sul. Esta espécie pertence à família(Rutaceae) apresenta árvores com 3 a 15m de altura, tronco e ramos aculeados; as folhas são imparipinadas, com tricomas estrelados a glabrescentes, odoríferas; as inflorescências são do tipo terminal ou nas axilas de folhas superiores; as floressão esverdeadas; os frutos maduros apresentam coloração preta apresentando numerosas glândulas salientes no pericarpo com aroma acentuado; as sementes possuem hilo linear (Reflora, 2019; Costa *et al.*, 2017).

Conhecida popularmente como limãozinho, mamica-de-porca, maminha-preta, mamica-de-cadela, espinheiro, entre outras. Espécies do gênero *Zanthoxylum* (Rutaceae), apresentam uma variedade de metabólitos secundários que podem ser encontrados nas raízes, caule, ramos e folhas. Dentre os compostos isolados e identificados na literatura destacam-se os alcalóides, lignanas, ligninas, flavonoides, taninos, cumarinas, esteróides, triterpenos, glicosídeos, saponinas e óleos essenciais, dos quais apresentam várias propriedades terapêuticas que podem estar relacionados ao uso popular como medicinais (Narain *et al.*, 2017; Tiné *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2016; Tavares *et al.*, 2014).

Estudos têm indicado que extratos hidroalcoólicos a base das sementes ou frutas do gênero *Zanthoxylum* apresentam um potencial antioxidante interessante. (Iraq; Rasooli, 2011). Entretanto, há poucos estudos acadêmicos encontrados na literatura acerca da

atividade antioxidante de extratos hidroalcoólicos obtidos a partir das folhas de *zanthoxylum rhoifolium*(Lam.).

3.2 COMPOSTOS FENÓLICOS E FLAVONOIDES TOTAIS

Os compostos fenólicos são encontrados em plantas comestíveis e não comestíveis e podem ter uma variedade de efeitos biológicos, entre eles a atividade antioxidante. Extratos de frutas, ervas, vegetais, grãos e outros materiais vegetais ricos em compostos fenólicos estão atraindo a atenção da indústria alimentícia porque podem melhorar a qualidade e o valor nutricional dos alimentos produzidos, retardando a degradação oxidativa dos lipídios. (Kahkonen *et al.* ; 1999).

Flavonoides são fitoquímicos que trazem efeitos benéficos para a saúde. Majoritariamente os tecidos vegetais são capazes de sintetizar flavonóides, dos quais pelo menos 2.000 são encontrados na natureza, incluindo frutas comestíveis, vegetais folhosos, raízes, tubérculos, ervas, especiarias, vegetais, chá, café, vinho tinto entre outros. Os flavonóides podem ser divididos em sete grupos: flavonas, flavanonas, flavonóis, isoflavonas, catequinas e antocianinas (Damodaran; Parkin; Fennema, 2010).

3.3 CONSERVANTE SINTÉTICOS E SEUS IMPACTOS À SAÚDE

De acordo com Couvelier, Berset & Richard (1994), a oxidação lipídica é o principal causal da deterioração química dos alimentos, portanto a indústria há mais de meio século a fim de diminuir ou prevenir esta problemática se adaptou e aderiu a utilização de antioxidantes sintéticos na produção de alimentos.

Embora os antioxidantes sintéticos possam inibir ou minimizar a oxidação lipídica, sua utilização é limitada a determinadas quantidades, ademais, estes aditivos sintéticos foram identificados como agentes toxicológicos e cancerígenos, e ainda estão associados ao surgimento de problemas como rinite, cefaleia, alergias, asma, diaforese entre outros (Kumar *et al.*, 2015; Lorenzo *et al.*, 2014; Krishnan *et al.*, 2014).

3.4 TENDÊNCIAS DE SAUDABILIDADE

Nos dias de hoje estudos apontam que o movimento rotulo limpo (clean label) vem ganhando bastante adesão no setor de produção de alimentos. Uma vez que este movimento tem se tornado uma tendência entre os consumidores buscando cada dia mais alimentos que aparentam ser mais saudáveis, ou seja, com rotulagem simplificada, com informações compreensíveis e transparentes com o cliente. (Addy, 2012; Ingredion, 2014).

Esta tendência gera um cuidado crescente dos consumidores com a quantidade de aditivos sintéticos adicionados aos gêneros alimentícios, aumentando o consumo por produtos mais simplificados. (Ital,2010).

3.5 EXTRATOS VEGETAIS NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Produtos conhecidos como fitoquímicos, extraídos de plantas, têm demonstrado possuir potencial para preservação de alimentos passando a serem cogitados como conservantes naturais. Neste sentido, estudos têm comprovado propriedades antimicrobianas e antioxidantes de extratos obtidos de plantas (Wong; Kitts, 2006; Almeida *et al.*, 2008).

Porém, tanto o limãozinho, como seu extrato, apesar de serem comestíveis, são subutilizados no setor comercial, o que desencadeia em um grande desperdício nutricional, cabendo então a criação de estratégias que englobem a tecnologia de alimentos, tornando possível o emprego efetivo desse vegetal e seu extrato em preparações e formulações (Almeida *et al.*, 2011).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

O presente estudo trata-se de uma pesquisa exploratória acerca do extrato da folha de *Zanthoxylum rhoifolium* e sua atividade antioxidante.

4.2 MATÉRIA PRIMA E OBTENÇÃO DO EXTRATO

As folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) foram coletadas na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)/PB. A árvore já está depositada sob registro de n° 2191, no herbário da UFCG. Os extratos e as análises foram realizados no Laboratório de Bromatologia da UFCG.

Para obtenção do extrato as folhas foram selecionadas manualmente, lavadas com água corrente, higienizadas por 15 minutos em solução de hipoclorito de sódio (200 ppm) e enxaguadas com água destilada. Em seguida, foram dispostas em bandejas de aço inox e posteriormente levadas à estufa de ar sob temperatura de 40°C por 24 horas para secagem. Após o período de secagem passaram por trituração em moinho onde a farinha obtida foi armazenada em embalagens a vácuo, até a obtenção do extrato.

Os extratos foram obtidos a partir da amostra previamente moída, pesada em um béquer e adicionada de solvente (álcool etílico nas concentrações de 40, 60 , 80%) na proporção 1:10 (g/v). Em seguida esta mistura foi levada a chapa de aquecimento e submetida à agitação constante, utilizando barra magnética por tempo (60 minutos) em temperatura de 40 °C. Após o aquecimento e agitação os extratos passaram por filtração em papel filtro e foram centrifugados a 3000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi concentrado em rotaevaporadora, sendo em seguida acondicionado em frasco âmbar e armazenado em freezer (-18 °C) até o momento das análises.

Figura 01- Folhas do limãozinho higienizadas.



Fonte: Aatoria própria (2024).

Figura 02- Folhas do limãozinho dispostas na estufa para secagem.



Fonte: Aatoria própria (2024).

Figura 03- Folhas do limãozinho em processo de trituração.



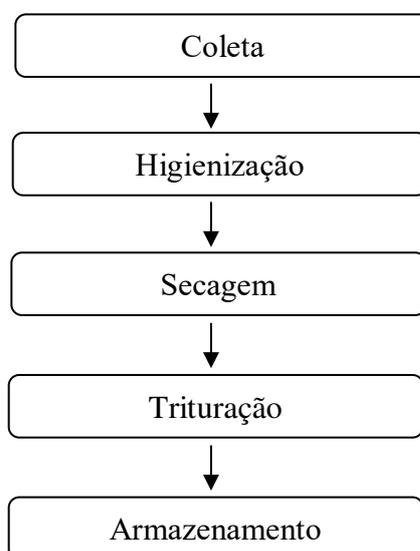
Fonte: Aatoria própria (2024).

Figura 04- Farinha de limãozinho.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 4 – Fluxograma do processamento da farinha.



Fonte: Autoria própria (2024).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS

4.3.1 Composição Físico-químico das folhas

As folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.) utilizadas nesta pesquisa apresentaram a seguinte composição físico-química 5,93 de pH , 17,7 de acidez titulável, 0,492 de atividade de água, 8,55 de umidade, 9,55 de cinzas, 6,2 de lipídeos e 18,05 de proteínas.

4.3.2 Determinação do conteúdo de fenólicos totais

Para a determinação de fenólicos totais foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton *et al.* (1999) com modificações. Para a reação colorimétrica, uma alíquota de 0,4 mL da solução etanólica do extrato previamente diluída foi adicionada de 2,0 mL de solução aquosa do reativo de Folin-Ciocalteu a 10% e 1,6 mL de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura passa por incubação durante 5 minutos em banho-maria a 50°C para desenvolvimento da cor. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro (SP – 220 marca Biospectro) a 760 nm, utilizando-se o branco da amostra como referência. A quantificação de compostos fenólicos totais da amostra foi realizada por meio de uma curva padrão preparada com ácido gálico e expressa como equivalentes de ácido gálico (EAG). A análise foi realizada em triplicata e o valor apresentado como a média (\pm desvio padrão).

4.3.3 Determinação de Flavonóides Totais

O teor de flavonoides totais foi determinado de acordo com o método proposto por Zhishen *et al.* (1999). Em um tubo de ensaio, uma alíquota de 0,5 mL do respectivo extrato foi adicionada à 2 mL de água destilada, também se adicionou 0,15 mL de nitrito de sódio e, após 5 minutos, 0,15 mL de cloreto de alumínio. Depois de 6 minutos foi adicionado 2 mL de solução de hidróxido de sódio a 1 M e 1,2 mL de água destilada. A solução foi agitada e a absorvância medida (510 nm) contra um branco do reagente preparado. O teor de flavonoides totais foi expresso em mg equivalente de catequina. As análises foram realizadas em triplicata e os valores apresentados com a média (\pm desvio padrão).

4.3.4 Método do radical ABTS

A atividade antioxidante pelo método ABTS foi realizada conforme metodologia descrita por Sariburun *et al.*, (2010) com algumas modificações. O radical ABTS foi formado pela reação da solução ABTS^{•+} 7mM com a solução de persulfato de potássio 140 mM, incubados a temperatura de 25°C, no escuro durante 12-16 horas. Uma vez formado o radical, será diluído em água destilada até obter o valor de absorvância de $0,700 \pm 0,020$ a 734 nm. A partir do extrato, serão preparadas quatro soluções diferentes,

em triplicatas. Em ambiente escuro será transferido uma alíquota de 15 μ L do extrato para tubos de ensaio contendo 1,5 μ L do radical ABTS. A leitura foi realizada após 30 minutos da reação a 734 nm em espectrofotômetro (SP- 220 marca Biospectro). O branco da reação foi preparado conforme o procedimento descrito acima, sem adição da amostra. Como referência, será utilizado o Trolox e os resultados serão expressos em μ M trolox/g de amostra.

4.3.5 Método FRAP

Para determinação da atividade antioxidante por meio da redução do ferro foi utilizada a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996), adaptada por Rockenbach *et al.* (2011). O reagente FRAP foi preparado (somente no momento da análise) através da mistura de 11 mL de tampão acetato (0,3M, pH 3,6), 1,1 mL de solução TPTZ (10mM em HCl 40mM) e 1,1 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20mM). Em um tubo de ensaio, uma alíquota de 200 μ L do extrato foi adicionada a 1800 μ L do reagente FRAP, a solução foi incubada em banho-maria a 37°C por 30 minutos. Para cada amostra foi realizado um branco (sem adição do extrato). As absorbâncias foram medidas após o tempo de incubação em espectrofotômetro (comprimento de onda de 593 nm). A curva de calibração foi feita com Trolox e os resultados expressos em μ mol/g de amostra.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as determinações foram realizadas em triplicata, os dados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA). As médias serão comparadas pelo teste de Tukey, considerando o nível de significância de 95% ($p < 0,05$), utilizando o pacote estatístico SPSS 17.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 aborda a atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* apresentando os dados obtidos de compostos fenólicos totais, flavonoides totais e dados resultantes da análise realizada através dos métodos FRAP e ABTS. A utilização de ambas as técnicas possibilita uma avaliação mais abrangente e fidedigna da capacidade antioxidante, que é essencial para agir contra danos oxidativos comuns durante a cadeia de produção. Os resultados expressos na tabela 1 oferecem uma visão detalhada das propriedades antioxidantes de cada amostra.

Tabela 1. Resultado da atividade antioxidante de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.)

Parâmetros	Variação de extratos			
	40%	60%	80%	Aquoso
Fenólicos Totais (mg/100g)	4584 ^a ±	3421 ^b ±	1606 ^c ±	1550 ^c ±
Flavonóides Totais (mg/100g)	5836 ^a ±	5703 ^b ±	2413 ^c ±	1029 ^d ±
FRAP (µmol trolox TEAC/g)	16,01 ^a ±	9,467 ^b ±	5,573 ^c ±	3,997 ^d ±
ABTS⁺ (µmol trolox TEAC/g)	170,9 ^a ±	95,2 ^b ±	41,94 ^d ±	55,69 ^c ±

Fonte: Autor. Resultados expressos em média (n=3) ± desvio padrão. Letras minúsculas em expoente diferem entre si pelo teste estatístico ANOVA seguido do teste de Tukey (p<0,05).

Com base na **Tabela 1** quando analisados os compostos fenólicos dos extratos etanólico-aquoso das folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.), constatou-se a presença de compostos fenólicos em todos os extratos analisados.

Ainda em relação aos fenólicos totais segundo a **Tabela 1** o extrato 40% etílico apresentou valores significativamente superior aos demais compostos, os extratos com 80% de álcool e o extrato aquoso não apresentaram variação significativa entre si e demonstraram os menores valores entre os extratos.

De acordo com a **Tabela 1** em todos os extratos etanólico-aquoso das folhas de limãozinho constatata-se a presença de flavonoides totais.

Quanto aos flavonoides totais o extrato 40% etílico apresentou valores significativamente superior aos demais extratos. Enquanto o extrato aquoso apresentou o menor valor entre os extratos como pode ser observado na **Tabela 1**.

Segundo a **Tabela 1** todos os extratos de limãozinho, analisados tanto pelo método FRAP como os extratos que foram analisados pelo método ABTS, apresentaram atividade antioxidante. Entretanto, constata-se também que a capacidade antioxidante em todos os extratos, apresentaram resultado significativamente superior quando foram

analisados pelo método de ABTS, comparado aos resultados obtidos quando analisados pelo método FRAP.

Essa diferença significativa entre métodos também pode ser observada no estudo de Floegel *et al.* (2011), que ao analisarem a capacidade antioxidante de 19 bebidas, 18 frutas e 13 legumes consumidos no território dos Estados Unidos da América (EUA), constataram que a capacidade antioxidante de bebidas, frutas e legumes detectadas nos ensaios por ABTS⁺, foram significativamente superior, quando comparadas aos ensaios pelo método DPPH. Os autores afirmam que o método ABTS⁺ conseguiu refletir melhor os antioxidantes hidrofílicos e de alta pigmentação, sugeriram ainda que o método ABTS⁺ pode ter mais utilidade que o método DPPH para detecção da atividade antioxidante em uma variedade de alimentos.

Garcia (2019) avaliou a capacidade antioxidante do extrato foliar de *Pereskia aculeata* por ABTS⁺, encontrando como resultado $40,5 \pm 1 \mu\text{g/ml}$ e Trolox apresentando ABTS⁺ $79,3 \pm 3,0 \mu\text{g/ml}$.

Quando comparados os resultados dos extratos observa-se que a capacidade antioxidante pelo método ABTS⁺ do extrato de *Zanthoxylum rhoifolium* nas concentrações 40% e 60% etílico é superior a capacidade antioxidante do extrato foliar de *Pereskia aculeata*, e inferior quando comparados os resultados obtidos a partir dos extratos de *Zanthoxylum rhoifolium* 80% etílico e aquoso

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os compostos fenólicos, especialmente os flavonóides, agem como antioxidantes, não somente por sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios. (Silva, 2010). Entretanto por mais que os aditivos sintéticos possam desempenhar o efeito antioxidante que é vital para a cadeia produtiva eles trazem danos a saúde humana podendo estar associados ao surgimento de algumas patologias. Portanto é de extrema importância a pesquisa acerca de opções de antioxidantes naturais possibilitando a diminuição e futuramente a substituição completa dos conservantes artificiais que trazem danos à saúde humana por aditivos naturais que consigam manter o efeito antioxidante essencial para a indústria de alimentos, porém sem trazer malefícios ao bem estar da população. Com este objetivo o extrato da folha de *Zanthoxylum rhoifolium* 40% etílico entre todos os extratos observados, apresentou o melhor potencial para desenvolvimento de produto conservante uma vez que apresentou valores significativamente superior em todos os parâmetros analisados.

REFERÊNCIAS

- ADDY, R. Clean label becomes Europe-wide trend. **Food Navigator**. 2012. Disponível em: <https://www.foodnavigator.com/Article/2012/08/07/Clean-labelbecomes-Europe-wide-trend>. Acesso em: mai.2024.
- ALMEIDA, P. L. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.3, p.875-881, 2008.
- ALMEIDA, M. M. *et al.* Estudo cinético e caracterização da bebida fermentada do *Cereus jamacaru* P. DC. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 176- 183, 2011.
- AOAC. **Official methods of analysis of the Association Analytical Chemists**. 18. ed. Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BIBLIOTECA digital de la medicina tradicional mexicana (BDMT). **Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana: *Malvaviscus arboreus* Cav.** 2009. Disponível em: <<http://bit.ly/291d1DY>>. Acesso em: 02 de maio de 2024.
- BAGNARA, F. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n. 457, p. 50-55, 2015.
- BHASKAR, A.; NITHYA, V.; VIDHYA, V. G. Phytochemical screening and *in vitro* antioxidante activities of the ethanolic extract of *Hibiscus rosa sinensis*. L. **Annals of Biological Research**, v. 2, n. 5, p. 653-661, 2011.
- BENZIE, I. F. F, STRAIN, J. J. Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. **Anal Biochem**, v. 239, p. 70-76, 1996.
- CUVELIER, M. E.; BERSET, C.; RICHARD, H. Antioxidant constituent in sage (*Salvia officinalis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.42, p.665-669, 1994.
- COSTA, ECC. *et al.* Essential oil repellente action of plants of the genus *Zanthoxylum* against Bemisia tabaci biotype B (Homoptera: Aleyrodidae). **Scientia Horticulturae**, v. 226, p. 327-332, 2017.
- DAMODARAN, Srinivasan; PARKIN, L Kirk; FENNEMA, Owen R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 Ed. Editora; Artmed, 2010, 900p.
- EMBARAPA. **Boletim do Centro de Inteligência e Mercado de Caprinos e Ovinos**, n. 2, 2020.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. **Manual de hortaliças não convencionais** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. – Brasília: Mapa/ACS, 2010.

FILHO, G. X. P. Agroecologia e recursos alimentares não convencionais: contribuições ao fortalecimento da soberania alimentar e nutricional. **Campo-Território: revista de geografia agrária**, v. 10, n. 20 p. 227-245, jul., 2015.

FLOEGEL, A.; DAE-OK, K.; SANG-JIN, C.; SUNG, I. K.; OCK, K. C. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, Netherlands, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>

FRANÇA, F. C. O. *et al.* Mudanças dos hábitos alimentares provocados pela industrialização e o impacto sobre a saúde do brasileiro. **Anais do 1º Seminário Alimentação e Cultura na Bahia**, p. 1-7, 2013.

GIOMBELLI, L.; HORN, A. C.; COLACITE, J. Perfil fitoquímico e atividade antimicrobiana das folhas de *Malva sylvestris* (Malvaceae). **Revista de Biologia e Saúde da Unisep**, v. 5, n.2, p. 17-22, 2012.

HYGREEVA, D.; PANDEY, M. C.; RADHAKRISHNA, K. Potential applications of plant based derivatives as fat replacers, antioxidants and antimicrobials in fresh and processed meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 47-57, 2014.

KAHKONEN, Marja P. *et al.* Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. **Journal Agricultural Food Chemistry**. v.47, p.3954-3962,1999.

KARRE, L.; LOPEZ, K.; GETTY, K. J. K. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat Science**, v. 94, n. 2, p. 220–227, 2013.

IRAJ RASOOLI. **Bioactive compounds in phytomedicine / monograph**. Rijeka, Croatia: Intech, 2011.

ITAL. **Brasil Food Trends 2020**. São Paulo: Federação das Indústrias do Estado de São Paulo: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2010.

Jéssica Amanda Andrade Garcia *et al.* Perfil fitoquímico e atividades biológicas das folhas de 'Ora-pro-nóbis' (*Pereskia aculeata* Miller). In: VII SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA, 2019, Londrina. Anais eletrônicos... Campinas, Galoá, 2019. Disponível em: <<https://proceedings.science/simbbtec2019/trabalhos/perfil-fitoquimico-e-atividades-biologicas-das-folhas-de-ora-pro-nobis-pereskia?lang=pt-br>> Acesso em: 20 Mai. 2024.

KINUPP, V. F. **Plantas alimentícias não-convencionais da região metropolitana de Porto Alegre, RS**. 2007. 590f. (Tese de Doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2014.

KRISHNAN, K. R. *et al.* Bio protection and preservation of raw beef meat using pungent aromatic plant substances. **Journal of the Science of Food and agriculture**, v. 94, n. 12, p. 2456-2463, 2014.

KUMAR, Y. *et al.* Recent trends in the use of natural antioxidants for meat and meat products. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 6, p. 796-812, 2015.

LIM, T. K. **Edible medicinal and non-medicinal plants: flowers**. Springer: Dordrecht, 2014. v. 8.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustas, herbaceas e trepadeiras**. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2001.

LORENZO, J. M. *et al.* Influence of natural extracts on the shelf life of modified atmosphere-packaged pork patties. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 526-534, 2014.

NURAIN, I. O., *Et al.* Potential of Three Ethnomedicinal Plants as Antisickling Agents *Mol. Pharmaceutics*, vol. 14, no. 1, pp 172–182. 2017.

PEREIRA, M. G. **Aplicação de antioxidantes naturais em carne mecanicamente separada (CMS) de ave**. 2009. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

RAHARJO, S. *et al.* Improved speed, specificity, and limit of determination of an aqueous acid extraction thiobarbituric acid – C18 method for measuring lipid peroxidation in beef. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 40, n. 11, p. 2182-2185, 1992.

RAMACHANDRAN, S. *et al.* Phytochemical studies and pharmacological screening of *Sida rhombifolia* Linn. **Hygeia: Journal for Drugs and Medicines**, v. 5, n. 1, p. 19-22, 2013.

RAMMAL, H. *et al.* Preliminary phytochemical screening and extractions of polyphenol from stems and leaves of a Lebanese plant *Malva parviflora* L. **International Journal of Current Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 1, p. 55-59, 2012.

REFLORA. Rutaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB1162>.

ROCKENBACH, I. I. *et al.* Phenolic compounds content and antioxidant activity in pomace from selected red grapes (*Vitis vinifera* L. and *Vitis labrusca* L.) widely produced in Brazil. **Food Chemistry**, v. 127, p. 174-179, 2011.

SARIBURUN, E. *et al.* Phenolic content and antioxidant activity of raspberry cultivars. **J. Food Sci**, v. 75, p. 328-335, 2010.

SHAH, A. M.; DON BOSCO, S. J.; MIR, S. A. Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 21-33, 2014.

SHOWANDE, S. J. *et al.* In vitro inhibitory activities of the extract of *Hibiscus Sabdariffa* L. (family Malvaceae) on selected cytochrome P450 isoforms. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 10, n. 3, p. 533-540, 2013.

SILVA, C. J. **Desenvolvimento de preparado de fruta com massa base de casca de maracujá e aplicação em iogurte**. 2015. 76 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Engenharia Mauá do Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia, São Caetano do Sul, 2015.

SILVA, Marília Lordêlo Cardoso *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Seminário: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-681, 2010.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol**, n. 299, p. 152-178, 1999.

TERRA, N. N. **Apontamentos de tecnologia de carnes**. São Leopoldo: Unisinos, 1998, 226 p.

TINE, Y., RENUCCI, F., COSTA, J., WÉLÉ, A. AND PAOLINI, J., A Method for LC-MS/MS Profiling of Coumarins in *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) B. Zepernich and Timler Extracts and Essential Oils. *Molecules*, vol. 22, no. 1, pp. 1-13. 2017.

WONG, Y.Y.P.; KITTS, D.D. Studies on the dual antioxidant and antimicrobial properties of parsley (*Petroselinum crispus*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. **Food Chemistry**, v.97, p.505-515, 2006.

ZHISHEN, J. *et al.* The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.

ZHANG, J., FANG, Z., CAO, Y. AND YANG, W.,. Effect of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim on the Lipid Oxidation and Fatty Acid Composition of Dry-Cured Fish During Processing. **Journal of Food processing and preservation**, vol. 31, no. 13, pp. 1715-1722. 2016.

APÊNDICE

APÊNDICE A – Tabela de análise antioxidante dos extratos

Tabela 1. Resultado da atividade antioxidante de *Zanthoxylum rhoifolium* (Lam.)

Parâmetros	Variação de extratos			
	40%	60%	80%	Aquoso
Fenólicos Totais (mg/100g)	4584 ^a ±	3421 ^b ±	1606 ^c ±	1550 ^c ±
Flavonóides Totais (mg/100g)	5836 ^a ±	5703 ^b ±	2413 ^c ±	1029 ^d ±
FRAP (µmol trolox TEAC/g)	16,01 ^a ±	9,467 ^b ±	5,573 ^c ±	3,997 ^d ±
ABTS (µmol trolox TEAC/g)	170,9 ^a ±	95,2 ^b ±	41,94 ^d ±	55,69 ^c ±

Fonte: Autor. Resultados expressos em média (n=3) ± desvio padrão. Letras minúsculas em expoente diferem entre si pelo teste estatístico ANOVA seguido do teste de Tukey (p<0,05).

Figura 01- Folhas do limãozinho higienizadas.

Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 02- Folhas do limãozinho dispostas na estufa para secagem.



Fonte: A autoria própria (2024).

Figura 03- Folhas do limãozinho em processo de trituração.



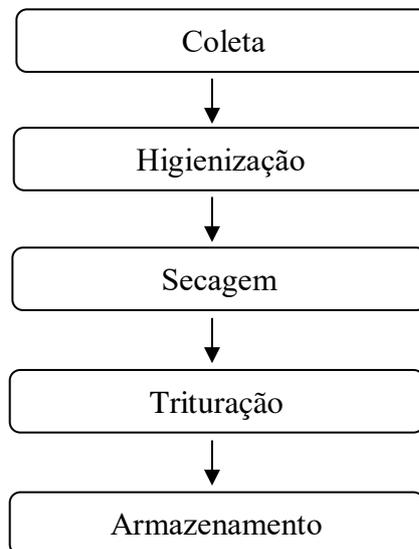
Fonte: A autoria própria (2024).

Figura 04- Farinha de limãozinho.



Fonte: Autoria própria (2024).

Figura 5 – Fluxograma do processamento da farinha.



Fonte: Autoria própria (2024).

