

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

JOSIÉLI DE OLIVEIRA DOS SANTOS VEIGA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DAS FOLHAS DE *Echinodorus grandiflorus* COM APLICAÇÃO EM
IOGURTE**

**PONTA GROSSA
2025**

JOSIÉLI DE OLIVEIRA DOS SANTOS VEIGA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS
BIOATIVOS DAS FOLHAS DE *Echinodorus grandiflorus* COM APLICAÇÃO EM
IOGURTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pertencente ao Setor de Engenharias, Ciências Agrárias e de Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Aline Alberti.

PONTA GROSSA

2025

V426 Veiga, Josiéli de Oliveira dos Santos
Caracterização química e otimização da extração de compostos bioativos das folhas de *Echinodorus grandiflorus* com aplicação em iogurte / Josiéli de Oliveira dos Santos Veiga. Ponta Grossa, 2025.
116 f.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Área de Concentração: Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Aline Alberti.

1. Compostos fenólicos. 2. Antioxidantes. 3. Chapéu-de-couro. 4. Alimentos funcionais. 5. Ultrassom. I. Alberti, Aline. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ciências e Tecnologia de Alimentos. III.T.

CDD: 664

TERMO DE APROVAÇÃO

JOSIÉLI DE OLIVEIRA DOS SANTOS VEIGA

“Caracterização química e otimização da extração de compostos bioativos das folhas de *Echinodorus grandiflorus* com aplicação em iogurte”

Dissertação aprovada como requisito para obtenção do grau de Mestre(a) no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:

Documento assinado digitalmente
 **ALINE ALBERTI**
Data: 19/11/2025 15:24:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Aline Alberti - UEPG-PR - Presidente

Documento assinado digitalmente
 **ACACIO ANTONIO FERREIRA ZIELINSKI**
Data: 19/11/2025 16:36:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Acácio Antonio Ferreira Zielinski - UFSC-SC - Membro Titular Externo

Documento assinado digitalmente
 **ALESSANDRO NOGUEIRA**
Data: 09/12/2025 10:48:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG-PR - Membro Titular Interno

Documento assinado digitalmente
 **RENATA DINNIES SANTOS SALEM**
Data: 19/11/2025 18:41:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Renata Dinnies Santos Salem - UEPG-PR - Membro Titular Interno

Ponta Grossa, 19 de novembro de 2025.

Dedico essa dissertação aos meus amados filhos Camila e Caio, ao meu esposo, Sérgio, à minha família. E aos pais atípicos que a coragem e a esperança nunca nos deixem.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, Pai amoroso, por me conduzir ao lugar certo, com as pessoas certas, sustentando-me nas dificuldades e permitindo meu crescimento intelectual e moral.

À minha família, meu porto seguro. Ao meu esposo, Sérgio, pelo incentivo constante e apoio incondicional. Aos meus filhos, Caio e Camila, que são minha motivação diária para nunca desistir.

Aos meus pais, Maria Oranda Zappe e Cerineu de Oliveira, pelo carinho, incentivo e apoio inabalável. Para meus cunhados, Vera e Osvaldo, pela valiosa ajuda com nossos pequenos nas minhas ausências durante as aulas.

Ao meu irmão, Murilo de Oliveira Zappe e ao meu pai, pelo suporte nas coletas de amostras. Aos amigos e colegas de trabalho, pelo incentivo e companheirismo.

Minha sincera gratidão à Prof.^a Dra. Aline Alberti, pela dedicada orientação, paciência e apoio, ensinamentos que levarei comigo como eterna aprendiz. Agradeço também ao Prof.^o Dr. Alessandro Nogueira e à Prof.^a Renata Dinnies Santos Salem pela valiosas contribuições que enriqueceram este trabalho.

Aos colegas de grupo que contribuíram diretamente para o desenvolvimento deste trabalho — Isabela Maria Macedo Simon Sola, Elisandra Detoni, Aline Mayara, João Victor Tischler Nizer e Stephanie Schiavo Romko — muito obrigada pelo empenho e parceria.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia campus Canoinhas pelo suporte no desenvolvimento do trabalho.

Agradecer a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro, à Universidade Estadual de Ponta Grossa e o Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, aos professores, secretaria Eliane, técnica de laboratório Denise os colaboradores da limpeza e do restaurante universitário.

Agradeço de coração a todos que fizeram parte desta caminhada e compartilho com cada um está alegre conquista.

“Os voos de grande altura pedem asas fortes”

André Luiz

RESUMO

As plantas constituem fontes importantes de compostos fenólicos que apresentam atividades antioxidantes e antimicrobianas capazes de contribuir para a prevenção e o controle de diversas doenças. O *Echinodorus grandiflorus* é uma planta muito utilizada popularmente no tratamento de doenças e de forma discreta na produção de bebidas e alimentos. Destacam-se em sua composição os compostos fenólicos e sua atividade antioxidante, características de grande interesse para a indústria alimentícia, que busca atender à crescente demanda por alimentos equilibrados voltados à promoção da saúde. A extração dos compostos bioativos requer processos eficientes e economicamente viáveis. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração dos compostos bioativos das folhas do *E. grandiflorus* e avaliar suas atividades bioativas, seu potencial de aplicação em iogurte, além de caracterizar a composição centesimal de sua folha. As folhas desidratadas apresentaram a seguinte composição (g/100 g): 29,81 g de fibra alimentar, 26 g de carboidratos totais, 20,63 g de proteínas, 11,60 g de cinzas, 4,59 g de lipídios, 7,36 g de umidade e valor de vitamina C $4,47 \pm 0,58$ mg Aa/100 mL e cafeína de $1,44 \pm 0,09$ mg/g, além de pH de $5,99 \pm 0,08$. As melhores condições para extração foi menor granulometria (80 Mesh) juntamente com etanol 60% e temperatura de 80 °C. As condições otimizadas renderam um extrato com teor de compostos fenólicos (TPC) 26,17 mg GAE/g, 25,86 mg CTE/g de flavonoides totais (TF), DPPH 67,73 μ mol TE/g, FRAP 125,32 μ mol TE/g e ABTS 119,74 μ mol TE/g. Com base nesses parâmetros, avaliou-se a influência dos estádios de maturação da folha nas fases nova, madura e velha. Os TPC variaram entre 26,17 e 31,6 mg GAE/g, TF de 25,30 e 25,86 mg CTE/g. Para carotenoides encontraram-se valores entre 0,46 e 0,64 mg/g, o conteúdo total de clorofila variou entre, 2154,70 e 2732,28 mg/g. A concentração de TPC está relacionada com atividade antioxidante DPPH 35,22 – 67,73 μ mol TE/g, FRAP 125,32 μ mol TE/g, ABTS 119,74 μ mol TE/g (entre os estádios de maturação). Para atividade antifúngica, os extratos das folhas maduras obtiveram os melhores resultados com inibição entre 24,12 a 48,74%. O flavonoide isoorientina apresentou a maior concentração nas folhas maduras, $5,605 \pm 0,01$ mg/g. Os resultados sugerem que as condições experimentais adotadas, em conjunto com o uso do ultrassom, influenciaram o rendimento da extração. O extrato das folhas maduras também demonstrou atividade antiglicêmica e capacidade de inibição da lipase pancreática. Utilizando o extrato das folhas maduras na concentração de 0,5%, 1% e 2% observou-se o efeito positivo do extrato na inibição de bolores *in vitro* comparando com o controle. O extrato de *E. grandiflorus* demonstrou atividades biológicas interessantes que estão em parte relacionadas ao flavonoide isoorientina. O iogurte desenvolvido apresentou resistência ao desenvolvimento de fungos no decorrer dos 28 dias de armazenamento, dado de relevância para conservação de produtos lácteos. Destaca-se seu potencial para o desenvolvimento de alimentos funcionais com características interessantes na inibição de bolores deteriorantes de produtos lácteos, reforçando seu valor como fonte natural de compostos bioativos.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; antioxidantes; chapéu-de-couro; alimentos funcionais; ultrassom.

ABSTRACT

Plants are important sources of phenolic compounds that have antioxidant and antimicrobial activities capable of contributing to the prevention and control of various diseases. *Echinodorus grandiflorus* is a plant widely used in the treatment of diseases and discreetly in the production of beverages and foods. Its composition is notable for its total phenolic compounds (TPC) and antioxidant action, characteristics of great interest to the food industry, which seeks to meet the growing demand for balanced foods aimed at promoting health. The extraction of bioactive compounds requires efficient and economically viable processes. Therefore, the objective of this study was to optimize the extraction of bioactive compounds from *E. grandiflorus* leaves and evaluate their bioactive activities, their potential for application in yogurt, and characterize the centesimal composition of their leaves. The dehydrated leaves had the following composition (g/100 g): 29.81 g dietary fiber, 26 g total carbohydrates, 20.63 g protein, 11.60 g ash, 4.59 g lipids, 7.36 g moisture, vitamin C content of 4.47 ± 0.58 mg Aa/100 mL, caffeine content of 1.44 ± 0.09 mg/g, and pH of 5.99 ± 0.08 . The best conditions for extraction were finer particle size (80 Mesh) together with 60% ethanol and a temperature of 80°C. The optimized conditions yielded an extract with a phenolic compound content of TPC 26.17 mg GAE/g, total flavonoids (TF) 25.86 mg CTE/g, DPPH 67.73 μ mol TE/g, FRAP 125.32 μ mol TE/g, and ABTS 119.74 μ mol TE/g. Based on these parameters, the influence of leaf maturation stages in the young, mature, and old phases was evaluated. TPC ranged from 26.17 to 31.6 mg GAE/g, TF from 25.30 to 25.86 mg CTE/g. For carotenoids, values between 0.46 and 0.64 mg/g were found, and the total chlorophyll content varied between 2154.70 and 2732.28 mg/g. The TPC concentration is related to antioxidant activity DPPH 35.22–67.73 μ mol TE/g, FRAP 125.32 μ mol TE/g, ABTS 119.74 μ mol TE/g. For antifungal activity, the extract from mature leaves obtained the best results, with inhibition between 24.12 and 48.74%. The flavonoid isoorientin presented the highest concentration in mature leaves, 5.605 ± 0.01 mg/g. Therefore, it was found that the efficiency of isoorientin extraction was higher than that observed in previous studies, evidencing the positive action of the method employed. The results suggest that the intensifying effect of ultrasound, combined with the experimental conditions adopted, played a decisive role in increasing the extraction yield. The extract from mature leaves also demonstrated antiglycemic activity and pancreatic lipase inhibition capacity. Using the extract from mature leaves at concentrations of 0.5%, 1%, and 2%, a positive effect of the extract on mold inhibition was observed compared to the control. The extract from *E. grandiflorus* demonstrated interesting biological activities that are partly related to the flavonoid isoorientin. The yogurt developed showed resistance to fungal growth during 28 days of storage, which is relevant for the preservation of dairy products. This highlights its potential for the development of functional foods with interesting characteristics in inhibiting mold that deteriorates dairy products, reinforcing its value as a natural source of bioactive compounds.

Keywords: Phenolic compounds; antioxidants; leather hat; functional foods; ultrasound.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplar da planta <i>Echinodorus grandiflorus</i>	17
Figura 2 - Estrutura química básica de um composto fenólico.....	25
Figura 3 - Principais componentes dos compostos fenólicos de vegetais e suas estruturas.....	26
Figura 4 - Estrutura básica e classe dos flavonoides.....	27
Figura 5 - Etapas das reações de oxidação e ação antioxidante.....	32
Figura 6 - Área de coletas das folhas de <i>E. grandiflorus</i>	49
Figura 7 - Localização das folhas de <i>E. grandiflorus</i> nos diferentes estádios de desenvolvimento.....	50
Figura 9 - Fluxograma geral das análises do <i>Echinodorus grandiflorus</i>	53
Figura 10 - Esquema da análise microbiológica bolores e leveduras.....	64
Figura 11- Esquema da análise microbiológica Bactérias lácticas.....	65
Figura 12 - Extratos de <i>E. grandiflorus</i> , conforme planejamento experimental.....	69
Figura 13 - Superfície de resposta mostrando os efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes.....	73
Figura 14 - Extratos de <i>E. grandiflorus</i> , folhas novas, maduras e velhas.....	79
Figura 15 - Crescimento micelar de <i>C. abscissum</i> durante 10 dias.....	82
Figura 16 - logurtes formulados com adição do extrato de <i>E. grandiflorus</i>	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Pesquisas científicas realizadas com <i>E. grandiflorus</i> .	18
Tabela 2 - Avaliação das patentes relacionadas ao <i>E. grandiflorus</i> e suas aplicações.	22
Tabela 8 - Características das folhas de <i>E. grandiflorus</i> no estágio de desenvolvimento nova, madura e velha.	50
Tabela 3 - Planejamento Box-Behnken para extração de compostos bioativos de <i>Echinodorus grandiflorus</i> .	52
Tabela 4 - Composição centesimal e teores de ácido ascórbico e cafeína das folhas maduras desidratadas de <i>E. grandiflorus</i> em base seca (g/100g).	67
Tabela 5 - Composição mineral das folhas desidratadas de <i>E. grandiflorus</i> .	69
Tabela 6 - Resultados da extração de compostos bioativos das folhas maduras de <i>E. grandiflorus</i> a partir do planejamento Box Behnken.	
Tabela 7 - Valores preditos e experimentais das variáveis obtidas no ponto ótimo...	74
Tabela 9 - Avaliação da cor dos extratos obtidos a partir das folhas novas, maduras e velhas de <i>E. grandiflorus</i> .	78
Tabela 10 - Efeito dos extratos de <i>E. grandiflorus</i> no crescimento micelial <i>C. abscissum</i> .	81
Tabela 11 - Efeito do armazenamento nos parâmetros de acidez e pH.	85
Tabela 12 - Composição centesimal dos iogurtes: controle, 0,5% extrato, 1% extrato e 2% extrato (g/100g), realizada no 7º dia.	86
Tabela 13 - Contagem de bactérias lácteas e bolores e leveduras no decorrer dos 28 dias de armazenamento.	88
Tabela 14 - Avaliação dos compostos bioativos dos iogurtes controle e com adição de extrato durante 28 dias de armazenamento.	90

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
OBJETIVOS.....	15
CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA.....	16
1.1 <i>Echinodorus grandiflorus</i>	16
1.2 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	25
1.2.1 Compostos Fenólicos.....	25
1.2.2 Ácido Ascórbico e Cafeína.....	28
1.2.3 Pigmentos Foliaves Clorofila e Carotenoides.....	29
1.2.4 Relação entre Idades de Desenvolvimento das Folhas e o Conteúdo de Compostos Secundários.....	30
1.3 ANTIOXIDANTES.....	31
1.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	34
1.5 ATIVIDADES BIOATIVAS.....	36
1.5.1 Atividade Antimicrobiana e seu Mecanismo de Ação.....	36
1.5.2 Atividade Antifúngica.....	37
1.5.3 Atividade Antiglicêmica.....	38
1.5.4 Atividade Antiobesidade.....	40
1.5.5 Atividade de Inibição da Lipase Pancreática.....	41
1.6 COMPOSTOS BIOATIVOS E SUAS PERSPECTIVAS PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL.....	42
1.6.1 Desenvolvimento de logurte com Extratos de Plantas.....	43
1.7 Considerações finais.....	44

CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS FOLHAS DE <i>Echinodorus grandiflorus</i> COM APLICAÇÃO E IOGURTE.....	46
2.1 INTRODUÇÃO.....	47
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
2.2.1 Materiais.....	48
2.2.2 Métodos.....	49
2.2.2.1 Coleta das amostras.....	49
2.2.2.2 Obtenção dos extratos do planejamento experimental.....	51
2.2.3 Análises.....	54
2.2.3.1 Composição centesimal.....	54
2.2.3.2 Elementos minerais.....	54
2.2.3.3 Compostos fenólicos totais (TPC).....	54
2.2.3.4 Flavonoides totais (FT).....	55
2.2.3.5 Pigmentos fotossintéticos, clorofilas e carotenoides.....	55
2.2.3.6 Taninos condensados (TAN).....	56
2.2.3.7 Atividade antioxidante pela inibição do radical livre DPPH.....	56
2.2.3.8 Atividade antioxidante através do método de redução do ferro (FRAP).....	57
2.2.3.9 Atividade antioxidante pela inibição do radical livre ABTS.....	57
2.2.3.10 Compostos fenólicos individuais.....	58
2.2.3.11 Atividade antimicrobiana.....	58
2.2.3.12 Atividade antifúngica.....	60
2.2.3.13 Atividade antiglicêmica in vitro pela de inibição da atividade de α -glicosidase.....	61
2.2.3.14 Determinação da inibição da atividade da lipase pancreática.....	61
2.2.3.15 Cor do extrato.....	62
2.2.3.16 Desenvolvimento de iogurte.....	62
2.2.3.17 Preparo da amostra de iogurte para análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante.....	63
2.2.3.18 Análise microbiológica do iogurte.....	63

2.2.3.19 Análise estatística.....	66
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
2.3.1 Composição Química das Folhas de <i>E. grandiflorus</i>	67
2.3.2 Otimização da Extração de Compostos Fenólicos.....	69
2.3.3 Composição Bioativa de Folhas de <i>Echinodorus grandiflorus</i> em Diferentes Estádios de Maturação.....	74
2.3.4 Cor do Extrato.....	77
2.3.5 Compostos Fenólicos Individuais.....	79
2.3.6 Atividade Antimicrobiana.....	79
2.3.7 Atividade Antiglicêmica e Inibição da Lipase Pancreática.....	83
2.3.8 Desenvolvimento do logurte.....	84
2.3.9 Monitorização da Fermentação (pH).....	84
2.3.10 Composição Centesimal das Formulações de logurte.....	86
2.3.11 Avaliação das Bactérias Lácticas e Bolores e Leveduras nos logurtes.....	87
2.3.12 Avaliação dos Compostos Bioativos nos logurtes.....	89
CONCLUSÃO.....	92
REFERÊNCIAS.....	93

INTRODUÇÃO

As plantas têm capacidade de produzir uma diversidade de compostos químicos, entre eles os metabólitos secundários, que são altamente especializados, atuando na proteção das plantas contra infecções microbianas, virais, radiação UV e atraindo polinizadores. Esses compostos demonstram atividades bioativas, ação antioxidante e antimicrobiana, com potencial de promover a saúde através da indústria alimentícia e farmacêutica (Samtiya *et al.*, 2021). Diante disso, a pesquisa por aditivos de fontes naturais vem se destacando, apoiada em seus benefícios e nas tendências dos consumidores que buscam um estilo de vida saudável com uma alimentação nutritiva e funcional.

O *Echinodorus grandiflorus*, popularmente conhecido como chapéu-de-couro, chá do brejo, é considerado uma planta daninha. Trata-se de uma planta aquática que se desenvolve em áreas alagadas e mananciais aquáticos, sendo comum na região Sul do Brasil. Na medicina popular, sua infusão ou cocção é utilizada para o tratamento de infecções, doenças respiratórias, problemas renais e reumáticos. Além disso, a indústria de bebidas tem utilizado seu extrato para produção de refrigerantes. Seu uso empírico despertou interesse em pesquisas sobre suas propriedades químicas e bioativas. O *E. grandiflorus* demonstra potencial terapêutico com respostas positivas no tratamento de doenças renais e reumáticas, efeito anti-inflamatório e benefícios cardiovasculares (Tibiriçá *et al.*, 2007; Silva *et al.*, 2021; Pinto *et al.*, 2006; Silva, 2016). Essas propriedades estão relacionadas à sua composição fenólica, se destacando o grupo dos flavonoides, dentre eles a isoorientina.

O processo de extração de compostos bioativos pode ser classificado em técnicas convencionais e não convencionais. Esse processo pode ser influenciado por diversos fatores, como solvente, temperatura, tempo, pH e preparação da amostra. A extração convencional como a hidrodestilação, maceração ou infusão tem sido utilizada há décadas, porém apresenta limitações em termos de maior tempo de extração e maior consumo de solvente, além da degradação dos compostos bioativos. Por outro lado, a extração assistida por ultrassom, uma técnica não convencional, tem demonstrado resultados promissores para a extração de compostos, além de ser considerada uma técnica verde por apresentar alto rendimento com menor uso de solvente e preservar os compostos termo sensíveis.

Portanto, um estudo para avaliar as condições ótimas de extração é essencial para possibilitar o máximo rendimento do processo. Portanto, o presente trabalho pretende otimizar o processo de extração dos compostos bioativos, avaliar seu potencial antimicrobiano, antioxidante, compostos fenólicos, atividade antiobesidade, além de realizar a composição centesimal das folhas da planta *E. grandiflorus*. A partir dessas informações foi desenvolvido um iogurte natural com o extrato das folhas maduras de *E. grandiflorus*, com objetivo de avaliar seu efeito na qualidade da bebida.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Otimizar a extração dos compostos bioativos das folhas do *Echinodorus grandiflorus* e avaliar suas atividades bioativas e o potencial de aplicação em iogurte.

OBJETIVO ESPECÍFICO

- Determinar a composição centesimal e mineral das folhas do *E. grandiflorus*;
- Otimizar as condições de extração dos compostos bioativos das folhas maduras do *E. grandiflorus*, com base na melhor combinação das variáveis independentes granulometria, temperatura e concentração de solvente utilizando planejamento fatorial;
- Avaliar o efeito do estágio de maturação das folhas nos compostos bioativos da planta.
- Avaliar a ação antimicrobiana dos extratos obtidos nas condições otimizadas frente as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, levedura *Candida albicans* e o fungo filamentoso *Colletotrichum abscissum*;
- Identificar e quantificar os compostos fenólicos individuais dos extratos;
- Avaliar a atividade antiglicêmica e a atividade antiobesidade através da inibição da atividade da lipase pancreática dos extratos obtidos com melhores rendimentos;
- Desenvolver iogurte com extrato das folhas de *E. grandiflorus* e investigar os efeitos da sua adição na qualidade da bebida.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DE LITERATURA

Este capítulo explora o estado da arte relacionado à *Echinodorus grandiflorus*. Em seguida, são destacadas as principais classes de compostos fenólicos e suas propriedades bioativas.

1.1 *Echinodorus grandiflorus*

O gênero *Echinodorus* é composto por 27 espécies pertencentes à Família Alismataceae, algumas são utilizadas na medicina popular como *E. paniculatus* Mich, *E. macrophyllus* e *E. grandiflorus* sendo este o mais conhecido e utilizado. No Sul e Sudeste do Brasil a espécie *Echinodorus grandiflorus*, tem como característica ser uma planta herbácea aquática, perene de 40 a 60 cm de altura, folhas ovaladas, grandes e eretas e delicadas flores brancas (Figura 1) (Kinupp; Lorenzi, 2014; Marques *et al.*, 2017).

Conhecido popularmente como chapéu de couro, chá do brejo, *E. grandiflorus* é amplamente utilizado na medicina popular na forma de infusão para o tratamento de reumatismo, artrite, infecções e diurético. Sendo conhecida, mais como uma planta medicinal que alimentícia, de forma discreta vem-se utilizando suas folhas maduras na água para tomar chimarrão, seu pecíolo (talo) no preparo de omeletes e caldo de legumes e seus rizomas na elaboração de doces semelhantes à cocada de coco. Além disso, suas folhas são utilizadas na preparação de frisanter e os extratos, vêm sendo empregados na fabricação de refrigerantes no Brasil, sendo o refrigerante “Mate Couro[®]” fabricado desde 1947, e o “Mineirinho[®]” desde 1974 (Kinupp; Lorenzi, 2014; Marques *et al.*, 2017).

Figura 1 - Exemplar da planta *Echinodorus grandiflorus*.



Fonte: O autor, 2024.

Seu uso e conhecimento popular impulsionaram pesquisas para elucidar sua composição química e ação biológica. O *E. grandiflorus* demonstrou a ação antinociceptiva, ação anti-inflamatória, efeito cardioprotetor, ação anti-hipertensiva, diurética (Garcia *et al.*, 2010; Gasparotto *et al.*, 2018; Marques *et al.*, 2017) e antidematogênica (Garcia *et al.*, 2010). Investigações anteriores apontam que *E. grandiflorus* não apresenta atividade citotóxica e genotóxica (Silva; Kenupp; Takahashi, 2010, Strada *et al.*, 2017).

O potencial tecnológico de *E. grandiflorus* na indústria alimentar ainda é pouco explorado, tendo sido descrita sua aplicação de forma industrial apenas em refrigerantes, embora apresente características de interesse citadas em estudos anteriores como sua ação bioativa e antioxidante (Rocha *et al.*, 2023, Prando *et al.*, 2016). Favorecendo sua possível aplicação industrial, como matéria-prima, agregando valor nutricional e podendo atuar na redução e controle de doenças.

A Tabela 1 apresenta informações de artigos científicos sobre a composição química e atividade biológica do *E. grandiflorus*. Os dados foram obtidos através das bases bibliográficas como Web of Science, Google Scholar, Scopus e PubMed, utilizando como critérios palavras-chave e fator de impacto da revista a partir de 2010.

Tabela 1 - Pesquisas científicas realizadas com *E. grandiflorus*.

(continua)

Extração	Design experimento	Dados	Efeitos	Referências
Percolação utilizando soluções de diclorometano ou hidroetanólicas 30%, 50%, 70% e 96%.	Investigar a associação entre a composição dos extratos e a sua atividade antitumoral. Por cromatografia gasosa e imuno ensaio in vitro.	Detectou-se, ácido aconítico, ácido cis-aconítico,2 ácido trans-aconítico, isoorientina, swertiajaponina, isovitexina, swertisina, ácido chicórico.	Significativo efeito antitumoral in vitro contra o fator de necrose tumoral- α , ação anti-inflamatória.	Garcia <i>et al.</i> , 2015
Processo de sonicação em 3 ciclos de 10 min. Solvente etanol 96 °GL e soluções hidroetanólicas de 90%, 70% e 50%(v / v)	Atividade anti-inflamatória in vitro, antioxidantes, avaliação dos marcadores químicos por cromatografia de ultra eficiência.	Detectou-se isoorientina, Swertisina, ácido chicórico, Ácido cafeoil-feruloil-tartárico, ácido di-feruloil-tartárico	Os extratos de etanol 50% e 70% também exibiram maior atividade biológica	Rocha <i>et al.</i> , 2023
Extrato aquoso por infusão	Avaliar os compostos bioativos e sua atividade diurética prolongada, atividade anti-hipertensiva.	Detectou-se isoorientina, swertiajaponina, isovitexina, swertisina e isoorientina-7,3'-dimetiléter, isoorientina-O-ramnosídeo, swertiajaponina-O-ramnosídeo, isovitexina-O-ramnosídeo. E monossacarídeos: ramnose, ribose, arabinose, xilose, galactose, glicose, mioinositol.	O extrato pode apresentar atividade diurética prolongada, efeitos hipotensores e anti-hipertensivos.	Prando <i>et al.</i> , 2016
Percolação em, diclorometano, hidroetanólica (30%, 50%, 70% e 96%) e extrato aquoso.	Avaliar os compostos bioativos e a atividade antiedematogênica in vivo.	Detectou-se: Isoorientina, isovitexina, trans -aconítico e chicórico	Apresentou atividade antiedematogênica significante os extratos hidroetanoicos (50% e 70%) E que flavonoides, diterpenoides e ácido trans -aconítico estão relacionados na atividade antiedematogênica.	Garcia <i>et al.</i> , 2010

Tabela 1 - Pesquisas científicas realizadas com *E. grandiflorus*.

(continuação)

Maceração à temperatura ambiente utilizando etanol-água (7:3).	Avaliar <i>in vivo</i> : efeitos citotóxicos e genotóxicos e sua ação antiobesidade.	–	Não possuem efeitos clastogênicos ou citotóxicos e não causam genotoxicidade. Não apresentou ação antiobesidade.	Silva <i>et al.</i> , 2010
Infusão água fervente.	Avaliar <i>in vivo</i> : propriedades diuréticas e hemodinâmicas. Avaliar compostos bioativos, eliminação de radicais DPPH, ensaio de radical de óxido nítrico.	Compostos bioativos: Flavonoides: isoorientina, swertiajaponina, isovitexina, swertisina. Flavonóides di- C -glicosídeos: isoorientina-dimetiléter, isoorientina-ramonosídeo, isoorientina-ramnosídeo-dim etílico éter, isovitexina-pentosídeo, swertiajaponina-ramonosídeo, isovitexina-ramonosídeo, swertisina-ramnosídeo. Ácido feruloil-tartárico e ácido diferuloil-tartárico.	Apresentou efeito diurético, com possíveis efeitos na vasculatura sistêmica e renal (aumentando a taxa de filtração glomerular). Efeito hipotensor significativo. Propriedades antioxidantes significativas protegendo as células da lise celular.	Prando <i>et al.</i> , 2016
Maceração estática durante sete dias com etanol 98% ou hexano (1:5 m/v).	Avaliar a capacidade antiglicação, inibição da α -amilase, da α -glicosidase e da lipase. Ensaio antioxidantes: DPPH, ORAC, FRAP.	–	O extrato etanoico inibiu a atividade da lipase, α -glicosidase apresentou altas capacidades antioxidantes e antiglicação	Franco <i>et al.</i> , 2018
Maceração à temperatura ambiente utilizando etanol-água (7:3)	Avaliar efeitos citotóxicos, genotóxicos e ação anti obesidade <i>in vivo</i> .	–	Não apresenta atividades citotóxicas, genotóxicas e ação anti obesidade.	Silva, Bastos, Takahashi, 2010.
Maceração em temperatura ambiente com agitação em solvente hidroetanoico (7:3 v/v).	Avaliar o efeito anti nociceptivo e a atividade anti nociceptiva <i>in vivo</i> . Avaliar os compostos bioativos.	Isoorientina, isovitexina.	Observou-se atividade antinociceptiva. Ação atribuída a isovitexina.	Strada <i>et al.</i> , 2017

Tabela 1 - Pesquisas científicas realizadas com *E. grandiflorus*.

(conclusão)

Turbólise, maceração, decocção, infusão e Soxhlet. Utilizando Etanol 90 e 70%.	Avaliar os compostos bioativos (de forma qualitativa) e sua atividade antimicrobiana (bactéria e levedura).	Detectou-se a presença de taninos, alcaloides, flavonoides e saponinas.	As cepas microbianas avaliadas foram <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Candida albicans</i> . Para a atividade antimicrobiana do extrato bruto não se observou ação.	Bonetti, <i>et al.</i> , 2020
Extrato aquoso a 5%.	Avaliar o efeito dos extratos de <i>Echinodorus grandiflorus</i> entre outras plantas, sobre <i>Apis mellifera</i> e análise cromatográfica de seus compostos.	Componente majoritário de ácido ferúlico e ácido cítrico	Observou-se uma redução nas taxas de sobrevivência da <i>A. mellifera</i> , contudo, o efeito é leve em comparação ao efeito de inseticidas químicos sintéticos sobre esses mesmos insetos.	Potrich, <i>et al.</i> , 2020

Fonte: Autora 2024.

Foi realizada uma análise de 8 patentes contidas nas bases de dados de patentes: GOOGLE PATENTS, WIPO e ESPACENET, utilizando os termos: *Echinodorus grandiflorus* e chapéu-de-couro. A busca foi realizada em 09 de janeiro de 2025. A Tabela 2, apresenta as patentes encontradas para *E. grandiflorus* que estão vinculadas principalmente à área farmacêutica (tratamento de artrite, capilar e inibição de enzimas), seguindo área alimentícia (produção de cerveja) e controle de pragas (utilização do ácido trans-aconítico presente no *E. grandiflorus*) e clonagem vegetal para padronização dos compostos bioativos.

Tabela 2 - Avaliação das patentes relacionadas ao *E. grandiflorus* e suas aplicações.

(continua)

Título da Patente	Aplicação	Patente	País	Referências
Preparação para uso externo na pele.	A presente invenção refere-se à preparação para uso externo na pele. Eficaz na prevenção e redução da caspa, e na queda de cabelo. Promovendo a produção de cabelo e tendo excelentes ações inibidoras sobre as atividades da tirosinase.	JPH10251134A	Japão	Masahiro <i>et al.</i> , 1998.
Composição farmacêutica contém uma fração rica em flavonoides de folhas de <i>Echinodorus grandiflorus</i> para uso no tratamento de artrite.	A presente invenção refere-se à composição farmacêutica que contém uma fração rica em flavonoides de folhas de <i>Echinodorus grandiflorus</i> e seu uso no tratamento de artrite.	BR102012027556	Brasil	Souza <i>et al.</i> , 2018.
Produção de bebida fermentada tipo cerveja a base de malte e extrato solúvel de chapéu-de-couro (<i>Echinodorus macrophyllum</i> e <i>Echinodorus grandiflorus</i>)	A presente invenção relata a preparação de uma cerveja elaborada com extrato solúvel (chá) de chapéu de couro (<i>Echinodorus macrophyllum</i> ; <i>Echinodorus grandiflorus</i>). Aspectos como a cor e sabores ervais provenientes das folhas do chapéu-de-couro produzem com sucesso uma bebida bem equilibrada que combina o sabor do chapéu de couro com a cerveja.	BR 102015031078	Brasil	Monteiro; Soccol; Carvalho, 2017.

Tabela 2 - Avaliação das patentes relacionadas ao *E. grandiflorus* e suas aplicações.

(continuação)

Composição farmacêutica contém ácidos aconíticos de folhas de <i>Echinodorus grandiflorus</i> e uso no tratamento de artrite.	A presente invenção refere-se à composição farmacêutica que contém ácidos aconíticos de folhas de <i>Echinodorus grandiflorus</i> e ao uso no tratamento de artrite reumatoide e osteoartrite.	BR102012027551	Brasil	Souza <i>et al.</i> , 2014.
Formulação farmacêutica oral obtida através da técnica de infusão do extrato de <i>Echinodorus grandiflorus</i> .	A presente invenção refere-se a composição farmacêutica oral compreendendo extrato de <i>Echinodorus grandiflorus</i> (chapéu de couro), em um veículo líquido, bem como a um processo para seu preparo.	BR102018006169	Brasil	Gasparotto <i>et al.</i> , 2018.
Medicamento fitoterápico encapsulado do café do açaí, processo de obtenção e seu uso.	A presente invenção refere-se a medicamento fitoterápico encapsulado é formado por 1% a 30%, mas preferencialmente 10% de hibisco, 1% a 25%, mas preferencialmente 5% de canela, 1% a 26%, mas preferencialmente 6% de Ora-pro-nobis, 1% a 25%, mas preferencialmente 5% de <i>Echinodorus macrophyllum</i> ou <i>Echinodorus grandiflorus</i> .	BR102022008681	Brasil	Peixe, 2022.

Tabela 2 - Avaliação das patentes relacionadas ao *E. grandiflorus* e suas aplicações.

(conclusão)

Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática.	O presente invento consiste na inibição enzimática da lipase pancreática por extratos metanólicos de quatro plantas naturais do Brasil, entre elas o chapéu de couro (<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. & Schltl.) Micheli).	BRPI0914283	Brasil	Santos, 2012.
Utilização da clonagem vegetal para padronização de fitoterápicos.	A presente invenção refere-se a utilização da clonagem vegetal para padronização de fitoterápicos. O processo utiliza a produção de mudas de plantas medicinais monoclonais, entre elas <i>Echinodorus grandiflorus</i> , para a produção de fitoterápicos com alta reprodutividade.	BRPI0205634	Brasil	Silva, 2017.

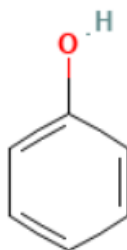
Fonte: Autora, 2025.

1.2 COMPOSTOS BIOATIVOS

1.2.1 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos formam um grupo heterogêneo de substâncias, com mais de 8000 compostos já identificados (Eseberri *et al.*, 2022). São metabólitos secundários das plantas que atuam na pigmentação, proteção contra raios UV, agentes patogênicos e parasitas, com uma estrutura básica de pelo menos um anel aromático, ligado por um ou mais grupos de hidroxila (Lama-Muñoz; Contreras, 2022) (Figura 2). Sua concentração está relacionada a fatores como tipo da planta, porção (caule, folhas, frutos) e sua genética (Dorosh *et al.*, 2022).

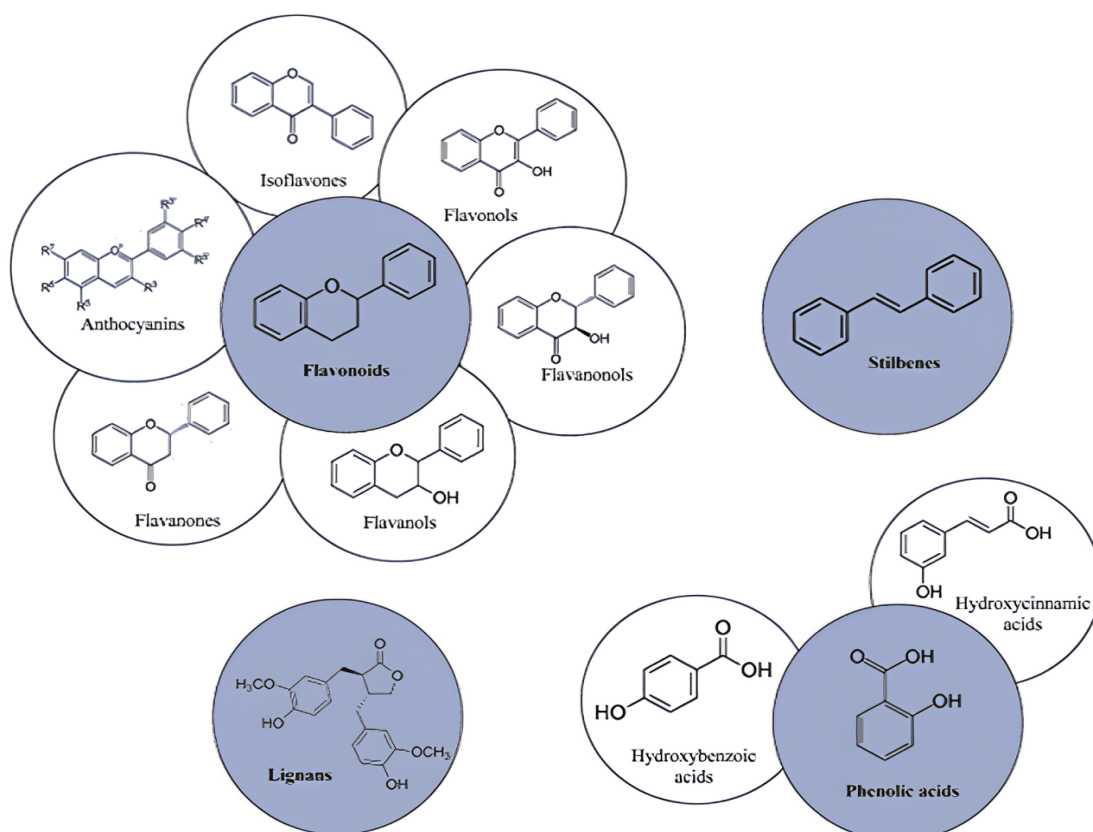
Figura 2 - Estrutura química básica de um composto fenólico.



Fonte: National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/996#section=2D-Structure>. Acesso em: 02 jan.2024.

A diversidade de compostos fenólicos os divide em subclasses considerando o número de anéis de fenol, número e posição dos grupos hidroxilas, sendo as principais: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos e lignanas (Figura 3) (Dorosh *et al.*, 2022). Estes podem ser divididos em insolúveis e solúveis, além de poderem apresentar-se na forma livre ou conjugada, devido ao seu potencial de interação com outros grupos como ácidos, açúcares e álcoois (Tresserra-Rimbau *et al.*, 2018).

Figura 3 - Principais componentes dos compostos fenólicos de vegetais e suas estruturas.

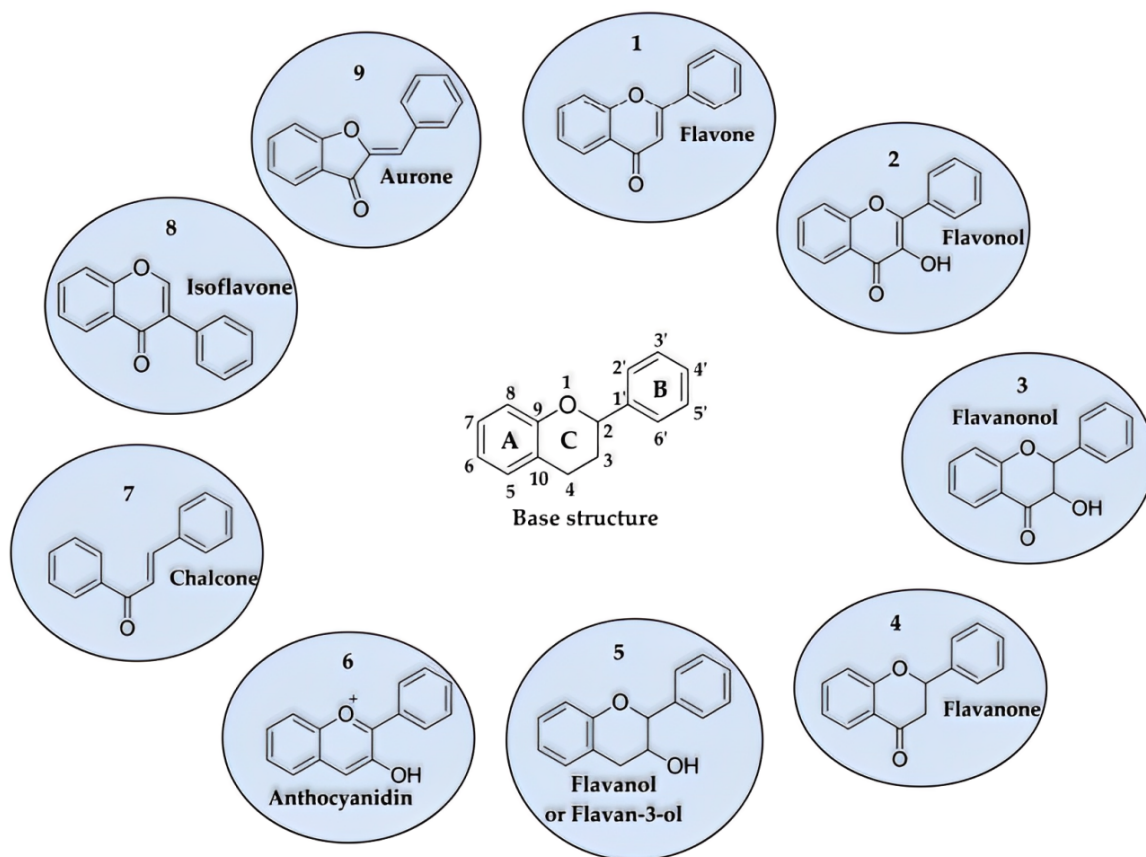


Fonte: HE, X., *et al.* Fruit and vegetable polyphenols as natural bioactive inhibitors of pancreatic lipase and cholesterol esterase: Inhibition mechanisms, polyphenol influences, application challenges. **Food Bioscience**. v. 55, p. 103054, 2023. DOI: <https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.fbio.2023.103054>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2212429223007058?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jan. 2024.

Os ácidos fenólicos são encontrados amplamente no reino vegetal, em alimentos como as frutas, verduras e chás. Suas propriedades antioxidantes estão associadas à presença e à posição dos grupos hidroxila ($-OH$) ligados ao anel fenólico, por atuarem como doadores de elétrons ou átomos de hidrogênio, neutralizando radicais livres e estabilizando espécies reativas de oxigênio. Assim, a quantidade e a posição das hidroxilas influenciam a capacidade e o potencial antioxidante. Fazem parte desse grupo o ácido gálico, ácido salicílico, ácido caféico e ácido ferúlico (Goufo; Trindade, 2014). Os flavonoides são o maior grupo de fenólicos com aproximadamente 5000 compostos identificados até o momento. Sua estrutura básica consiste em dois anéis aromáticos (anéis A e B) ligados por uma cadeia de três carbonos (anel C) (Figura 4). São divididos em nove grupos, sendo: flavonas, flavononas, flavonoides, flavonóis, antocianinas, aurona, isoflavona,

chalcona e isoflavonas (Figura 4). São encontrados em diversos alimentos como chocolate, vinho, chá e frutas, os quais podem possuir capacidade antioxidante (Goufo; Trindade, 2014; Yusoff *et al.*, 2022).

Figura 4 - Estrutura básica e classe dos flavonoides.



Fonte: KAUFFMANN, A. C., CASTRO, V. S. Phenolic Compounds in Bacterial Inactivation: A Perspective from Brazil. **Antibiotics**. v. 12, p. 645, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040645>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/4/645>. Acessado em 31 jan. 2024.

Os compostos fenólicos presentes nos alimentos não são considerados fontes de nutrientes, mas desempenham importantes funções biológicas na manutenção da saúde. A ação biológica dos ácidos fenólicos e flavonoides como eficientes antioxidantes, e sua atuação sobre doenças crônicas é evidenciado em estudos *in vitro*. Estudos com *E. grandiflorus*, demonstram que os compostos fenólicos presentes, como os flavonoides, têm relação com sua atividade anti-inflamatória, antinociceptiva (Strada *et al.*, 2017, Garcia *et al.*, 2015) e efeitos cardioprotetores (Gasparotto *et al.*, 2018).

Conforme os dados relatados na literatura, os principais compostos químicos encontrados no *E. grandiflorus* são: isoorientina, swertiajaponina, isovitexina, swertisina, isoorientina 7,3'-dimetiléter, presença de alcaloides, ácidos cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido chicórico, ácido trans–aconítico, cafeoil-feruloil-tartárico, ácido di-feruloil-tartárico, luteolina e diterpenoides (Carvalho *et al.*, 2019; Marques *et al.*, 2017; Garcia *et al.*, 2010; Campana *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2023; Prando *et al.*, 2016; Gasparotto, *et al.*, 2018).

A Isoorientina é uma flavona C-glicosídeo com a fórmula molecular $C_{21}H_{20}O_{11}$ encontrada no *E. grandiflorus* e em várias ervas e frutas. Tem ação antioxidante, anti-inflamatória, atua na prevenção e inibe a progressão do câncer (Huang *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2024). Estudos demonstram sua ação no intestino inibindo o crescimento de bactérias patogênicas e contribuindo para o controle da diabetes tipo 2 melhorando sensibilidade à insulina e controlando o nível de glicose (Muller *et al.*, 2022). Laurindo *et al.* (2025), utilizando software Molinspiration coletaram importantes informações sobre suas propriedades moleculares. Algumas características identificadas foram, tendência hidrofílica tendo boa solubilidade. Possui característica de ligação de hidrogênio com 8 doadores e 11 aceptadores de hidrogênio, possibilitando formar ligações com outras moléculas. Sua configuração estereoquímica contribui para sua atividade biológica específica. A posição da fração de açúcar afeta a biodisponibilidade da molécula. É um composto que desempenha importante tarefa nas características bioativas do *E. grandiflorus*.

Estudo com *E. grandiflorus* como o de Garcia *et al.* (2015) relata que a isoorientina possivelmente tem ação antiedematogênica. Prando *et al.* (2016) avalia os efeitos diuréticos propondo a isoorientina como agente responsável pela ação. Em estudo, Ziqubu *et al.* (2020) observou o efeito antiobesidade da isoorientina ao bloquear o armazenamento de lipídios e aumentar a liberação de glicerol.

1.2.2 Ácido Ascórbico e Cafeína

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é um micronutriente essencial na dieta humana, uma vez que o organismo não é capaz de sintetizá-lo. Portanto, sua obtenção depende de uma alimentação rica em frutas e vegetais (Chaturvedi *et al.*, 2022). A vitamina C desempenha um papel significativo na manutenção da saúde humana, com destaque para sua atuação na absorção de

ferro, formação óssea e preservação dos tecidos, além de contribuir para a prevenção de danos oxidativos (Chaturvedi *et al.*, 2022; Komal; Kumar; Sen, 2022). Ademais, apresenta propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, auxiliando na prevenção e/ou atenuação de doenças como escorbuto, enfermidades neurodegenerativas, anemia e diabetes (Komal; Kumar; Sen, 2022).

Quimicamente conhecida como 1,3,7-trimetilxantina, a cafeína é um alcaloide bioativo presente em diversas espécies vegetais, como chá, café, cacau, cola e guaraná (Sereshti; Samadi, 2014). Devido a sua ação bioativa é amplamente empregada em formulações farmacêuticas, incluindo analgésicos, produtos para controle de peso e medicamentos para resfriados e gripes (Sereshti; Samadi, 2014), atuando na redução da fadiga e aumentando o estado de atenção. A cafeína é incorporada a diversos produtos industrializados, como bebidas energéticas, refrigerantes e suplementos contra fadiga (Dam; Hu; Willett, 2020).

1.2.3 Pigmentos Foliares Clorofila e Carotenoides

As clorofilas e os carotenoides são pigmentos que desempenham funções importantes na coleta de energia luminosa, estabilização de membranas e transdução de energia (Shah; Houborg; McCabe, 2017). Os carotenoides são grupo de pigmentos de cores brilhantes responsáveis pelas cores amarelas, laranjas e vermelhas em muitas frutas e são sintetizados por plantas, algas, bactérias e fungos (Swapnil *et al.*, 2021). Em plantas ricas de clorofila, como vegetais de folhas verdes, os carotenoides têm sua cor mascarada, apesar de apresentarem um alto teor. A estrutura dos carotenoides é baseada em uma estrutura isoprenóide C40, que pode ser acíclica ou modificada para ter uma ou ambas as extremidades modificadas em anéis com diversas modificações estruturais (Swapnil *et al.*, 2021).

Os carotenoides são importantes na qualidade dos alimentos e na promoção da saúde, pois, são antioxidantes potentes e atuam na produção de nutrientes como vitamina A (Rowles; Erdman, 2020, Meléndez-Martínez *et al.*, 2021). São exemplos de carotenoides o licopeno derivado principalmente do tomate, mas, também encontrado na melancia e goiaba, o β -caroteno presente em frutas amarelas como laranjas e em vegetais de folhas verdes como a couve, o α -caroteno também encontrado em frutas e vegetais amarelos como laranja, cenoura e em vegetais de folhas verdes, a luteína e a zeaxantina encontradas em vegetais como couve,

brócolis e espinafre, e a β -criptoxantina presente em uma variedade de alimentos como gema de ovo e abóbora (Rowles; Erdman, 2020).

A clorofila é um pigmento responsável pela cor verde, encontrada em plantas, algas e certas bactérias. É responsável pela absorção de energia luminosa e sua conversão em energia química no processo de fotossíntese. Sua estrutura complexa é composta por um anel de porfirina, um íon de magnésio e uma calda de hidrocarbonetos e possui várias formas como a clorofila *a* e clorofila *b* (Hayes; Ferruzzi, 2020, Martins *et al.*, 2023). Estudos demonstram as ações benéficas da clorofila para a saúde através de suas propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias, atividade antioxidante, cicatrizantes e antimutagênicas, além do seu potencial como corante alimentar. Apesar de seus benefícios à saúde, sua baixa estabilidade é uma desvantagem a ser superada (Ebrahimi *et al.*, 2023; Cao *et al.*, 2021). A inserção de frutas e vegetais verdes na alimentação auxilia na obtenção de clorofila e assim suas propriedades bioativas, que estão relacionadas à sua estrutura química de seus diferentes derivados formados no processo de digestão (Martins *et al.*, 2023; Viera; Herrera; Roca, 2022). A clorofila, assim como grande parte dos compostos bioativos de plantas, sofre influência do seu conteúdo por fatores como estágio de maturação, condições de cultivo, época de colheita, condições climáticas, além do método de processamento dos alimentos (Martins *et al.* 2023).

1.2.4 Relação entre Idades de Desenvolvimento das Folhas e o Conteúdo de Compostos Secundários

As folhas são os principais órgãos fotossintetizantes das plantas, exercendo papel essencial para sua sobrevivência, crescimento e desenvolvimento. Trabalham como estruturas de síntese e armazenamento de compostos secundários. É conhecido que a idade da folha (folhas jovens, maduras e velhas), a época da colheita e o estágio de crescimento alteram significativamente o teor e as características dos compostos bioativos. A variação desses compostos está frequentemente associada às funções específicas que as folhas desempenham em cada estágio de desenvolvimento. Assim, influencia consequentemente a qualidade e eficácia dos extratos das folhas de plantas medicinais (Lincoln *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2024).

Os níveis de compostos secundários são mais elevados em folhas jovens em desenvolvimento do que em tecidos mais velhos. Esses compostos são importantes para proteger as folhas tenras contra herbívoros e patógenos. Além disso, estudos comprovam que folhas jovens tendem a ter maiores concentrações de compostos fenólicos, alcaloides e compostos orgânicos voláteis (Lincoln *et al.*, 2017; Masa *et al.*, 2016).

Nas folhas maduras ocorre geralmente o acúmulo de metabólitos secundários, como compostos fenólicos. Nessa fase, a planta já completou grande parte de seu desenvolvimento estrutural e pode direcionar energia para a produção de compostos bioativos, muitos dos quais são utilizados para atrair polinizadores ou para defesa química. As folhas maduras também possuem maior capacidade fotossintética, o que pode contribuir para a síntese de compostos bioativos relacionados ao metabolismo energético (Lincoln *et al.*, 2017).

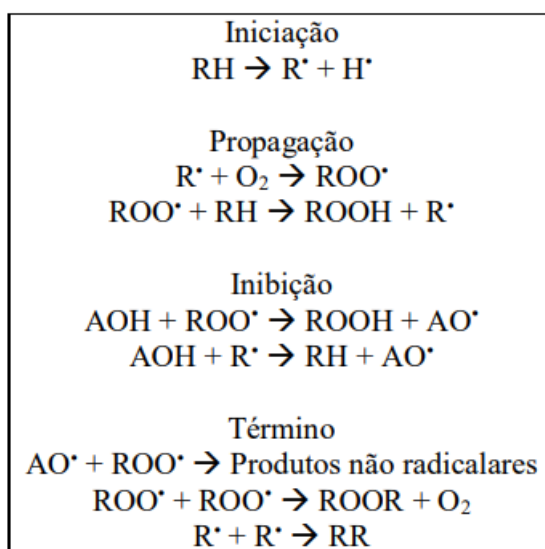
As folhas velhas tendem a apresentar uma redução nos níveis de compostos secundários, pois estão em processo de senescência (morte da folha). Na senescência ocorre a redistribuição dos nutrientes para as partes da planta em crescimento. A concentração de compostos antioxidantes reduz nesta fase enquanto isso, os níveis de EROs (espécies reativas de oxigênio) aumentam (atuam como sinais que ativam eventos de morte celular da folha) (Lincoln *et al.*, 2021; Lincoln; Zeiger, 2009). Portanto, fatores de desenvolvimento da folha vão influenciar a iniciação e a especialização subsequente das células envolvidas na biossíntese e armazenamento de compostos bioativos.

1.3 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são compostos que previnem, inibem e reduzem os processos oxidativos de substâncias, atuando assim como estabilizadores de radicais livres. Seu mecanismo de ação pode ocorrer através da transferência dos átomos de hidrogênio, transferência de único elétron, e quelação de metais. Os antioxidantes são compostos aromáticos que apresentam ao menos uma hidroxila (-OH) ligada ao anel aromático ou cadeias carbônicas com duplas ligações conjugadas, ou alternadas (Kotha *et al.*, 2022).

Os radicais livres são moléculas, átomos ou íons que possuem elétrons livres que são altamente instáveis e reativos em reações químicas, oxidando moléculas para a sua estabilização. As principais moléculas alvo desta reação são os lipídios, proteínas, açúcares, moléculas de DNA (ácido desoxirribonucleico) e RNA (ácido ribonucleico) (Carocho; Ferreira, 2013; Mendonça *et al.*, 2022). As reações de oxidação ocorrem em cadeia, sendo divididas em três estádios: iniciação, propagação e terminação. É um processo espontâneo que tem como iniciadores a presença de oxigênio, luz, calor, enzimas e íons metálicos (Chemat *et al.*, 2023; Boroski *et al.*, 2015). A Figura 5, representa as etapas das reações de oxidação e o efeito da ação antioxidante onde: RH = substrato, R• = radical livre, ROO•= radical peróxido, ROOH= hidroperóxido e AOH= composto antioxidante.

Figura 5 - Etapas das reações de oxidação e ação antioxidante.



Fonte: CASAGRANDE, M. **Otimização de extração de compostos bioativos de *Baccharis dracunculifolia* visando aplicação em processo produtivo industrial.** 2019. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, PR, 2019. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/5243/1/TESE_MAIRA_CASAGRANDE_2019.pdf. Acessado em 30 jan. 2024.

As espécies reativas de oxigênio (ERO's) e os radicais livres podem ser formados por processos naturais no organismo em reações metabólicas do corpo humano como, por exemplo, no processo de respiração das mitocôndrias e por enzimas (Gulçinl 2012; Kotha *et al.*, 2022). São associados ao funcionamento normal das células, atuando como sinalização celular e na homeostase, contudo

quando ocorre sua produção em excesso ou quando as células não são capazes de metabolizá-los, há danos devido ao estresse oxidativo (Juan *et al.*, 2021). Fatores como tabagismo, poluição, alimentação, medicamentos estão relacionados ao estresse oxidativo (Jomova *et al.*, 2023).

A neutralização de radicais livres e a prevenção e extinção de ERO são realizadas por antioxidantes endógenos: enzimáticos (por exemplo, catalase, superóxido-dismutase, heme oxigenase), e não enzimáticos (por exemplo, glutathione, sistema tiorredoxina, melatonina) além de um grande grupo de antioxidantes exógenos obtidos através da alimentação, como os compostos fenólicos, carotenoides e vitaminas (Duda-Chodak; Tarko, 2023).

As ERO's são moléculas reativas e radicais de oxigênio, incluindo radicais (como o ânion superóxido) e não radicais (como peróxido de hidrogênio(H_2O_2)). Entre as ERO's estão incluídas o ânion superóxido (O_2^-), oxigênio singlete (1O_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), radicais hidroxila ($OH^\bullet$), e radicais peroxila ($ROO^\bullet$) (Duda-Chodak; Tarko, 2023). Quando ocorre o acúmulo de ERO ocorre o estresse oxidativo, o qual é responsável por danos celulares e vem sendo associado a diversas doenças como câncer, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas (Alzheimer e Parkinson), doenças psiquiátricas (depressão) e o envelhecimento precoce (Pisoschi; Pop, 2015; Juan *et al.*, 2021; Theodosis-Nobelos; Rekka, 2022; Jomova *et al.*, 2023).

Diante disso, ao que tange à saúde humana, evidencia-se a importância do aumento da ingestão de antioxidantes exógenos, adquiridos através da alimentação, para prevenção do estresse oxidativo (Mendonça *et al.*, 2022; Tresserra-Rimbau *et al.*, 2018; Theodosis-Nobelos; Rekka, 2022).

Os antioxidantes são amplamente utilizados como conservantes na indústria alimentícia e destaca-se a utilização dos antioxidantes sintéticos como BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno), PG (propilgalato), butilhidroquinona terciária (TBHQ). Contudo, há controversas sobre a utilização de antioxidantes sintéticos devido aos seus possíveis efeitos danosos à saúde, bem como, o perfil do consumidor, que busca cada vez mais alimentos naturais, sendo de grande valia a substituição de antioxidantes sintéticos pelos naturais (Duque-Soto *et al.*, 2023; Ham *et al.*, 2020).

Portanto, há uma ampla área de estudos e desenvolvimento de produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos, utilizando aditivos de fontes naturais. A ação bioativa de compostos bioativos de extratos de plantas vem sendo amplamente investigada unido a perspectivas promissoras para indústria alimentícia, pois, estudos demonstram sua eficácia como conservantes de produtos cárneos na redução de processos de rancidez oxidativa (Pateiro *et al.*, 2021), desenvolvimento de bebidas funcionais (Rodriguez *et al.*, 2023), enriquecimento de biscoitos (Topka *et al.*, 2023). Assim, a extração de compostos fenólicos com atividade antioxidante do *E. grandiflorus* pode apresentar características interessantes para sua aplicação no desenvolvimento de produtos e aditivos naturais.

Apesar do interesse pela aplicação dos compostos bioativos de plantas, reforçado pelo seu uso tradicional, e a ideia de segurança por ser natural, é importante avaliar a toxicidade do antioxidante em questão, e determinar a segurança dos compostos bioativos extraídos da planta em estudo (Hasanudin; Hashim; Mustafa, 2022).

1.4 EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

A extração de compostos bioativos naturais de plantas é um processo complexo, pois, envolve um grupo muito heterogêneo de moléculas, que vão desde estruturas simples como monômeros (como ácidos fenólicos), até moléculas altamente polimerizadas (como os taninos). Outras características, como a associação com outras substâncias (exemplo, ácidos carboxílicos) e sua conjugação com outras moléculas (como açúcares) e sua solubilidade, são pontos que influenciam a eficiência da extração e demonstra que não há um protocolo comum para extração de compostos bioativos. Visto que, fatores como matriz vegetal, granulometria da partícula, tempo de extração, tipo de solvente, proporção soluto/solvente, podem gerar respostas variadas quando combinados em diferentes tipos, tamanho, tempo, qualidade, proporção, respectivamente (Lama-Muñoz; Contreras, 2022; Pateiro *et al.*, 2021).

A otimização da extração de compostos bioativos vem sendo auxiliada por ferramentas estatísticas de modelagem experimental que auxiliam na redução das execuções experimentais, verificando a interação entre as variáveis do processo,

identificando assim, a melhor combinação das variáveis na estratégia de extração (Kumar; Srivastav; Sharanagat, 2021). Os métodos utilizados para extração de compostos bioativos de fontes vegetais podem ser divididos em métodos de extração convencional e não convencional (Kumar; Srivastav; Sharanagat, 2021). A extração convencional tem como característica a utilização de maior volume de solvente e utiliza técnicas como maceração, extração a quente e hidrodestilação, e solventes como água, etanol, acetona, entre outros. A eficiência da extração está relacionada com a polaridade do solvente utilizado, e ao tempo de extração e tem como desvantagens tempo de realização, baixa seletividade, e alto volume de solvente utilizado (Lama-Muñoz; Contreras, 2022; Alara; Abdurahman, Ukaegbu, 2021).

Técnicas não convencionais vem sendo uma escolha aos métodos convencionais na extração de compostos bioativos pelo menor consumo de solvente, redução de resíduos tóxicos, melhor reprodutibilidade, maior rendimento, e menor tempo de extração (Alara; Abdurahman; Ukaegbu, 2021). Entre as técnicas não convencionais destaca-se o uso da extração assistida por ultrassom (EAU), por micro-ondas, extração líquida pressurizada e fluido supercrítico (Kumar; Srivastav; Sharanagat, 2021; Raghunath *et al.*, 2023).

A extração assistida por ultrassom (EAU) é uma tecnologia promissora para a extração de compostos bioativos, exige menor volume de solvente, menor tempo e energia, minimiza a perda de composto termo sensíveis, considerada assim, uma tecnologia verde (Yusoff *et al.*, 2022). A EAU vem sendo realizada utilizando equipamentos como banho ultrassônico e sonda ultrassônica, constituídos por um transdutor piezoelétrico como fonte de energia ultrassônica. No primeiro as amostras são imersas no banho ultrassônico (sonificação indireta), e no segundo a sonda ultrassônica é inserida na amostra (sonificação direta) (Cikos *et al.*, 2018). A EAU utiliza ondas de ultrassom com frequência de 20 a 100 kHz, que se propagam criando ciclos de expansão e compressão no meio, formando bolhas. Estes ciclos sucessivos causam crescimento da bolha, que em seu ponto crítico entram em colapso (fenômeno de cavitação) (Kumar; Srivastav; Sharanagat, 2021).

O colapso das bolhas de cavitação e as ondas sonoras contribuem na ruptura das paredes celulares, fragmentação, erosão localizada, formação de poros, aumento de absorção e índice de inchaço na matriz celular da planta, resultando na

maior penetração do solvente, liberação, e solubilidade dos compostos bioativos, melhorando assim, a eficiência da extração (Yusoff *et al.*, 2022; Uzuner 2023; Kumar; Srivastav; Sharanagat, 2021). O tempo, amplitude, potência, sonicação, e temperatura, são os fatores de maior influência na utilização da EAU (Lama-Muñoz; Contreras, 2022).

Diversos estudos vêm utilizando o sistema EAU, devido seu potencial de extração comparado aos métodos convencionais. Resultados promissores são apresentados na extração de compostos bioativos em material vegetal como folhas de plantas. Setyani *et al.* (2023), otimizou as condições EAU para folhas de *Moringa oleífera*. Lopeza, Broussea e Linaresa (2023), compararam extração convencional sólido-líquido e o EAU para extração de compostos fenólicos de *Ilex paraguariensis* St. Hil onde o maior rendimento foi obtido com EAU. Latif *et al.* (2021), utilizaram a EAU e método por Soxhlet para extração de compostos de *Cosmos caudatus* onde o EAU se demonstrou mais eficiente. Como são escassos os estudos que buscam otimizar a extração de compostos bioativos do *E. grandiflorus* o ultrassom pode ser um método eficiente para se aplicar neste estudo.

1.5 ATIVIDADES BIOATIVAS

1.5.1 Atividade Antimicrobiana e seu Mecanismo de Ação

A bioatividade dos compostos fenólicos está relacionada com a configuração das moléculas, posição e número dos grupos hidroxila. A diversidade estrutural dos compostos fenólicos, proporciona a sua ação contra células bacterianas por diversos mecanismos que são dependentes dos seus anéis aromáticos e grupos funcionais (Lobiuc *et al.*, 2023). Os mecanismos de ação bacteriana podem ser classificados em dois grupos: o primeiro envolve a alteração da permeabilidade da membrana celular, incluindo a ruptura da membrana citoplasmática e a formação de divisores citoplasmáticos; o segundo refere-se à interferência nas funções intracelulares, por meio da interação de composições fenólicas com enzimas e da queda do pH celular, decorrente da dissociação de moléculas de ácidos graxos (Zamuz, *et al.*, 2021). E inibir o metabolismo energético e a síntese de RNA pela célula bacteriana (Lobiuc *et al.*, 2023; Beya *et al.*, 2021; Alvarez-Martínez, *et al.*, 2021).

A composição da membrana celular das bactérias está relacionada com a sua suscetibilidade aos compostos fenólicos. As bactérias são divididas em dois grandes grupos, as Gram-positivas e Gram-negativas, diferenciadas pela constituição da parede celular. As Gram-positivas possuem uma camada espessa de peptidoglicano e os Gram-negativos possuem duas camadas primeiramente lipopolissacarídeos seguindo a camada peptidoglicano, assim, a formação da membrana externa das células bacterianas pode limitar a ação dos compostos fenólicos (Suriyaprom *et al.*, 2022).

A ação antimicrobiana dos conservantes vegetais está relacionada principalmente a interação dos compostos com a membrana celular do microrganismo, através das ligações de hidrogênio, resultando no comprometimento da estrutura da membrana e conseqüentemente a perda do conteúdo intracelular. Atua na remoção de elétrons, induzindo a despolarização que impacta a força motriz do próton, o que diminui o gradiente de pH através da membrana, altera o nível de ATP (adenosina trifosfato), ocasionando a morte celular (Beya *et al.*, 2021).

A demanda por conservantes naturais vem impulsionando os estudos dos compostos bioativos, elucidando sua ação antimicrobiana e seu potencial de aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica (Zamuz *et al.*, 2021; Munekata *et al.*, 2023; Nieto, 2020). Perante os poucos estudos desenvolvidos para avaliar a ação antimicrobiana do *E. grandiflorus* torna-se indispensável avaliar sua ação para colaborar no desenvolvimento do conhecimento sobre o chapéu de couro.

1.5.2 Atividade Antifúngica

Uma grande variedade de doenças afeta as plantações ao redor do mundo, sendo a maioria relacionada a fungos patogênicos. Os fungos estão amplamente presentes no ambiente e possuem a capacidade de colonizar alimentos devido à produção de diversas enzimas hidrolíticas. Como resultado, eles causam distúrbios patológicos nas plantas, gerando perdas econômicas significativas para os produtores. Frutas e vegetais são especialmente vulneráveis às espécies fúngicas, tanto durante o cultivo no campo quanto no armazenamento (Cabral; Pinto; Patriarca, 2013).

O gênero *Colletotrichum* contém pelo menos 150 espécies divididas em dez clados principais. Um dos maiores deles é o complexo de espécies *Colletotrichum acutatum*, que inclui patógenos fúngicos que infectam uma ampla diversidade de plantas (Baroncelli *et al.*, 2024). O *Colletotrichum abscissum*, pertence ao complexo de espécies *C. acutatum*, é o agente causador de uma das doenças mais severas da cultura cítrica. Provoca danos às flores e queda precoce dos frutos (Goulin *et al.*, 2019; Goulin *et al.*, 2023).

Portanto, é preciso buscar conhecimento sobre novos compostos que atuem de forma efetiva para mitigar e/ou eliminar os danos causados por fungos como *C. abscissum*, nas culturas de interesse econômico. E os compostos bioativos naturais provenientes do metabolismo secundário vegetal, podem surgir como alternativa para o controle de diferentes de fungos do gênero *C. abscissum*.

1.5.3 Atividade Antiglicêmica

A síndrome metabólica (SM), é um conjunto de parâmetros fisiológicos que se encontram em desequilíbrio e inclui, pressão alta, obesidade central, níveis elevados de glicemia, níveis elevados de triglicerídeos além da resistência à insulina, estando relacionada com aumento das chances de doenças cardiovasculares e morte precoce. O diabetes mellitus (DM) é uma doença metabólica crônica que causa a hiperglicemia (aumento dos níveis de glicose no sangue) em decorrência da redução da produção de insulina, ou resistência à insulina (Oliveira *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2020). Segundo o último relatório lançado pela Federação Internacional de Diabetes (FID) de 2021, o número de pessoas afetadas por DM é de 537 milhões de adultos entre 20 a 79 anos, sendo ainda responsável pela morte de 6,7 milhões de pessoas, sendo assim, um grande problema global de saúde pública.

Os dois tipos mais comuns de diabetes são o tipo 1 (DM1) e o tipo 2 (DM2). O tipo DM1 é caracterizado como uma doença autoimune mais comum entre crianças e jovens, gerada pela destruição imunológica das células β pancreáticas produtoras de insulina (Yang *et al.*, 2020). O tipo DM2 está relacionado a fatores genéticos, alimentação desequilibrada, obesidade, sedentarismo, caracterizada pela produção insuficiente de insulina que pode ou não seguir da resistência à insulina (Yang *et al.*, 2020; Oliveira *et al.*, 2022). A DM sem tratamento adequado pode acarretar complicações secundárias graves, como cegueira, insuficiência renal, disfunção

hepática, danos nos nervos, ataque cardíaco (Gowd; Jia; Chen, 2017), tornando-se um problema de saúde globalmente, o aumento do número de casos da DM2 e suas principais complicações (FID, 2021).

Assim, torna-se necessária a manutenção dos níveis de glicose no sangue para manter o bom funcionamento do corpo e prevenir complicações. Naturalmente, o corpo humano mantém a homeostase da glicose através dos órgãos pâncreas, fígado, intestino, cérebro e por vários hormônios neuropeptídios (Gowd; Jia; Chen, 2017). O aumento da glicose no sangue ocasiona o aumento ERO's, e assim, o estresse oxidativo (Pérez-Muñoz *et al.*, 2022). Quando o indivíduo possuiu DM, se faz necessário o uso de agentes terapêuticos como mudanças na dieta, exercícios físicos e medicamentos.

Diversos medicamentos são utilizados para tratamento da DM2 e suas complicações, sendo eles: biguanida (metformina), sulfonilure, tiazolidinedionas (glitazonas), meglitinidas (glinidas) e inibidores da alfa-glicosidase e da DPP-4, além de injetáveis como a insulina e incretina, que atuam melhorando o equilíbrio da glicose no corpo (Tran; Pham; Le, 2020). No entanto, frequentemente os medicamentos não atingem o resultado esperado devido aos seus efeitos colaterais, como tosse, dor de cabeça, aumento da creatina sérica (Gothai *et al.*, 2016). Estudos relatam que o Metformina pode levar à acidose láctica, anemia hemolítica, pancreatite e diarreia (Pérez-Muñoz *et al.*, 2022; Tran; Pham; Le, 2020). Fatos que levam às pesquisas sobre terapêuticos naturais que possam ser eficientes e sem trazer os efeitos colaterais (Gothai *et al.*, 2016).

O uso de plantas medicinais é elevado, principalmente em países em desenvolvimento, devido ao uso tradicional e cultura. A ação hipoglicêmica e antidiabética de várias plantas utilizadas como remédios antidiabéticos tradicionais vem sendo estuda, demonstrando sua eficácia, e sua relação com seus compostos bioativos (Tran; Pham; Le, 2020). Estudos demonstram que as plantas com potencial de ação no tratamento do DM2 apresentam como características alta capacidade antioxidante, e inibição da ação das enzimas α -glicosidase, α -amilase e lipases. Os ácidos fenólicos como o ácido cafeico e rosmarínico atuam reduzindo níveis de glicose, terpenos e sesquiterpenos, reduzem o dano oxidativo no rim, fígado e cérebro (Pérez-Muñoz *et al.*, 2022). A ingestão de flavonoides está

relacionada a redução dos riscos de tolerância a glicose, atuando nos órgãos que auxiliam no equilíbrio da glicose no corpo (Oliveira *et al.*, 2022).

O interesse por compostos bioativos que atuem no controle da diabetes amplia os estudos sobre a composição de plantas. Franco *et al.* (2018), ao analisarem o *E. grandiflorus* observaram que a planta apresenta ação inibidora para α -amilase e lipase e ação antioxidante. Maharaj *et al.* (2022), sugerem potencial da *Sclerocarya birrea* como agente antidiabético pela captura da glicose. Trabalho realizado por Elkader *et al.* (2022), com a planta *Persea americana* Mill, demonstram a ação positiva para a saúde humana devido ao seu alto teor de polifenóis e ação de inibição da α -amilase. Os estudos relacionados a compostos bioativos de plantas vêm se desenvolvendo e expandindo seu conhecimento nas múltiplas ações dos compostos bioativos no corpo humano, o que justifica a pesquisa sobre *E. grandiflorus* e seu possível potencial antiglicêmico.

1.5.4 Atividade Antiobesidade

A Organização Mundial de Saúde (OMS), define como sobrepeso e obesidade, o acúmulo anormal ou excessivo do tecido adiposo que pode prejudicar a saúde. Fatores que contribuem para o desenvolvimento da SM (síndrome metabólica) incluem, alimentação desequilibrada, sedentarismo, idade, sexo e genética. O tecido adiposo é responsável pela regulação de processos biológicos essenciais, contudo, quando ocorre a obesidade, inicia-se um processo inflamatório, gerado pela hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos, ocasionando alterações metabólicas prejudiciais ao organismo. Este estado inflamatório libera substâncias do tecido adiposo, podendo originar resistência à insulina, DM2, além de doenças metabólicas e cardiovasculares (Noce *et al.*, 2021; Alkhatib *et al.*, 2022).

Sendo o sobre peso e a obesidade um dos parâmetros da SM, que pode acarretar quadro clínicos graves, é indispensável o tratamento associado a uma alimentação saudável (rica em vegetais, frutas) e exercícios físicos. A ação dos compostos bioativos naturais na obesidade, está relacionada com a diminuição da resposta inflamatória, inibindo a lipogênese e a adipogênese (Ramírez-Moreno *et al.*, 2022). Diversos estudos evidenciam a ação dos compostos bioativos no controle e redução do peso corporal e da obesidade. A ação dessas moléculas para redução do peso corporal se desenvolve por dois mecanismos, a estimulação do sistema

nervoso simpático, aumentando o gasto energético, e a diminuição da absorção intestinal de lipídios e carboidratos, dessa forma, reduzindo a ingestão de calorias (Noce *et al.*, 2021).

Pesquisas demonstram a ação dos compostos fenólicos, com destaque para as catequinas e sua ação antiobesidade. Os flavonoides têm sua ação relacionada a perda de tecido adiposo, e assim, a redução de peso (Alkhatib *et al.*, 2022; Noce *et al.*, 2021). Gasparotto *et al.* (2018), avaliaram a ação de *E. gradiflorus* em coelhos que foram submetidos a uma dieta rica em colesterol, resultando em um efeito cardioprotetor. Devido ao aumento das SM (diabete, obesidade, pressão alta) que é um problema de saúde mundial, ações para redução desses índices são urgentes. Além da educação alimentar da população, a utilização de fontes de compostos bioativos tem se demonstrado promissoras no controle e prevenção da obesidade, o que vem estimulando pesquisas sobre o assunto.

1.5.5 Atividade de Inibição da Lipase Pancreática

A obesidade e o excesso de peso têm sido tratados por uma alimentação equilibrada com restrição de alimentos calóricos, prática de exercícios físicos e o uso de medicamentos. Uma grande parcela das pessoas que perdem peso por meio de dietas após 5 anos, recuperam o peso original (Saad; Ghareeb; Kmail, 2021). Os medicamentos mais comuns, utilizados para controle da obesidade, são Fentermina, Orlistat, Loracaserina, coquetel de fentermina/topiramato, naltrexona de liberação sustentada/bupropiona (Borah *et al.*, 2021).

Uma das estratégias para prevenção do ganho de peso é a inibição das enzimas envolvidas na absorção de nutrientes, em destaque os lipídios. O orlistat, atua inibindo a ação da lipase pancreática (Borah *et al.*, 2021). A lipase pancreática é uma enzima fundamental no processo digestivo, responsável por catalisar a clivagem de triglicerídeos em glicerol e ácidos graxos, sendo responsável por a hidrólise de 50 a 70% das gorduras provenientes da dieta (Saad; Ghareeb; Kmail, 2021; He *et al.*, 2023).

Diante disso, a inibição da lipase pancreática tem sido um dos parâmetros para reduzir a obesidade. De modo geral, tem se investigado as propriedades inibidoras da lipase pancreática por compostos bioativos naturais, no intuito de

auxiliar no tratamento contra a obesidade (Borah *et al.*, 2021). Os compostos bioativos têm apresentado ação desejável na redução da absorção lipídica e no ganho de peso corporal, sendo ativos na inibição da ação da lipase pancreática as catequinas (galato epigallocatequina) e saponinas, compostos fenólicos, taninos, e isoflavonas de soja, os quais, são exemplos de inibidores (Saad; Ghareeb; Kmail, 2021).

Assim, diante do avanço da obesidade na população mundial, bem comoda opção de medicamentos e dos efeitos adversos de seu uso, tem-se fomentado a identificação de agentes terapêuticos naturais que ofereçam segurança e eficácia. Sendo assim, os compostos bioativos de plantas são uma opção promissora no tratamento da obesidade.

1.6 COMPOSTOS BIOATIVOS E SUAS PERSPECTIVAS PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL

Está evidenciado que as pessoas estão mais conscientes sobre a interação entre alimentação e uma vida saudável, tendo em vista que os alimentos são responsáveis pelo fornecimento de diversos nutrientes essenciais à vida, além de compostos com propriedades bioativas que auxiliam na proteção contra doenças (Mandal; Sarkar; Chakraborty, 2022; Samtiya *et al.*, 2021). As plantas oferecem à dieta humana minerais, metabólitos primários (proteínas, lipídeos e carboidratos) e secundários (compostos fenólicos, terpenoides e pigmentos), sendo, portanto, altamente recomendada a sua ingestão, destacando-se a ação desses metabólitos secundários na prevenção e melhoria de algumas doenças (Mironeasa *et al.*, 2023).

A utilização de plantas medicinais está além do seu uso na medicina tradicional, pois, vem ganhando espaço na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética. Os compostos bioativos, como os compostos fenólicos presentes nas plantas, apresentam diversas atividades biológicas comprovadas, como antioxidantes, e antimicrobianos, auxiliando nas condições mentais e físicas (Ivanišová *et al.*, 2023; Ali *et al.*, 2023; Soto *et al.*, 2023). Eles se tornam potenciais aditivos para retardar ou prevenir a perda das características sensoriais e nutricionais dos alimentos (Soto *et al.*, 2023). Estudos voltados ao isolamento e à purificação de extratos de plantas, visando sua aplicação como possíveis substitutos

de aditivos sintéticos, em razão das controvérsias relacionadas ao seu potencial tóxico ao consumidor (Šojic *et al.*, 2023; Awad *et al.*, 2021).

Trabalhos com a aplicação dos compostos bioativos de plantas, incluem, o potencial antioxidante de ervas para aplicação na indústria de alimentos, farmacêutica e de rações para animais. Ocorre também a aplicação de extratos encapsulados ou na forma bruta para formulação de alimentos funcionais, fortificados e como corantes naturais (Mandal; Sarkar; Chakraborty, 2022). São também utilizados como antioxidantes e antimicrobianos naturais em carne e seus derivados (Šojic *et al.*, 2023; Awad *et al.*, 2021). Embalagens ativas contendo compostos bioativos também são utilizadas para a conservação de alimentos (Balan *et al.*, 2020). No entanto, estudos também demonstram obstáculos como as altas concentrações de extratos vegetais que geram características sensoriais indesejáveis nos produtos e podem apresentar toxicidade para humanos (Šojic *et al.*, 2023).

O aumento do interesse e consumo de alimentos e bebidas funcionais pela população é crescente, impulsionado por seus benefícios na manutenção da saúde e na prevenção e controle de doenças. A literatura consultada apresenta poucos dados da utilização do *E. grandiflorus* em produtos alimentícios. Desta forma o estudo e desenvolvimento de produtos alimentícios adicionados dos extratos de *E. grandiflorus* podem ser uma estratégia nutricional no desenvolvimento de alimentos e bebidas funcionais como, por exemplo, iogurtes, bebidas gaseificadas, além da sua adição como conservante devido a sua ação antioxidante. A incorporação de suas folhas moídas como ingredientes em formulações de biscoitos e pães pode agregar suas propriedades biológicas e nutricionais ao produto final. Outra linha de aplicação tecnológica é a sua incorporação em biofilmes que poderiam ser aplicados como embalagens em alimentos.

1.6.1 Desenvolvimento de Iogurte com Extratos de Plantas

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, a Instrução Normativa n.º 46, de 23 de outubro de 2007, estabelece a identidade e os requisitos mínimos de qualidade dos leites fermentados. Define o iogurte como produto cuja fermentação se realiza com bactérias lácticas ou fermentos lácticos

Streptococcus salivarius subsp thermophilus, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp, onde podem ser adicionadas outras bactérias que auxiliam para a determinação das características do produto, e os quais devem ser viáveis, ativos e abundantes no produto e ao longo do seu prazo de validade (Brasil, 2007).

O iogurte é considerado um dos produtos lácteos fermentados mais apreciados por suas características sensoriais, mas também por seus benefícios à saúde. O seu consumo regular estimula o sistema imunológico, controla o peso, melhora a absorção de minerais e vitaminas (Rashwan; Osman; Chen, 2023). Portanto, novos iogurtes com propriedades de promoção à saúde estão em alta, impulsionados pela demanda do consumidor cada vez mais consciente sobre a interação entre saúde e alimentação (Kandyliar *et al.*, 2023). Embora o iogurte natural tenha alto valor nutricional e seus benefícios na promoção da saúde, se tratando de composição fenólicos sua concentração é baixa, substâncias que conferem propriedades antioxidantes ao produto (Abdel-Hamid *et al.*, 2020). Diante desse mercado crescente de alimentos que promovam a saúde, trona-se de interesse do presente trabalho investigar a ação do extrato de *E. grandiflorus* na formulação e no desenvolvimento de um iogurte natural, buscando adicionar suas qualidades bioativas no produto.

1.7 Considerações finais

As contribuições dos compostos bioativos de plantas para a alimentação vêm sendo cada vez mais reconhecidas, visto que desempenham papel importante na prevenção e no controle de diversas doenças. O *E. grandiflorus* é uma planta amplamente utilizada na medicina popular, o que direcionou a maioria dos estudos para a área farmacêutica, resultando no conhecimento de suas ações anti-inflamatórias, antioxidantes, diuréticas, cardioprotetoras, antinociceptivas, anti-hipertensivas. No entanto, sua aplicação na área alimentar ainda é limitada, ocorrendo de forma pontual na produção de refrigerantes, doces a partir dos rizomas, ensopados e omeletes com talos e no chimarrão, utilizando-se as folhas. Dessa forma, evidencia-se que *E. grandiflorus* apresenta grande potencial a ser explorado, tanto na extração de seus compostos bioativos quanto na sua aplicação no desenvolvimento de alimentos funcionais. A criação de produtos, como iogurtes

enriquecidos com o extrato da planta, representa uma alternativa promissora para atender a um público cada vez mais preocupado com o bem-estar e em busca de alimentos que promovam saúde.

CAPÍTULO 2: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DAS FOLHAS DE *Echinodorus grandiflorus* COM APLICAÇÃO EM IOGURTE

RESUMO

Echinodorus grandiflorus tem sido explorado de forma limitada na indústria de bebidas, como nos refrigerantes, mas amplamente utilizado na medicina popular. Este estudo teve como objetivo caracterizar a composição mineral, centesimal, teores de cafeína e vitamina C de suas folhas desidratadas e otimizar a extração de compostos bioativos, além de aplicar o extrato na formulação de iogurte. As folhas desidratadas maduras apresentaram valores de fibra alimentar e proteínas, tendo 29,81 e 20,63 g/100 g respectivamente. Foram avaliadas diferentes concentrações de etanol (40, 60 e 80%), temperaturas (40, 60 e 80 °C) e granulometrias (0,420, 0,250 e 0,170 mm) para a extração de compostos bioativos, sendo a condição ótima: 60% de etanol, 80 °C e 0,170 mm. A caracterização química incluiu fenólicos totais, flavonoides, clorofila, carotenoides, taninos e avaliação dos compostos fenólicos individuais. A atividade antioxidante para as folhas novas, maduras e velhas foi determinada por DPPH com 35,22; 67,73; 47,95 µmol TE/g, ABTS com 213,67; 119,74; 167,66 µmol TE/g e FRAP com 162,10; 125,32; 245,50 µmol TE/g, respectivamente. Para atividade antimicrobiana o extrato das folhas maduras não apresentou ação contra as bactérias Gram-positivas, negativas e leveduras testadas, no entanto, no teste antifúngico os extratos apresentaram inibição de 41,21; 48,74 e 45,23% para extratos de folhas novas, maduras e velhas, respectivamente. O potencial antiglicêmico e a inibição da α -lipase foram de 45% e 35,97%. Os teores de fenólicos totais (31,61; 26,17; 26,80 mg GAE/g), clorofila, carotenoides e flavonoides (com destaque para isoorientina nas folhas maduras: 5,605 mg/g) foram determinados. A adição do extrato ao iogurte impediu o crescimento fúngico por 28 dias, indicando potencial para alimentos fermentados enriquecidos com compostos bioativos.

2.1 INTRODUÇÃO

A espécie *Echinodorus grandiflorus* está presente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, sendo uma planta aquática comumente encontrada em lagos, mangues e rios de correnteza lenta. Suas folhas, ovaladas, grandes, espessas e firmes, são tradicionalmente utilizadas na forma de infusão para o tratamento da hipertensão, reumatismo, artrite e como diurético (Silva *et al.*, 2021; Pinto *et al.*, 2006; Silva, 2015). Embora seu uso culinário ainda seja incipiente, seu pecíolo (talo) tem sido empregado no preparo de omeletes e caldos de legumes, seus rizomas na produção de doces, e as folhas maduras adicionadas à água para o consumo de chimarrão. Industrialmente é utilizada na formulação de refrigerantes (Kinupp; Lorenzi, 2015; Marques *et al.*, 2017), evidenciando seu potencial como matéria-prima para o desenvolvimento de novos produtos alimentícios.

Estudos prévios com *E. grandiflorus* demonstraram diversas atividades farmacológicas, como ação antinociceptiva, anti-inflamatória, cardioprotetora, anti-hipertensiva, diurética e antidematogênica, além da ausência de toxicidade (Garcia *et al.*, 2010; Gasparotto *et al.*, 2018; Marques *et al.*, 2017; Silva; Kenupp; Takahashi, 2010; Strada *et al.*, 2017). Os extratos de plantas são ricos em compostos bioativos, como fenólicos, flavonoides e carotenoides, que apresentam atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. Sua incorporação em matrizes alimentares, como iogurtes, bebidas, pode contribuir para prolongar a vida de prateleira, reduzir o uso de aditivos sintéticos e promover benefícios à saúde do consumidor.

A extração assistida por ultrassom (EAU) tem se destacado como uma tecnologia promissora na obtenção de compostos bioativos, devido à sua capacidade de preservar essas moléculas, rapidez do processo, alta reprodutibilidade, eficiência energética e baixo uso de solventes (Yusoff *et al.*, 2022; Uzuner, 2023). Tais características tornam a EAU adequada tanto para aplicações em escala laboratorial quanto para perspectivas industriais, considerando seu avanço crescente na área de processamento de alimentos e produtos naturais (Bhargava *et al.*, 2021). A utilização da sonicação direta apresenta vantagens relevantes, uma vez que a inserção da sonda diretamente na amostra promove cavitação acústica uniforme, favorecendo a ruptura celular e a liberação dos

compostos-alvo. Estudos recentes têm evidenciado a eficácia da EAU na extração de diferentes classes de bioativos, reforçando seu potencial (Krüger *et al.*, 2024; Setyani *et al.*, 2023; Latif *et al.*, 2021).

O estado da arte traz dados especialmente da área farmacêutica, os estudos exploraram as técnicas convencionais de maceração, percolação e infusão. Considerando tais aspectos, o presente estudo teve como objetivo otimizar a extração dos compostos bioativos de *E. grandiflorus* utilizando a técnica de extração assistida por ultrassom, avaliando suas propriedades bioativas e seu potencial de aplicação em produtos fermentados, como o iogurte.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Materiais

As amostras das folhas de *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltr.) Micheli (chapéu-de-couro) foi coletada em fevereiro de 2024, no município de Três Barras, Santa Catarina, Brasil, nas coordenadas geográficas: Latitude: -26.1863397 S, longitude: -50.2481449 W. Procedeu-se à coleta de folhas em diferentes estádios de desenvolvimento maturação, obtendo-se 2,3 kg de folhas novas, 5,0 kg de folhas maduras e 2,3 kg de folhas velhas. Um espécime expositivo foi identificado no Laboratório de Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa sob o número de referência: 23.212. O presente estudo teve seu registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do conhecimento tradicional associado (SISGEN) com o código de acesso: A5B50FF.

Foram utilizados os reagentes Folin-Ciocalteu, Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-coromano-2-carboxílico), ABTS (sal diamônico de 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), TPTZ (2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina), ácido gálico ($(\text{HO})_3\text{C}_6\text{H}_2\text{CO}_2\text{H H}_2\text{O}$), os quais foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Enzimas: Amiloglucosidase (A9913), α -amilase (A3306) e protease (P6110) Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA). Os demais reagentes utilizados foram de padrão analítico. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura e destilada.

2.2.2 Métodos

2.2.2.1 Coleta das amostras

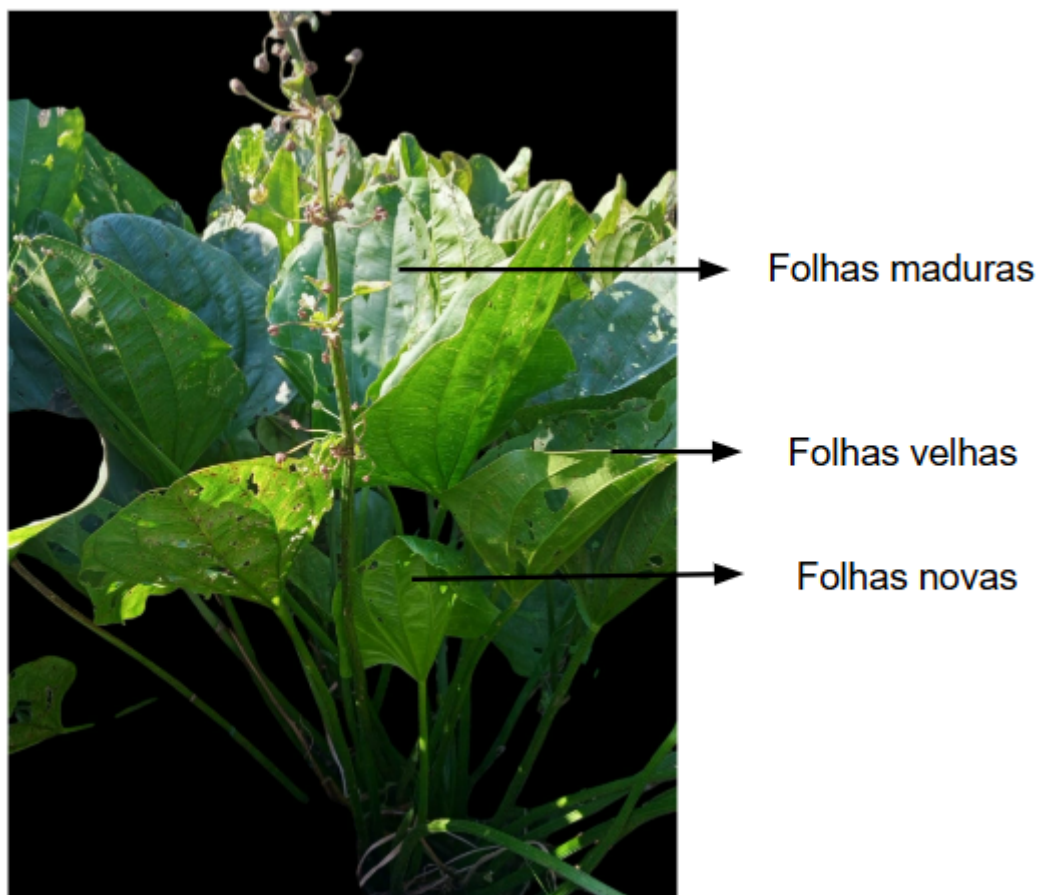
As amostras foram coletadas em uma área de aproximadamente 12 m² (Figura 6). As folhas de *E. grandiflorus* são simples, inteiras, dispostas em roseta basal, apresentando variação morfológica ao longo do desenvolvimento (Figura 7). Na coleta obtiveram-se as folhas novas, maduras e velhas (suas características são descritas na Tabela 8 que foram acondicionadas em embalagem plástica separadamente e transportadas para o laboratório.

Figura 6 - Área de coletas das folhas de *E. grandiflorus*.



Fonte: A autora.

Figura 7 - Localização das folhas de *E. grandiflorus* nos diferentes estádios de desenvolvimento.



Fonte: A autora, 2025.

Tabela 8 - Características das folhas de *E. grandiflorus* no estágio de desenvolvimento nova, madura e velha.

Estádio de desenvolvimento	Características
	Folhas novas: localizam-se na região central da roseta, apresentando lâminas foliares de coloração verde, textura tenra e consistência delicada. Possuem dimensões médias variando entre 11,5 a 16 cm de largura e 16 a 19 cm de comprimento. Estão presentes em menor quantidade na planta, representando o estágio inicial de desenvolvimento foliar.



Folhas maduras: predominam na porção intermediária da roseta e correspondem à maior proporção do dossel foliar. Apresentam lâminas verde, consistência coriácea, superfície lisa e margens inteiras. As dimensões variam entre 22 a 26 cm de largura e 25 a 26 cm de comprimento. Este estágio representa o ápice do desenvolvimento foliar, conferindo maior área fotossintética à planta.



Folhas velhas: situam-se na região basal da roseta, com lâminas de tonalidade verde e consistência mais rígida. Frequentemente apresentam sinais de senescência, como pontos de descoloração, áreas necróticas e danos causados por herbivoria. Suas dimensões variam de 22 a 28 cm de largura e 25 a 26 cm de comprimento. Ocorrência em menor quantidade, uma vez que são gradualmente perdidas durante o ciclo de vida da planta.

Fonte: A autora, 2025.

2.2.2.2 Obtenção dos extratos do planejamento experimental

As amostras de folhas novas, maduras e velhas *in natura*, com umidade inicial de $93 \pm 0,3\%$, foram selecionadas e higienizadas em água corrente. Em seguida, foram secas a 45°C por 48 horas em estufa com circulação de ar (Luca-82/480, Lucadema, São José do Rio Preto–SP, Brasil), obtendo assim amostra desidratada (AD). Após, foram cominuídas em moinho de facas tipo Willey (SL-31, Solab, Pracicaba, SP, Brasil), seguido pela tamisação com peneiras 40, 60 e 80 Mesh. Posteriormente, amostras foram embaladas a vácuo e armazenadas a -18°C em freezer até o procedimento de extração e posterior análise.

Visando otimizar o processo e avaliar os efeitos da concentração da solução de etanol (40, 60 e 80%), temperatura (40, 60 e 80°C) e granulometria de 40 ($>0,420\text{ mm}$), 60 ($< 0,250\text{ mm}$) e 80 ($< 0,170\text{ mm}$) Mesh, foi realizado um planejamento experimental Box-Behnken (Box; Behnken, 1960). Os extratos foram preparados pesando-se 1 g de amostra (folha madura), adicionando-se 50 mL de solvente (etanol 40, 60 ou 80% v/v) e submetidos a extração em ultrassom com sonda ultrassônica (Vibra-Cell 500 W, Sonics & Material Inc., EUA) em frequência de

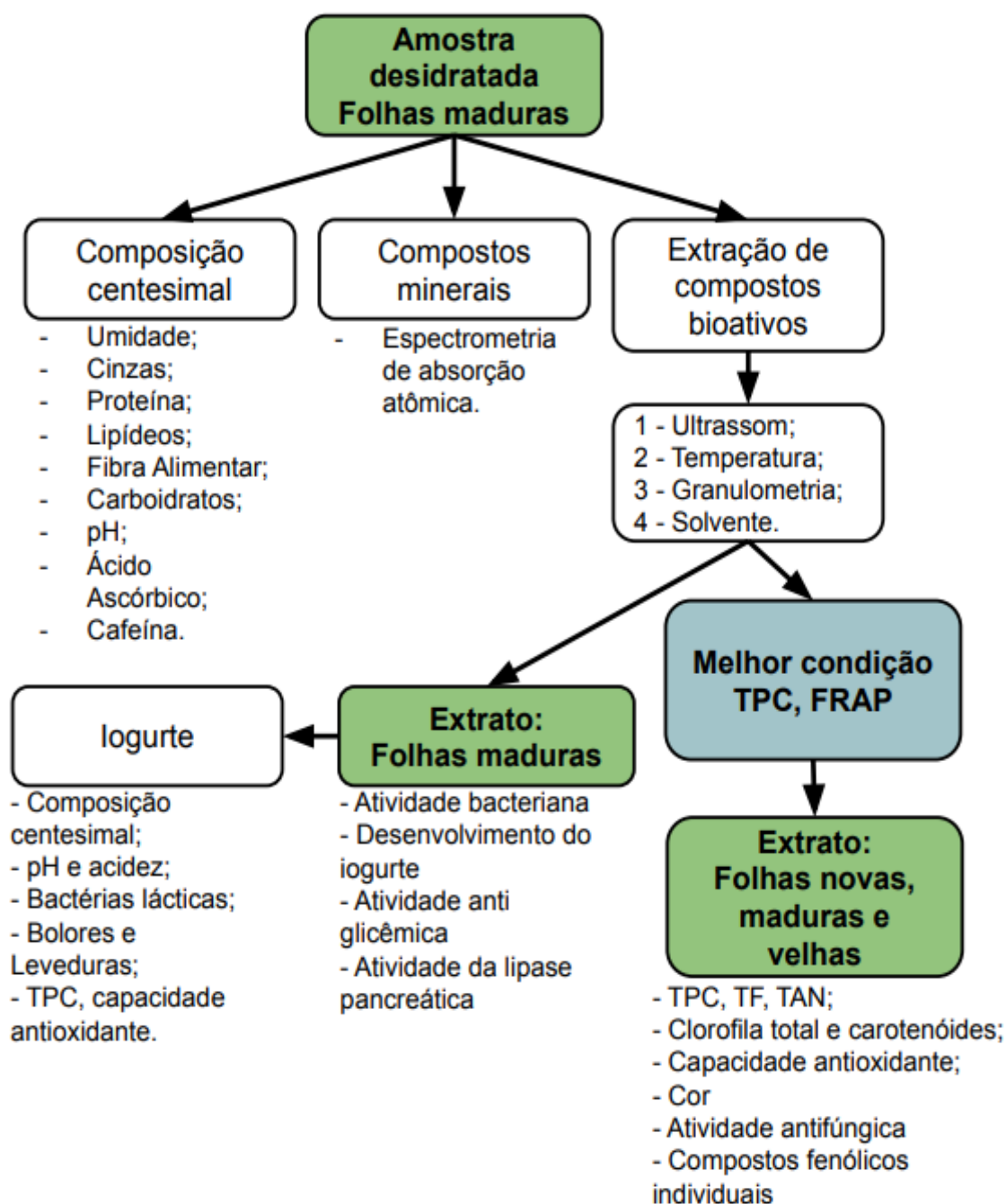
20 kHz e amplitude de 70% sob temperatura controlada (40, 60 ou 80 °C) durante 10 min. Cada amostra foi acondicionada em seus respectivos tratamentos, conforme Tabela 3. Em seguida os extratos foram resfriados e filtrados, avolumados novamente para 50 mL, seguindo para análises, conforme Figura 9, de acordo com Casagrande (2018), com modificações.

Tabela 3 - Planejamento Box-Behnken para extração de compostos bioativos de *Echinodorus grandiflorus*.

Ensaio	Níveis codificados		
	Concentração da solução de etanol (%)	Temperatura de extração (°C)	Granulometria da amostra (mm)
1	-1	-1	0
2	+1	-1	0
3	-1	+1	0
4	+1	+1	0
5	-1	0	-1
6	+1	0	-1
7	-1	0	+1
8	+1	0	+1
9	0	-1	-1
10	0	+1	-1
11	0	-1	+1
12	0	+1	+1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0
Valores reais*			
-1	40	40	> 0,420
0	60	60	< 0,250
+1	80	80	< 0,170

Fonte: A autora, 2024

Figura 9 - Fluxograma geral das análises do *Echinodorus grandiflorus*.



Fonte: A autora, 2025.

2.2.3 Análises

2.2.3.1 Composição centesimal

Para caracterização química das folhas maduras desidratadas de *E. grandiflorus*, foram realizadas as análises de umidade, cinzas, extrato etéreo, proteínas (fator de correção de nitrogênio total em proteína 6,25), pH, ácido ascórbico e cafeína, conforme método descrito no Instituto Adolfo Lutz (2008), e carboidratos por diferença (TBCA, 2023). Para avaliação da fibra alimentar total foi utilizado o método enzimático descrito por AOAC (2000). As análises foram realizadas em triplicata.

2.2.3.2 Elementos minerais

A análise do conteúdo mineral utilizou a espectrofotometria de absorção atômica descrita por Arora *et al.* (2008). Em cadinhos de porcelana foram pesados 0,5 g de amostra seca em triplicata. Após a calcinação as cinzas foram digeridas com solução de ácido perclórico e ácido nítrico (1:4), seguindo para o resfriamento e filtração em papel filtro Whatman n.º 42. Após isso, avolumada para 25 mL com água destilada e analisada por espectrofotometria de absorção atômica (AA240FS, Varian, Canadá). Foi avaliado o conteúdo mineral de cálcio (Ca), potássio (K) e sódio (Na).

2.2.3.3 Compostos fenólicos totais (TPC)

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, descrito por Singleton; Orthofer e Lamuela-Raventós (1999), tendo como padrão de referência o ácido gálico. Em um tubo de ensaio transferiu-se 500 µL (microlitros) de cada amostra avaliada (com as diluições adequadas para cada amostra), seguidas de 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído em água destilada 1:10 (v/v) à homogeneização. Após 5 minutos foram adicionados 2mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 4% (m/v), seguidos por homogeneização. Os tubos foram colocados ao abrigo da luz em temperatura ambiente. Realizaram-se as medidas de absorbância, a 740 nm, em espectrofotômetro (Spectrumlab, 53, BEL, Monza, Itália). Foi conduzida amostra

controle nas mesmas condições de análise, contendo etanol ao invés da amostra e da solução extratora. A curva analítica foi construída utilizando ácido gálico, com os resultados expressos em miligramas de EAG (equivalente ao ácido gálico) por grama de amostra (mg/EAG). Os resultados foram expressos através da equação da reta da curva analítica de ácido gálico ($y=9,6125x+0,0095$; $R^2=0,9996$). Uma amostra em branco foi utilizada para zerar o espectrofotômetro.

2.2.3.4 Flavonoides totais (FT)

O teor de flavonoides totais foi determinado pelo método espectrofotométrico descrito por Zhishen, Mengcheng e Jianming (1999). Em tubo de ensaio foram adicionados 500 µL dos extratos, 2,35 mL de água destilada, 150 µL de nitrito de sódio (1:20), seguindo para homogeneização e repouso por cinco minutos, após 1000 µL de alumínio (1:10), seguindo para repouso por seis minutos. Após adicionou-se 1000 µL de NaOH 1 mol/L, repouso de 10 min. Realizaram-se as medidas de absorbância, a 425 nm, em espectrofotômetro (Spectrumlab, 53, BEL, Monza, Itália). Foi conduzida amostra controle nas mesmas condições de análise, sem a amostra. A curva analítica foi construída utilizando a catequina como padrão, com os resultados expressos em miligramas de CAT (equivalente de catequina) por grama de amostra (mg CAT/g). Os resultados foram expressos através da equação da reta da curva analítica de catequina ($y=3,0302x-0,0561$; $R^2=0,9976$).

2.2.3.5 Pigmentos Fotossintéticos, Clorofilas e Carotenoides

Para avaliar os pigmentos fotossintéticos clorofila a, clorofila b e carotenoides utilizou-se o método descrito por Hendry; Grime (1993) com alterações. Foi utilizado o extrato das folhas novas, maduras e velhas na condição de extração: etanol 60%, temperatura de 80 °C e granulometria de 80 Mesh. As medidas espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis (Spectrumlab, 53, BEL, Monza, Itália) utilizando cubetas de quartzo. A concentração dos pigmentos foi calculada a partir da absorbância do extrato utilizando os comprimentos de onda 663 nm para a clorofila a, 645 nm para a clorofila b e 480 nm para os carotenoides. As concentrações foram obtidas com as seguintes equações: clorofila a (Equação 1), clorofila b (Equação 2), clorofila total (Equação 3) e carotenoides (Equação 4)

$$\text{Clorofila } a = \frac{(12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}) \times V}{MF} \text{ (mg/g)} \quad (1)$$

$$\text{Clorofila } b = \frac{(22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}) \times V}{MF} \text{ (mg/g)} \quad (2)$$

$$\text{Clorofila total} = \frac{(8,02 \times A_{663} + 20,2 \times A_{645}) \times V}{MF} \text{ (mg/g)} \quad (3)$$

$$\text{Carotenoides} = \frac{(A_{480} + 0,114 \times A_{663} - 0,638 \times A_{645}) \times V}{MF} \text{ (mg/g)} \quad (4)$$

Onde: A480, A663 e A645 são as absorbâncias em 480, 663 e 645 nm, respectivamente; V é volume de solvente utilizado na extração; MF = peso da massa folhar desidratada.

2.2.3.6 Taninos condensados (TAN)

Os taninos condensados foram quantificados utilizando o método da vanilina, conforme descrito por Broadhurst e Jones (1978). Realizada com os extratos das folhas novas, maduras e velhas na condição de extração: etanol 60%, temperatura de 80 °C e granulometria de 80 Mesh. Em tubos de ensaio, foram adicionados 250 µL da amostra e 1500 µL de solução de vanilina (4% p/v em metanol). Após agitação em vórtex, foram acrescentados 750 µL de ácido clorídrico concentrado, seguido de nova homogeneização. As amostras foram então mantidas ao abrigo da luz por 15 minutos para desenvolvimento da reação. Realizaram-se as medidas de absorbância, a 500 nm, em espectrofotômetro (Spectrumlab, 53, BEL, Monza, Itália). Foi conduzida amostra controle nas mesmas condições de análise, sem a amostra. A quantificação foi realizada com base em uma curva padrão de catequina ($y = 13,068x - 0,0108$; $R^2 = 0,9879$), sendo os resultados expressos em miligramas de catequina por grama de amostra.

2.2.3.7 Atividade antioxidante pela inibição do radical livre DPPH

A análise da atividade antioxidante através da eliminação de radicais livres de DPPH foi realizada conforme descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). Preparou-se a solução de DPPH a 0,0088 mol/L com absorbância de $1,1 \pm 0,02$ a 510 nm. Em um tubo de ensaio foram adicionados 150 µL dos extratos e 2,850 µL de DPPH, seguindo para homogeneização. As soluções foram incubadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz por 24 horas. O espectrofotômetro foi zerado

com etanol P.A. Realizaram-se as medidas de absorvância, a 515 nm, em espectrofotômetro (Spectrumlab,53, BEL, Monza, Itália). Foi conduzida amostra controle nas mesmas condições de análise, contendo etanol ao invés de amostra. Os resultados foram expressos através da equação da reta da curva analítica de Trolox (TE) ($y = -6,6876 + 1,0408x$; $R^2 = 0,9917$) e os resultados foram expressos como $\mu\text{mol TE/g}$.

2.2.3.8 Atividade antioxidante através do método de redução do ferro (FRAP)

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada através da redução do ferro (FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power), utilizando o método descrito por Benzie, Strain (1996), com algumas modificações. Foram preparadas as soluções de TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) (0,08 mM TPTZ em 0,05 mol L⁻¹ HCl), cloreto férrico 3 mM (3 mM FeCl₃ em 5 mM C₆H₈O₇), trolox 1 mM. Em tubo de ensaio foram adicionados 100 μL dos extratos, 100 μL da solução de cloreto férrico 3 mM e 1800 μL de solução de TPTZ 1 mM, após, foram mantidos por 30 minutos em banho-maria (SL-150, Solab, Praticaba, SP, Brasil) a 37 °C. As soluções foram incubadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz por 10 minutos. Foi conduzida amostra controle nas mesmas condições de análise, contendo cloreto férrico 3 mM e a solução de TPTZ. A leitura foi realizada em 620 nm usando um espectrofotômetro (Spectrumlab,53, BEL, Monza, Itália). Os resultados foram expressos através da equação da reta da curva analítica de Trolox (TE) ($y = 1,6355x + 0,0462$; $R^2 = 0,9932$) e os resultados foram expressos como $\mu\text{mol TE/g}$.

2.2.3.9 Atividade antioxidante pela inibição do radical livre ABTS

Para atividade antioxidante utilizou-se o método da captura do ABTS^{•+} descrito por Re *et al.* (1999). Foram preparadas as soluções: padrão de Trolox 2 mM e de ABTS (2,2'-azino-di-(3-etilbenztiazolina ácido sulfônico) onde a reação de 7 mM ABTS com 140 mM de persulfato de potássio (K₂SO₄), após incubado a 25 °C ao abrigo da luz por 16 h. Após isso foi realizada a diluição em etanol absoluto até obtenção do valor de absorvância de 0,700. Em um tubo de ensaio foram adicionados 30 μL de cada diluição de extratos, 3,0 mL do radical ABTS, seguindo para homogeneização dos tubos. A absorvância foi medida após 6 min utilizando um espectrofotômetro em 734 nm (Spectrumlab,53, BEL, Monza, Itália). Foi conduzida

amostra controle nas mesmas condições de análise utilizando etanol. Os resultados foram expressos através da equação da reta da curva analítica de Trolox (TE) ($y = -0,3822x + 0,6167$; $R^2 = 0,9762$) e os resultados expressos como $\mu\text{mol TE/g}$.

2.2.3.10 Compostos fenólicos individuais

Para avaliação do perfil fenólico foram utilizados os extratos nas condições ótimas de extração, método descrito por Alberti (2014) com adaptações. Foram analisadas utilizando o equipamento cromatográfico 2695 Alliance (Waters, EUA), com bomba quaternária, amostrador automático e detector de matriz de fotodiodos PDA 2998 (Waters, EUA). As fases móveis foram compostas por 1% de ácido acético (A) e acetonitrila (B) segundo o seguinte gradiente de eluição: 3-15% B (0-30 min), 15-40% B (30-40 min), 40-75% B (40-45 min), seguido por uma eluição isocrática a 85% B (5 min) e recondicionamento da coluna (10 min). A separação ocorreu em coluna Gemini C18 (4,6 x 150 mm, 5 μm , Phenomenex, EUA) a 20 °C, com taxa de fluxo de 1,0 mL/min. A identificação dos compostos foi realizada conforme a sua ordem de eluição e por comparação de seu tempo de retenção com os seus padrões puros. Os padrões utilizados foram: ácido gálico, catequina, epicatequina, quercetina, rutina, kaempferol e isoorientina.

2.2.3.11 Atividade antimicrobiana

As análises de atividade antimicrobiana foram realizadas conforme a Metodologia dos Testes de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbio, conforme CLSI (M07-A10) (CLSI, do inglês: Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines) (CLSI, 2015). Foram utilizadas a bactéria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), bactérias Gram-negativas *Salmonella enterica* (NCTC 6017) e a levedura *Candida albicans*. As cepas foram inoculadas em meio Trypticase Soy Agar e incubadas a 37 °C por 24 horas para realização dos ensaios.

As culturas microbianas foram desenvolvidas em ágar triptona de soja, foram selecionadas três colônias isoladas retirando o inóculo e transferindo para erlenmeyer contendo 50 mL de caldo Mueller-Hinton. O inóculo foi incubado na incubadora Shaker com agitação constante (SL-223, Solab, Piracicaba–SP, Brasil), a 35 °C por 6 horas (ponto em que ocorre a turvação do meio). Após, foi realizado o

ajuste do inóculo para atingir a turbidez óptica comparável a 0,5 da escala McFarland. Foi ajustado o inóculo em uma absorbância de 625 nm (Spectrumlab,53, BEL, Monza, Itália), onde permaneceu entre 0,08-0,10 nm, o que corresponde a uma suspensão com aproximadamente 1 a 2×10^8 UFC/mL. Na sequência foi realizada diluição da suspensão em 1:10 em caldo Muller Hilton estéril, obtendo uma concentração de 10^7 UFC/mL.

Foram utilizados os extratos de *E. grandiflorus*, obtidos nas condições ótimas de extração das folhas maduras, o solvente do extrato foi evaporado em rotaevaporador (TE-211, Tecnal, Piracicaba–SP, Brasil), para que não interferissem nos resultados do CIM e CBM e novamente avolumados para 50 mL com água destilada. Foram utilizadas microplacas de 96 poços, com 12 colunas e 8 linhas. Em fluxo laminar unidirecional (FLV-(U) ORG 1040-12, Ideoxima, Ribeirão Preto–SP, Brasil), foram inoculados 200 µL do extrato na concentração inicial de 10 mg/mL. No primeiro poço de cada linha, nos demais poços foram inoculados 100 µL do caldo Mueller Hinton (Sigma-Aldrich). Procedeu-se à diluição seriada de 1:1 a partir do segundo poço (transferiu-se 100 µL do primeiro poço para o segundo poço e assim progressivamente). Adicionaram-se 5 µL da suspensão microbiana em cada poço. Foram realizados os seguintes controles: Negativo, uma coluna de poços contendo 95 µL de CMH e 5 µL da suspensão bacteriana; positivo, uma coluna de poços contendo 95 µL de CMH e 5 µL da suspensão bacteriana e antibiótico; extratos, uma coluna contendo 95 µL de CMH e 5 µL de extrato. As microplacas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h, após isso foram adicionados 20 µL de reagente 2,3,5-trifeniltetrazólio 0,5% (m/v em água) em cada poço.

Foi incubado novamente a 35 ± 2 °C por 1 hora. O reagente 2,3,5-trifeniltetrazólio é um indicador de oxirredução utilizado para diferenciar tecidos metabolicamente ativos daqueles não ativos, principalmente viabilidade celular. No decorrer de 1 hora os poços que apresentaram atividade permanecem incolores, enquanto os poços nos quais houve crescimento microbiano coram de vermelho. Após isso foi realizada a leitura das placas para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) através da menor concentração que não apresentou formação de um ponto vermelho no fundo do poço. A concentração bactericida mínima (CBM) foi realizada a partir da CIM de cada poço, foi retirado uma alíquota de 10 µL e inoculados nas placas de petri contendo Ágar triptona de soja (Kasvi)

foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h, após foi realizado a leitura das placas os resultados foram expressos em unidade formadora de colônias (UFC).

2.2.3.12 Atividade antifúngica

A análise para atividade antifúngica foi avaliada utilizando método de difusão em placa de ágar descrito por, Rodrigues *et al.* (2005). Utilizou-se o fungo *Colletotrichum abscissum*. A cepa *C. abscissum* Ca142 (também chamada LGMF1258) foi obtida a partir de sintomas de queimadura de pétalas de laranjeira-doce (*Citrus sinensis*) coletadas em um pomar comercial em Santa Cruz do Rio Pardo, São Paulo, Brasil. A patogenicidade da cepa *C. abscissum* Ca142 foi confirmada em experimentos *in vivo* e *in vitro* (Goulin *et al.*, 2019). Encontra-se depositada na Coleção de Fungos Patogênicos de Plantas do Departamento de Fitopatologia e Nematologia (“Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil) a qual foi cedida para a realização deste estudo. A atividade antifúngica foi avaliada utilizando o extrato rotaevaporado das folhas novas, maduras e velhas em concentrações de 1, 2, 5, e 10% (v/v). Utilizaram-se plugs fúngicos (0,5 mm de diâmetro) que foram colocados no centro da placa de Petri em um meio de cultura batata-dextrose-ágar (PDA), nas concentrações de extratos relatadas. As culturas foram incubadas a 25 ± 2 °C e o crescimento radial dos micélios foi medido diariamente por 15 dias. O efeito antifúngico foi medido em um delineamento totalmente aleatório com três repetições. Realizou-se um controle negativo (PDA sem extrato) e um controle do extrato. Para avaliar atividade antifúngica utilizou-se a Equação 5.

$$\% \text{ Inibição} = \frac{R-r}{r} \times 100 \quad (5)$$

Onde:

- R= é o crescimento radial do micélio fúngico na placa controle negativo
- r = é o crescimento radial do micélio fúngico na placa tratada com diferentes concentrações de extratos.

2.2.3.13 Atividade antiglicêmica *in vitro* pela de inibição da atividade de α -glicosidase

A avaliação da atividade antiglicêmica foi determinada conforme descrito por Moradi-Afrapoli *et al.* (2012). Em tubo de ensaio foram adicionados 400 μ L de extrato em várias concentrações (10 a 400 μ L) utilizando tampão fosfato de potássio pH 7 nas diluições. Após adicionar 400 μ L da enzima α -Glucosidase (0,5 U/mL), incubou-se a reação por 6 min. a 25 °C. Após foram adicionados 200 μ L de pNPG (*p*-nitrofenil α -D-glucopiranosídeo) 3mM (em tampão fosfato pH7), incubou a reação em banho-maria a 37 °C por 30 min. A reação foi interrompida com a adição de 2 mL carbonato de sódio (Na_2CO_3) 0,1 mM. Foi conduzido um branco utilizando tampão fosfato. Realizaram-se as medidas de absorbância, a 400 nm, em espectrofotômetro (Spectrum, SP-22, Biospectro). A atividade antiglicêmica do extrato foi determinada pela plotagem da % de inibição da enzima (Equação 6).

$$\% \text{ inibição} = \left(1 - \frac{\text{Abs amostra}}{\text{Abs controle}}\right) \times 100 \quad (6)$$

2.2.3.14 Determinação da inibição da atividade da lipase pancreática

Para avaliação da atividade da lipase pancreática foi utilizado o método descrito por Kim *et al.* (2012) modificado por Yan *et al.* (2022). Em tubo de ensaio foram adicionados 400 μ L de extrato em concentração inicial de 5 mg/mL (10 a 400 μ L) utilizando tampão fosfato de potássio pH 7,2 nas diluições. Após isso foram adicionados 40 μ L de cada extrato diluído e 20 μ L de p-NPP 10 mM (palmitato de *p*-nitrofenila) que foram adicionados em sucessão e incubados a 37 °C por 10 min em banho-maria (Solab, SL 150, São Paulo, Brasil). Após a incubação foram adicionados 40 μ L de solução de pancrelipase 10 mg/mL, foram homogeneizados e incubados a 37 °C por 15 min, imediatamente após foram adicionados 200 μ L de etanol PA, para encerrar a reação. A solução foi centrifugada a 10.000 x *g* por 2 min em centrífuga (Centribio-80 2B, Daiki, Rio de Janeiro, Brasil) e o sobrenadante retirado. Após realizada a leitura da absorbância em um comprimento de onda de 405 nm em espectrofotômetro de microplacas (Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, EUA), o valor obtido foi registrado como B1. A amostra foi substituída por tampão fosfato para o controle branco registrado como B0. A amostra sem inibidores foi

retirada para medir a atividade livre de inibidor, registrada por A1; o controle negativo correspondente foi sem a enzima, denominado A0. Orlistat foi utilizado como controle positivo. A inibição do extrato foi determinada pela plotagem da % de inibição da enzima Equação 7.

$$\% \text{ inibição} = (1 - (B1 - B0)/(A1 - A0)) \times 100 \quad (7)$$

2.2.3.15 Cor do extrato

A cor das amostras foi verificada a partir de colorímetro digital (Shenzhen Threenh Technology Ltd, TEC-200, China), com obtenção dos valores de luminosidade (L^*), coordenada vermelho/verde (a^*) e coordenada amarelo/azul (b^*), os quais foram utilizados para calcular os valores de Chroma (C^*) (Equação 8) e ângulo hue (h^*) (Equações 9 e 10), os quais representam a intensidade de cor e a tonalidade, respectivamente.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (8)$$

$$h^* = \tan^{-1}(b^*/a^*), \text{ quando } a^* > 0 \quad (9)$$

$$h^* = 180 + \tan^{-1}(b^*/a^*), \text{ quando } a^* < 0 \quad (10)$$

2.2.3.16 Desenvolvimento do iogurte

O iogurte natural foi produzido em escala laboratorial utilizando: leite de vaca pasteurizado adquirido no mercado local, cultura iniciadora liofilizada: *Lactobacillus acidophilus* (cepa LA-5), *Bifidobacterium* (cepa BB-12) e *Streptococcus thermophilus* (Bio Rich) e o extrato obtido das folhas maduras de *E. grandiflorus* que previamente foi rota-evaporado a 45 °C, tendo uma concentração final de 2 g/100mL (baseado na amostra/folhas). O leite foi aquecido a 43 °C, após dividido em quatro porções de 1 litro (para cada amostra suplementada com extrato e um controle). Em seguida adicionou-se a cultura lática e realizou-se a homogeneização com colher em movimentos circulares por aproximadamente 1 min, após adicionou-se 0,5; 1 e 2% de extrato (v/v) em seu respectivo recipiente, homogeneizou-se a mistura que foram adicionadas em frascos de 50 mL com tampa. A amostra controle não foi suplementada. Imediatamente após foram incubadas em estufa com circulação de ar

(Lucadema, LUCA 82/1152, São Paulo, Brasil) a 42 °C. O processo de fermentação foi monitorado medindo o valor de pH das amostras com phmetro de bancada (Marconi, MA-522, São Paulo, Brasil) das amostras em um intervalo de tempo de 30 minutos até atingir o pH 4,6-4,7. As amostras produzidas foram mantidas sob refrigeração a 6 °C em incubadora BOD (Deluq, DL552, Paraná, Brasil) e submetidas à análise em intervalos de 0, 7, 14, 21 e 28 dias após a produção. Avaliaram-se a composição centesimal, pH, acidez total conforme o Item 2.2.3.1.

2.2.3.17 Preparo da amostra de iogurte para análise de compostos fenólicos e atividade antioxidante

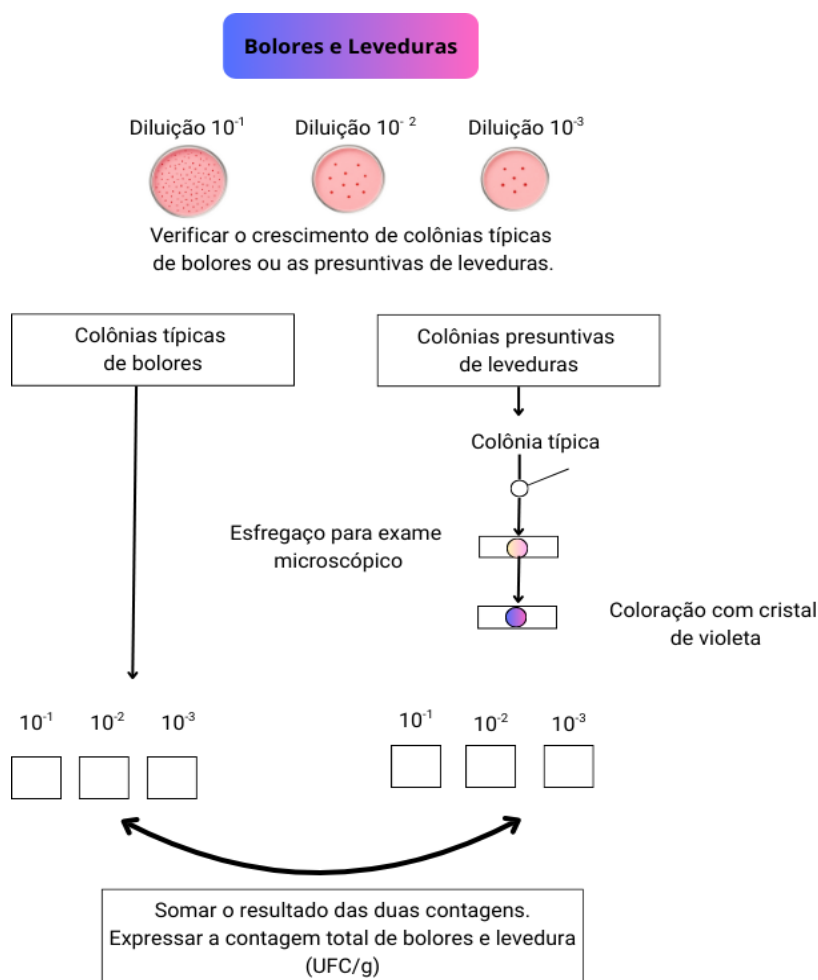
As amostras foram preparadas, conforme Abdel-Hamid *et al.* (2020) com adaptações, 20 mL de cada amostra foram transferidos para tubos falcon de 50 mL e centrifugados (Novatecnica, NT810, 800W, Piracicaba, SP, Brasil) a 3.460 g por 10 min. E mantidas em refrigerador a 4 °C. Após o sobrenadante ser retirado e mantidas a -18°C até a análise. Para cada ponto de armazenamento, realizaram-se as análises em triplicata. Seguiu-se o mesmo procedimento analítico descrito no Item 2.2.3.3 para compostos fenólicos, e os itens 2.2.3.7 e 2.2.3.9 para atividade antioxidante.

2.2.3.18 Análise microbiológica do iogurte

As amostras de iogurte foram analisadas para bactérias láticas e bolores e leveduras nos dias 0, 7, 14, 21 e 28 em duplicata. Foi utilizado o método de plaqueamento em superfície para bolores e leveduras e plaqueamento por profundidade com sobrecamada para bactérias láticas descrito por Silva *et al.* (2017). A contagem de bolores e leveduras utilizou 25 g de amostra de iogurte diluída em 225 mL de água peptonada 0,1%, após realizou-se a homogeneização e a diluição seriadas até 10^{-3} . Transferiu-se 0,1 mL de cada diluição para placas de ágar Dicloran Rosa de Bengala (DRBC), realizou-se o espalhamento do inóculo com alça de Drigalski das placas de maior para as placas de menor diluição. As placas foram incubadas a 25 °C em incubadora BOD (Deluq, DL552, Paraná, Brasil) por 5 dias, sem inverter e no escuro. Após a incubação realizou-se a contagem das colônias da placa selecionada, contando separadamente colônias com aspecto

filamentoso, cotonoso características de bolores, anotando o resultado demonstrado na Figura 10. E assim na mesma placa contando as demais colônias que podem ser bactérias e leveduras, selecionou-se 5 colônias destas e avaliou-se através da coloração com cristal violeta a morfologia das células se a cultura era bactéria ou levedura. Determinou-se o número de colônias de levedura na placa em função da porcentagem confirmada. O cálculo para UFC/g (Unidade formadoras de colônia) de bolores (colônias típicas) e leveduras (colônias confirmadas) realizou-se multiplicando o número de colônias por dez e pelo inverso da diluição. Para o número total de bolores e leveduras somaram-se as colônias de leveduras e bolores e procedeu-se como anteriormente descrito.

Figura 10 - Esquema da análise microbiológica bolores e leveduras.

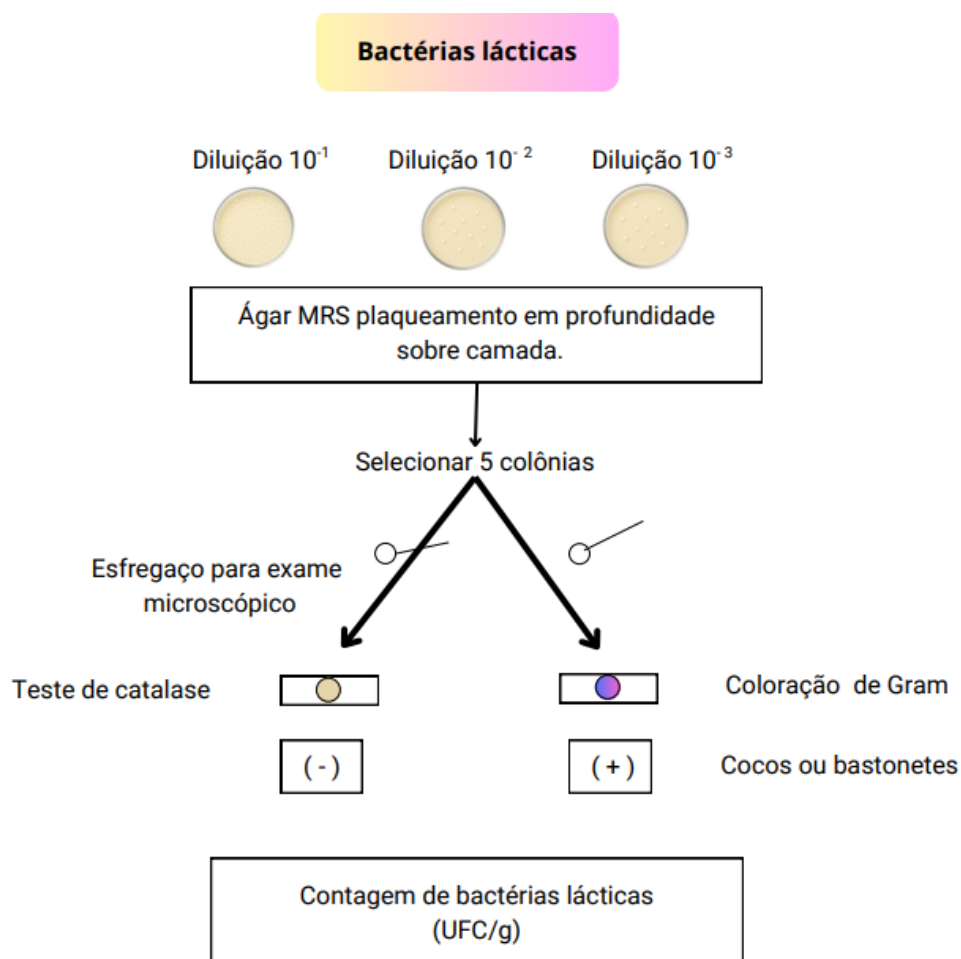


Fonte: A autora, 2025.

A contagem de bactérias lácticas utilizou a mesma diluição seriada. A avaliação de bactéria lácticas utilizou o plaqueamento por profundidade onde se

transferiu 1 mL de cada diluição na placa vazia e em seguida adicionou-se o meio de cultura ágar Man Rogosa e Sharpe (MRS), após a solidificação do ágar adicionou-se uma pequena quantidade do meio para a sobrecamada cobrindo totalmente a superfície do meio. Seguiu-se para incubação em incubadora BOD (Deluq, DL552, Paraná, Brasil) com as placas invertidas a $32 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. A contagem das colônias da placa selecionada e submeteu-se 5 colônias ao teste de coloração de Gram e teste de catalase (solução de peróxido de hidrogênio a 3% e adicionado à cultura). Colônias de cocos e bastonetes Gram positivos e catalase negativa são considerados bactérias lácticas, demonstrado na Figura 11. O número de UFC/g foi calculado em função do número de colônias confirmadas e diluição inoculada.

Figura 11- Esquema da análise microbiológica Bactérias lácticas.



Fonte: A autora, 2025.

2.2.3.19 Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata, exceto as bactérias realizadas em duplicata, e os resultados foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão (DP). Os dados foram analisados por Análise de variância (ANOVA). Os efeitos foram comparados usando um teste de Fisher LSD e considerados estatisticamente significativos em $p < 0,05$. Cálculos foram realizados com o software Statistica versão 10.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Composição Química das Folhas de *E. grandiflorus*

As folhas maduras do *E. grandiflorus* após o processo de secagem e moagem, foram caracterizadas quanto a sua composição centesimal, pH e vitamina C (Tabela 4). Os resultados demonstram que as folhas são compostas principalmente de fibra alimentar, seguidas de carboidratos totais, proteínas, cinzas, lipídios. Apresentou níveis baixos de ácido ascórbico ($4,47 \pm 0,58$ mg Aa/100mL) e cafeína ($1,44 \pm 0,09$ mg/g) e para pH registrou valor de $5,99 \pm 0,08$.

Tabela 4 - Composição centesimal e teores de ácido ascórbico e cafeína das folhas maduras desidratadas de *E. grandiflorus* em base seca (g/100g).

Parâmetros	g/100g
Umidade	$7,36 \pm 0,11$
Cinzas	$11,60 \pm 0,19$
Proteína	$20,63 \pm 1,15$
Lipídeos	$4,59 \pm 0,10$
Fibra alimentar	$29,81 \pm 0,38$
Carboidratos Totais	26,00

Nota: fator de correção de nitrogênio total em proteína 6,25. Fonte: A autora, 2025.

Segundo o estado atual do conhecimento, não há estudos publicados sobre a composição centesimal do *E. grandiflorus*. Contudo, sua composição centesimal se aproxima das quantidades de proteína, lipídios e cinzas das folhas de dente-de-leão

15,53 $\pm$ 0,01; 3,66 $\pm$ 0,01; 15,53 $\pm$ 0,01 g/100 g respectivamente (Colussi *et al.* 2021). No estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2021), com as folhas de Ora-pro-nobis obtiveram valores de 22,41 $\pm$ 0,23; 3,27 $\pm$ 0,05 e 16,34 $\pm$ 0,03 g/100g de proteína, lipídios e cinzas, respectivamente, próximos ao estudo realizado. Quando se comparam as concentrações de proteínas e fibras com a aveia, pode-se inferir que os valores são relevantes, demonstrando uma possível aplicabilidade das folhas na formulação de produtos como biscoitos e pães. Fujita e Figueroa (2003) relatam valores de proteínas e fibra alimentar da aveia em flocos 14,88 e 16,93 g/100 g, farinha de aveia 12,32 e 11,20 g/100 g, cevada 9,29 e 16,69 g/100 g, respectivamente. Porém, essa possível aplicação necessita de estudos futuros.

A vitamina C é um importante antioxidante presente em frutas e vegetais como ervas medicinais (Pogacnik; Ulrih, 2011). Diante disso, buscou-se quantificar seu conteúdo em folhas maduras de *E. grandiflorus*, que apresentou o teor de 4,47 $\pm$ 0,58 mg Aa/100 mL. Esse valor supera o de folhas de amoreira 0,30 mg/100 mL, mas é inferior ao de urtiga e ao espinafre 9,9 e 9,4 mg/100 mL, respectivamente (Shonte; Duodu; Kock, 2020). A baixa concentração demonstra que o *E. grandiflorus* não dispõe de valores significativos de ácido ascórbico.

A cafeína contribui no organismo reduzindo a sensação de fadiga e aumentando o estado de alerta, também acelera levemente o metabolismo estimulando o gasto de energia (Sereshti; Samadi, 2014). Os teores de cafeína encontrados no *E. grandiflorus* foram de 1,44 $\pm$ 0,09 mg/g, níveis baixos comparados aos encontrados por Polidoro *et al.* (2023) em erva-mate de diferentes regiões com teores de 7,90 a 16,05 mg/g de cafeína.

Os resultados obtidos na determinação dos minerais (sódio, potássio e cálcio) das folhas de *E. grandiflorus* são apresentados na Tabela 5. Neste estudo, destacam-se os valores de potássio (K) 80,7 g/kg, 35,5 g/kg cálcio (Ca) e 13,9 g/kg sódio (Na). A literatura traz estudos como os realizados por Kinupp e Barros (2008), 25 g /kg de K, 21 g /kg de Ca e 14 g /kg de Na, onde o sódio teve valor similar ao estudo aqui realizado. Em Silva, Francisconi e Gonçalves (2016), que avaliaram as folhas de *E. macrophyllus*, obteve valores de 49 g/kg de K, 14 g/kg de Ca, 51 g/kg de Na, é entendível que ocorrem diferenças nos valores de minerais da mesma espécie, mas de locais diferentes. Em Franco *et al.* (2011), a composição mineral das folhas de *E. grandiflorus* de diferentes regiões, foi avaliada e observaram-se

variações na composição de K de 3,6 g/kg e 37,6 g/kg, indicando assim, a influência do solo na composição mineral reforçada pela sua natureza filtradora.

Tabela 5 - Composição mineral das folhas desidratadas de *E. grandiflorus*.

Minerais	g/kg
Potássio (K)	80,7 ± 3,2
Cálcio (Ca)	35,5 ± 1,0
Sódio (Na)	13,9 ± 0,6

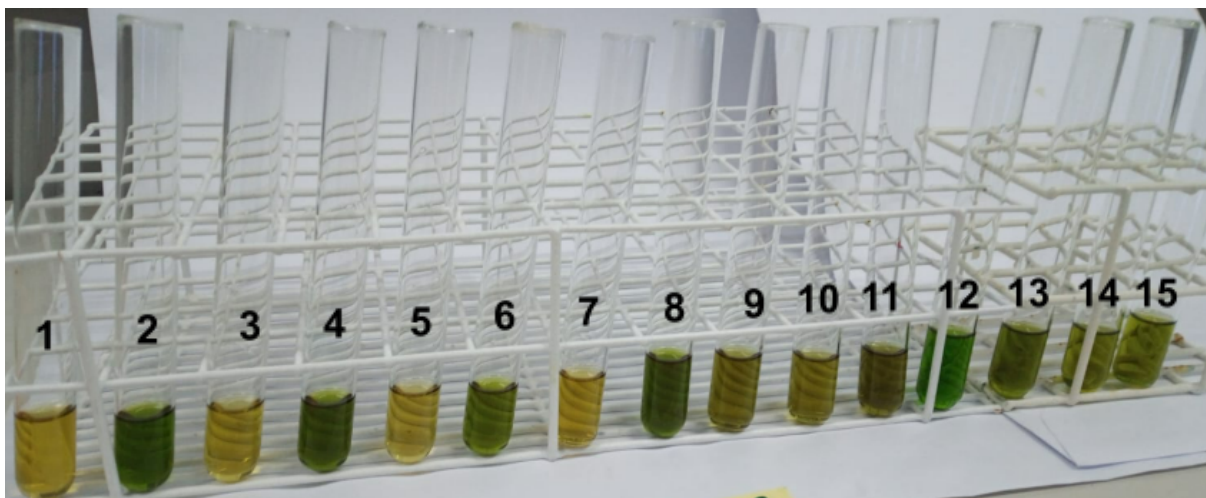
Fonte: A autora, 2025.

As plantas precisam de minerais para crescer, realizar suas funções metabólicas e completar seu ciclo de vida. Entretanto, fatores ambientais, como salinidade, seca, variações extremas de temperatura e luminosidade, propriedades do solo, podem modificar a composição mineral das plantas (Perovic *et al.* 2021, Sultanbawa; Sultanbawa, 2023). Plantas filtradoras, como *E. grandiflorus*, têm a capacidade de acumular minerais presentes no solo, assim, poderiam se explicar as características minerais da planta conforme os minerais disponibilizados no solo de cada região.

2.3.2 Otimização da Extração de Compostos Fenólicos

A Figura 12 apresenta a imagem dos 15 extratos preparados a partir das folhas desidratadas de *E. grandiflorus*.

Figura 12 - Extratos de *E. grandiflorus*, conforme planejamento experimental.



Nota: da esquerda para direita encontra-se: Ensaio 1 (EtOH 40%, 40 °C e 60 Mesh), Ensaio 2 (EtOH 80%, 40 °C e 60 Mesh); Ensaio 3 EtOH 40%, 80 °C e 60 Mesh); Ensaio 4 (EtOH 80%, 80 °C e 60 Mesh); Ensaio 5 (EtOH 40%, 60 °C e 40 Mesh); Ensaio 6 (EtOH 80%, 60 °C e 40 Mesh); Ensaio 7 (EtOH 40%, 60 °C e 80 Mesh); Ensaio 8 (EtOH 80%, 60 °C e 80 Mesh); Ensaio 9 (EtOH 60%, 40 °C e 40 Mesh) Ensaio 10 (EtOH 60%, 80 °C e 40 Mesh); Ensaio 11 (EtOH 60%, 40 °C e 80 Mesh); Ensaio 12 (EtOH 60%, 80 °C e 80 Mesh); Ensaio 13 (EtOH 60%, 60 °C e 60 Mesh); Ensaio 14 (EtOH 60%, 60 °C e 60 Mesh); Ensaio 15 (EtOH 60%, 60 °C e 60 Mesh). Fonte: A autora, 2024.

Os resultados de compostos fenólicos e atividade antioxidante (Tabela 6) variaram entre os tratamentos: TPC (17,59–26,17 mg GAE/g), TF (12,83–25,86 mg CTE/g), DPPH (34,17–72,60 $\mu\text{mol TE/g}$), FRAP (64,15–126,70 $\mu\text{mol TE/g}$) e ABTS (78,14–140,93 $\mu\text{mol TE/g}$).

Estes dados juntamente com gráfico de superfície de resposta (Figura 13) demonstram o efeito positivo da menor granulometria (80 Mesh) juntamente com etanol 60% que obtiveram melhor efeito na extração TPC. Estes dados são consistentes com estudos nos quais solventes orgânicos combinados com água apresentaram maior eficiência na extração (Casagrande *et al.* 2018).

Tabela 6 - Resultados da extração de compostos bioativos das folhas maduras de *E. grandiflorus* a partir do planejamento Box Behnken. (continuação)

Ensaio	TPC (mg GAE/g)	TF (mg CTE/g)	DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$)
1	17,08 ^j $\pm$ 0,34	15,00 ^h $\pm$ 0,71	34,17 ^g $\pm$ 0,51	71,76 ⁱ $\pm$ 0,22	78,14 ^e $\pm$ 0,56
2	20,91 ^h $\pm$ 0,16	20,09 ^e $\pm$ 0,10	46,78 ^f $\pm$ 1,05	71,30 ⁱ $\pm$ 0,26	88,54 ^{bcde} $\pm$ 8,83
3	21,03 ^{gh} $\pm$ 0,28	15,71 ^h $\pm$ 0,36	51,64 ^e $\pm$ 0,66	71,30 ⁱ $\pm$ 0,26	109,93 ^{abcde} $\pm$ 8,18
4	22,80 ^f $\pm$ 0,12	21,97 ^c $\pm$ 0,15	51,12 ^{ef} $\pm$ 2,83	83,77 ^h $\pm$ 0,26	106,40 ^{abcde} $\pm$ 7,28
5	17,59 ^j $\pm$ 0,17	12,85 ⁱ $\pm$ 0,45	35,08 ^g $\pm$ 1,39	72,68 ⁱ $\pm$ 0,13	85,99 ^{de} $\pm$ 6,40
6	18,92 ⁱ $\pm$ 0,06	12,83 ⁱ $\pm$ 0,68	35,95 ^d $\pm$ 2,18	64,15 ^j $\pm$ 0,26	102,08 ^{abcde} $\pm$ 1,92
7	23,64 ^{ef} $\pm$ 0,28	22,89 ^b $\pm$ 0,61	60,65 ^d $\pm$ 1,21	117,34 ^b $\pm$ 0,13	132,69 ^{abc} $\pm$ 16
8	25,07 ^d $\pm$ 0,92	21,02 ^d $\pm$ 0,42	61,04 ^{cd} $\pm$ 5,4	94,78 ^f $\pm$ 0,26	112,28 ^{abcde} $\pm$ 4,44
9	20,60 ^h $\pm$ 0,34	18,24 ^g $\pm$ 0,20	46,29 ^f $\pm$ 0,73	88,27 ^g $\pm$ 0,22	134,65 ^a $\pm$ 8,67
10	21,50 ^g $\pm$ 0,81	19,04 ^{fg} $\pm$ 0,29	57,35 ^d $\pm$ 1,66	98,91 ^e $\pm$ 0,13	137,79 ^a $\pm$ 19,71
11	26,15 ^{bc} $\pm$ 0,14	19,80 ^{ef} $\pm$ 0,56	72,60 ^a $\pm$ 1,87	126,70 ^a $\pm$ 0,13	87,56 ^{de} $\pm$ 12,91
12	26,17 ^a $\pm$ 0,14	25,86 ^a $\pm$ 0,30	67,73 ^h $\pm$ 2,75	125,32 ^a $\pm$ 0,13	119,74 ^{abc} $\pm$ 3,47
13	24,28 ^{cd} $\pm$ 0,85	21,57 ^{cd} $\pm$ 0,67	66,24 ^b $\pm$ 2,8	111,10 ^d $\pm$ 0,22	92,27 ^{cde} $\pm$ 4
14	23,84 ^e $\pm$ 0,44	21,04 ^d $\pm$ 0,42	66,24 ^b $\pm$ 2,8	96,89 ^{ef} $\pm$ 0,34	140,93 ^a $\pm$ 16,63

(conclusão)

Ensaio	TPC (mg GAE/g)	TF (mg CTE/g)	DPPH (μ mol TE/g)	FRAP (μ mol TE/g)	ABTS (μ mol TE/g)
15	25,28 ^{cd} $\pm$ 0,48	22,22 ^{cd} $\pm$ 0,23	56,87 ^d $\pm$ 1,12	113,49 ^c $\pm$ 0,13	133,08 ^{ab} $\pm$ 66,62

Nota: compostos fenólicos totais (TPC), flavonoides totais (TF) e atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS). Et: concentração de etanol em %, T: temperatura, G: granulometria Mesh. Ensaio 1 (EtOH 40%, 40 °C e 60 Mesh), Ensaio 2 (EtOH 80%, 40 °C e 60 Mesh); Ensaio 3 EtOH 40%, 80 °C e 60 Mesh); Ensaio 4 (EtOH 80%, 80 °C e 60 Mesh); Ensaio 5 (EtOH 40%, 60 °C e 40 Mesh); Ensaio 6 (EtOH 80%, 60 °C e 40 Mesh); Ensaio 7 (EtOH 40%, 60 °C e 80 Mesh); Ensaio 8 (EtOH 80%, 60 °C e 80 Mesh); Ensaio 9 (EtOH 60%, 40 °C e 40 Mesh) Ensaio 10 (EtOH 60%, 80 °C e 40 Mesh); Ensaio 11 (EtOH 60%, 40 °C e 80 Mesh); Ensaio 12 (EtOH 60%, 80 °C e 80 Mesh); Ensaio 13 (EtOH 60%, 60 °C e 60 Mesh); Ensaio 14 (EtOH 60%, 60 °C e 60 Mesh); Ensaio 15 (EtOH 60%, 60 °C e 60 Mesh). Resultados expressos com a média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras com $p < 0,05$. Fonte: A autora, 2025.

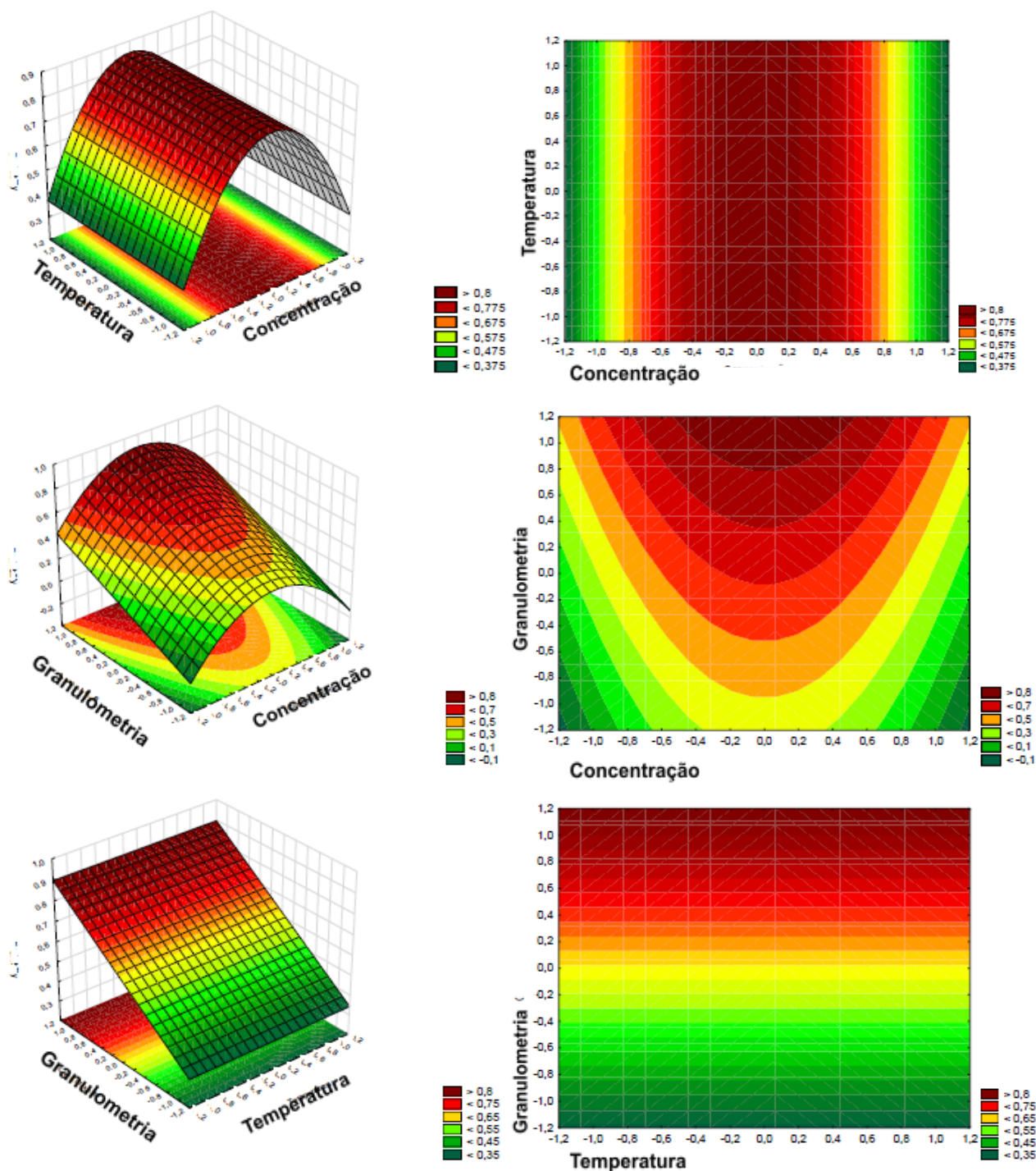
A combinação de água com solventes orgânicos potencializa a extração de polifenóis, ao gerar um meio moderadamente polar (Mokrani; Madani, 2016; Tobón, 2020). Gullón *et al.* (2017), evidenciaram que o processo de extração é potencializado quando a granulometria da amostra é menor, visto que ocorre o aumento da solubilidade dos compostos, aumenta a superfície de contato entre amostra solvente, amplia a ação da gravitação e por consequência a ruptura tecidos vegetais são aumentados.

Franco *et al.* (2018) avaliaram a capacidade antioxidante de *E. grandiflorus* utilizando a extração por maceração em etanol 98%, tendo FRAP de 90,3 μ mol/g e 35,3 μ g/g de DPPH, valores próximos aos encontrados neste trabalho. Estudo realizado por Rocha *et al.* (2023), avaliando a atividade antioxidante (DPPH) dos extratos de *E. grandiflorus* utilizando a extração por ultrassom e com etanol 50%, obtiveram a melhor atividade antioxidante.

Observa-se que as folhas de *E. grandiflorus* apresentam teores de flavonoides, também citados por Strada *et al.* (2017) e Garcia *et al.* (2015), com melhor rendimento no experimento 12, que alcançou 25,86 mg CTE/g. Os flavonoides possuem propriedades terapêuticas como: ação antioxidantes, anti-inflamatórias, antimutagênicas, antialérgicas, antivirais e anticarcinogênicas, o

que desperta considerável interesse para desenvolvimento de alimentos promotores da saúde e medicamentos (Roy *et al.*, 2022; Rocha *et al.*, 2023; Tungmunthum *et al.*, 2018). Os resultados aqui obtidos são similares aos de Pham *et al.* (2020), que em seu estudo otimizou a extração de flavonoides das folhas de *Celastrus hindsii* utilizando ultrassom obtendo valores de $23,60 \pm 0,31$ mg QE/g. Do *et al.* (2014) avaliou o efeito do solvente na extração de TF na planta *Limnophila aromatica* que como *E. grandiflorus* se desenvolve em áreas úmidas, valores de TF foram entre 17,19 - 19,47 e 31,11 mg CTE/g para solvente etanol 50, 75 e 100% respectivamente, valores similares aos aqui encontrados. É possível correlacionar que os flavonoides são o grupo de compostos fenólicos predominante nas folhas de *E. grandiflorus*, evidenciando-as como uma fonte promissora desses compostos. Além disso, o protocolo de extração adotado demonstrou ser rápido e economicamente viável.

Figura 13 - Superfície de resposta mostrando os efeitos das variáveis independentes sobre as variáveis dependentes.



Os modelos de regressão múltipla para os teores de compostos fenólicos totais e para a atividade antioxidante determinada pelo método FRAP foram significativos ($p \leq 0,05$), não apresentaram falta de ajuste ($p > 0,57$) e explicaram uma parcela substancial da variabilidade das variáveis resposta (R^2 ajustado $> 0,56$). Os modelos ajustados a partir das variáveis codificadas foram os seguintes: compostos fenólicos totais (mg/g) = $25,05 - 4,18*(\text{concentração de etanol})^2 - 2,80*(\text{granulometria})$ [$R^2 = 0,62$; R^2 ajustado = $0,56$; p (falta de ajuste) = $0,96$]; FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$) = $108,67 - 24,72*(\text{concentração de etanol})^2 + 17,52*(\text{granulometria})$ [$R^2 = 0,82$; R^2 ajustado = $0,79$; p (falta de ajuste) = $0,57$]. Os valores dos modelos preditivos criados estão dispostos na Tabela 7. As concentrações preditivas utilizadas foram de compostos fenólicos totais e FRAP que apresentaram predição satisfatória. Os dados experimentais demonstram uma boa confiabilidade do modelo experimental que se ajustou ao modelo preditivo proposto.

Tabela 7 - Valores preditos e experimentais das variáveis obtidas no ponto ótimo.

Determinação	Valores preditos	-95% de confiança	+95% de confiança	Valores experimentais
TPC (mg AG/g)	27,86	24,98	30,73	$27,18 \pm 0,8$
FRAP ($\mu\text{mol TE/g}$)	126,18	115,75	136,62	$126,55 \pm 1,25$

Nota: TFC: compostos fenólicos totais; AG: ácido gálico; FRAP: método de redução do ferro; TE: equivalente de Trolox. Fonte: A autora, 2025.

Segundo os dados calculados estatisticamente, o melhor experimento foi o experimento 12 que utilizou, etanol 60% (v/v), temperatura de 80°C e granulometria de 80 Mesh. Este experimento pode ser considerado o mais eficiente para a extração de compostos bioativos das folhas de *E. grandiflorus* visto que os valores experimentais foram próximos aos preditivos. O perfil de desejabilidade apresenta a relação teórica mais eficiente em função das respostas estudadas experimentalmente, indicando a condição mais rentável.

2.3.3 Composição Bioativa de Folhas de *Echinodorus grandiflorus* em Diferentes Estádios de Maturação

Utilizando o experimento 12 que obteve os melhores resultados, avaliou-se a influência da idade das folhas na concentração de compostos bioativos, resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados da extração de compostos bioativos das folhas novas, maduras e velhas de *E. grandiflorus*.

Folhas	TPC (mg GAE/ g)	TF (mg CTE/g)	DPPH (μ mol TE/g)	FRAP (μ mol TE/g)	ABTS (μ mol TE/g)	TAN (mg CTE/ g)	CAR (mg/g)	CHO (mg/g)
Nov	31,61 ^a $\pm$ 1,25	25,30 ^a $\pm$ 2,04	35,22 ^c $\pm$ 1,04	162,10 ^{ab} $\pm$ 9,44	213,67 ^a $\pm$ 0,67	0,93 ^a $\pm$ 0,04	0,46 ^c $\pm$ 0,01	2154,70 ^b $\pm$ 18,84
Mad	26,17 ^b $\pm$ 0,14	25,86 ^a $\pm$ 0,30	67,73 ^a $\pm$ 2,75	125,32 ^b $\pm$ 0,13	119,74 ^c $\pm$ 3,47	0,94 ^a $\pm$ 0,04	0,64 ^a $\pm$ 0,06	2732,28 ^a $\pm$ 25,12
Vel	26,80 ^b $\pm$ 2,18	25,53 ^a $\pm$ 1,81	47,95 ^b $\pm$ 0,51	245,50 ^a $\pm$ 4,30	167,66 ^b $\pm$ 17,98	0,91 ^a $\pm$ 0,08	0,60 ^b $\pm$ 0,03	2602,36 ^b $\pm$ 56,21

Nota: Folhas novas (nov.), maduras (Mad), velhas (Vel) compostos fenólicos totais (TPC), flavonoides totais (TF), atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS), taninos (TAN), carotenoides (CAR), clorofila total (CHO). Resultados expressos com a média $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras com $p < 0,05$. Fonte: A autora, 2025.

Os conteúdos de TPC nas folhas em diferentes estádios de maturação variaram entre 26,17 e 31,6 mg GAE/g e para TF de 25,30 e 25,86 mg CTE/g. Os maiores conteúdos TPC foram registrados nas folhas novas, que pode ser devido a

maior atividade enzimática e expressão genética relacionados a síntese de compostos fenólicos em folhas novas (Duan; Kwon; Eom, 2021).

Alguns estudos também demonstraram que folhas novas apresentam maior concentração de compostos bioativos, como o estudo de M'rabet *et al.* (2017) que avaliou *Melia azedarach* Linn em estádios diferentes de maturação e observou maior rendimento de TPC nas folhas novas. Estudo de Idris *et al.* (2023) verificaram que a maior concentração de TPC, em *Syzygium samarangense* ocorreu nas folhas novas, seguidas das maduras e velhas, com um valor de 66,56 mg GAE/g e 50,37 mg GAE/g e 43,16 mg GAE/g respectivamente, as folhas novas apresentaram maior atividade antioxidante. Colaborando com os resultados aqui encontrados. Comparando os dados obtidos para TF observamos que não se diferenciaram estatisticamente. A atividade antioxidante foi positivamente relacionada com os TPC e TF. Os resultados obtidos para TAN não apresentaram diferença estatística e são considerados baixos do ponto de vista sensorial, o que pode ser favorável, uma vez que esses compostos estão associados ao amargor e a coloração acastanhada (Fraga-Corral *et al.*, 2021). Para a aplicação do extrato no desenvolvimento de produtos alimentícios, é desejável que o amargor não interfira negativamente no sabor, embora as propriedades antioxidantes dos taninos sejam altamente relevantes.

O conteúdo total de carotenoides dos extratos das folhas de *E. grandiflorus* em diferentes estádios de maturação ficou na faixa de 0,46 a 0,64 mg/g. O teor mais alto foi encontrado nas folhas maduras, 0,64 mg/g, seguindo das folhas velhas com 0,60 mg/g e folhas novas com 0,46 mg/g. Os resultados concordam com estudo realizado por Qadir *et al.* (2022) com folhas de *Moringa oleifera* L. em diferentes estádios de maturação que encontraram maiores teores de 105-112 mg/100g carotenoides em folhas maduras. Nzekoue *et al.* (2022) avaliaram as folhas de *Vitis vinifera* L. e encontraram altas concentrações de carotenoides durante a fase de maturação com queda após esse período, este resultado colaborou com os resultados encontrados no presente estudo. O consumo de carotenoides está associado à redução do risco de diversas doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, distúrbios neurológicos, diabetes tipo 2 e vários tipos de câncer. Além disso, apresentam ação anti-inflamatória e contribuem para o controle dos níveis de colesterol. Os carotenoides α - e β -caroteno são amplamente reconhecidos

como precursores da vitamina A, que atua na visão, manutenção dos tecidos epiteliais (Crupi *et al.*, 2023; Craft *et al.*, 2004). Estudos demonstram que os carotenoides exercem efeito positivo na manutenção da integridade mitocondrial no cérebro, na prevenção de danos à retina e estão associados a um melhor desempenho da memória durante o envelhecimento (Perrig, Perrig, Stahelin, 1997; Polidori, Stahl, Griffiths, 2021). Esses dados estimulam o desenvolvimento de produtos ricos em carotenoides visando a manutenção da saúde. Poucos estudos foram realizados sobre os conteúdos de carotenoides e clorofila para *E. grandiflorus* e diante da importância desse composto na promoção da saúde humana, suas folhas podem ser uma importante fonte de carotenoides com possíveis aplicações na área alimentícia e farmacêutica.

O conteúdo total de clorofila das folhas de *E. grandiflorus* em diferentes estádios de desenvolvimento variou entre 2154,70, 2732,28 e 2602,36 mg/g para folhas novas, maduras e velhas respectivamente, demonstrando um aumento gradativo da clorofila durante seu desenvolvimento. Estudos realizados com folhas de café e de *Passiflorus edulis* Sims em diferentes estádios de desenvolvimento também observaram o aumento gradativo da clorofila, concordando com o presente estudo (Maxiselly *et al.*, 2020; Fernandes *et al.*, 2020). Estudos demonstram que a ação do stress na planta, como alto ou baixo teor de água e nutrientes, e exposição solar pode alterar significativamente os teores de clorofila, bem como de carotenoides (Shah; Houborg, 2017; Li *et al.*, 2024).

2.3.4 Cor do Extrato

Com objetivo de utilizar os extratos (folhas novas, maduras e velhas) em alimentos, realizou-se a avaliação da cor, considerando que a cor do extrato fenólico representa um parâmetro significativo a ser considerado, pois sua adição pode ocasionar alterações na coloração dos produtos. As coordenadas cromáticas dos extratos das folhas novas, maduras e velhas de *E. grandiflorus* são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9 - Avaliação da cor dos extratos obtidos a partir das folhas novas, maduras e velhas de *E. grandiflorus*.

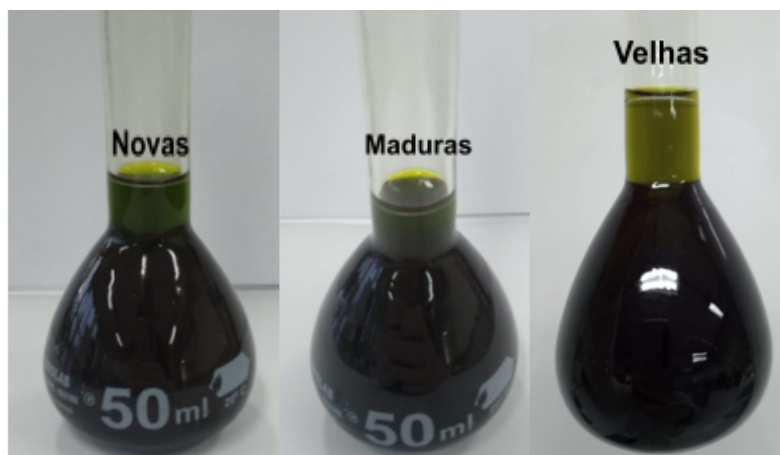
Coordenadas cromáticas	Folhas novas	Folhas maduras	Folhas velhas
L*	12,71 ^a ± 1,58	14,10 ^a ± 1,48	14,47 ^a ± 2,57
a*	-18,83 ^a ± 0,37	-14,72 ^b ± 1,37	-15,15 ^b ± 1,32
b*	8,71 ^a ± 3,99	10,34 ^a ± 3,42	10,21 ^a ± 5,69
C*	21,08 ^a ± 1,48	18,34 ^a ± 0,83	19,08 ^a ± 2,02
h*	155,88 ^a ± 10,03	145,42 ^a ± 11,29	147,81 ^a ± 16,77
			

Onde: luminosidade (L*), coordenada vermelho/verde (a*), coordenada amarelo/azul (b*), Chroma (C*) e ângulo hue (h*). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras com $p < 0,05$. Fonte: A autora, 2025.

Os resultados demonstram que os extratos das folhas novas, maduras e velhas de *E. grandiflorus* revelaram a predominância da coloração verde, confirmada pelos valores negativos de a*. Houve alteração significativa ($p < 0,05$), nos valores de a* no extrato e folhas novas, indicando prevalência do verde neste extrato.

Os extratos das folhas novas, maduras e velhas são apresentados na Figura 14 respectivamente, da esquerda para a direita.

Figura 14 - Extratos de *E. grandiflorus*, folhas novas, maduras e velhas.



Fonte: A autora, 2025.

2.3.5 Compostos Fenólicos Individuais

Analizando a amostra do ponto otimizado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, foi encontrada a isoorientina. Outras pesquisas já identificaram a presença desse composto (Garcia *et al.*, 2015; Prando *et al.*, 2016; Garcia *et al.*, 2010; Prando *et al.*, 2016). Os extratos apresentaram a seguinte concentração de isoorientina: folhas novas $4,57 \pm 0,003$ mg/g, folhas maduras $5,60 \pm 0,01$ mg/g, folhas velhas $4,05 \pm 0,01$ mg/g. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Strada *et al.* (2017) que avaliaram o conteúdo de isoorientina de *E. grandiflorus* em diferentes regiões do Mato Grosso do Sul, encontrando teores entre 2,12 e 21,54 $\mu\text{g}/\text{mg}$, menores que os aqui relatados, e demonstrando a influência da região na composição. Alves *et al.* (2020), avaliou os flavonoides presentes nas folhas de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* e encontrou $5,21 \pm 0,03$ mg/g de isoorientina valores semelhantes ao presente estudo. Assim, os resultados deste estudo corroboram evidências anteriores e indicam que a isoorientina constitui um dos principais flavonoides presentes nas folhas de *E. grandiflorus*.

2.3.6 Atividade Antimicrobiana

Para avaliar atividade antimicrobiana foi utilizado extrato etanólico com folhas maduras nas condições otimizadas (etanol 60% (v/v), temperatura de 80 °C e granulometria de 80 Mesh), tendo uma concentração inicial de 10 mg/mL (base na amostra/folha desidratada). No teste de CIM efetuado em microplacas de 96 poços, verificou-se que não houve inibição do crescimento das bactérias testadas, pois,

observou-se turbidez do meio e formação de pontos vermelhos ao teste reagente 2,3,5-trifeniltetrazólio, que atua como revelador do crescimento bacteriano, indicando que houve crescimento nos poços que coram de vermelho. Esse comportamento sugere que a natureza predominantemente hidrofílica do extrato limita sua interação com componentes estruturais de caráter mais apolar das células bacterianas, comprometendo, portanto, sua capacidade de promover inibição do crescimento microbiano. Bonetti *et al.* (2020) avaliou a ação antimicrobiana de extratos de *E. grandiflorus* sobre bactérias Gram-positivas, Gram-negativa e leveduras onde não houve inibição do crescimento.

Para o ensaio *in vitro* dos extratos de *E. grandiflorus* para atividade antifúngica no *Colletotrichum abscissum*, os resultados são apresentados na Tabela 10. A atividade antifúngica *in vitro* utilizou os três extratos (Folhas novas, maduras e velhas) com concentração inicial de 20 mg/mL (base na amostra/folha desidratada). O meio foi preparado com extrato nas concentrações de 10, 5, 2,5 e 1% (v/v) em meio BDA (Ágar Batata dextrose), sendo estimadas a partir do diâmetro médio da colônia (cm) em 10 dias de incubação. Os resultados mostram que todos os extratos avaliados reduziram entre 17,08 e 48,74% o crescimento do fungo.

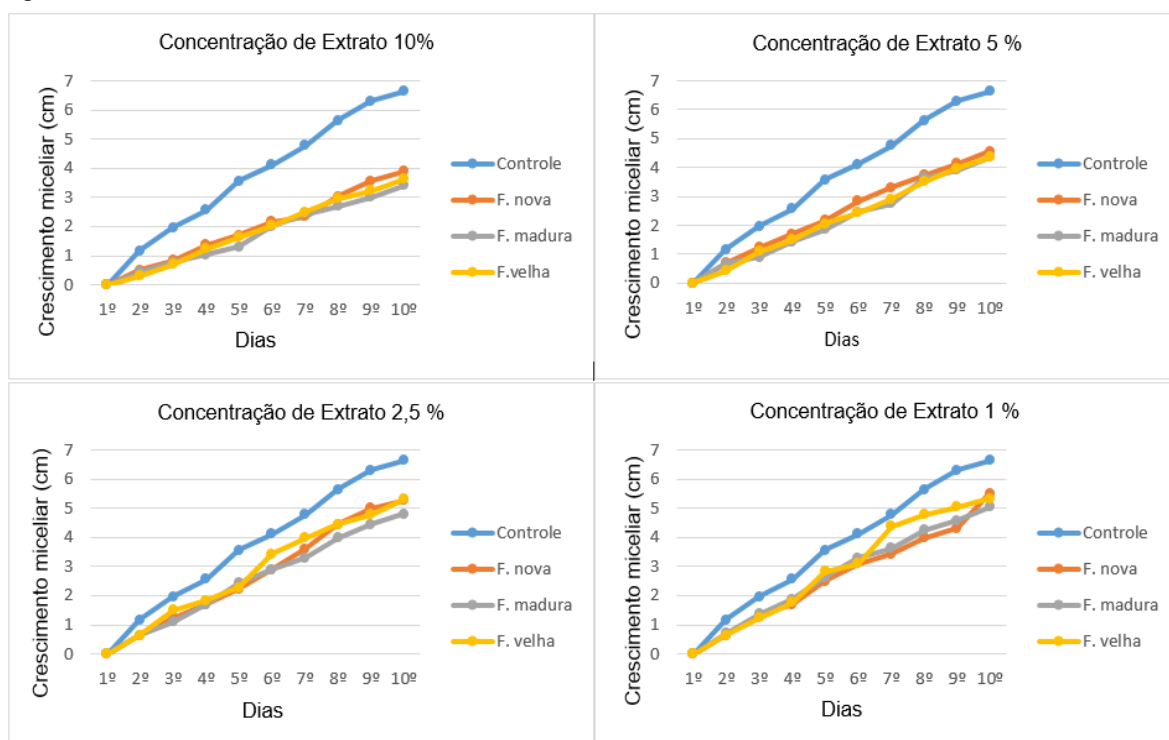
Tabela 10 - Efeito dos extratos de *E. grandiflorus* no crescimento micelial *C. abscissum*.

Concentração (%)	Extrato	Crescimento micelial (cm)	Inibição em %
-	Controle	6,63 ± 0,38	-
	Folhas Novas	3,9 ^a ± 0,43	41,21
	Folhas maduras	3,4 ^a ± 0,14	48,74
	Folhas velhas	3,63 ^a ± 0,34	45,23
5	Controle	6,63 ± 0,38	-
	Folhas Novas	4,57 ^a ± 0,26	31,16
	Folhas maduras	4,37 ^a ± 0,34	34,17
	Folhas velhas	4,37 ^a ± 0,25	34,17
2,5	Controle	6,63 ± 0,38	-
	Folhas Novas	5,27 ^a ± 0,19	20,6
	Folhas maduras	4,8 ^a ± 0,08	27,64
	Folhas velhas	5,3 ^a ± 0,33	20,1
1	Controle	6,63 ± 0,38	-
	Folhas Novas	5,5 ^a ± 0,08	17,08
	Folhas maduras	5,03 ^a ± 0,47	24,12
	Folhas velhas	5,33 ^a ± 0,29	19,59

Nota: Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as amostras com $p < 0,05$. Fonte: A autora, 2025.

O extrato das folhas em diferentes estádios de maturação não apresentaram diferença significativa, tendo como resultados de inibição o extrato de folhas maduras entre 24,12 a 48,74%, seguido das folhas velhas com 19,59 a 45,53% e folhas novas com 17,08 a 41,21%. Os resultados também demonstram uma tendência dependente da concentração do extrato na atividade antifúngica, pois os meios com 10% de extrato foram os que obtiveram a melhor eficiência antifúngica (Figura 15).

Figura 15 - Crescimento micelar de *C. abscissum* durante 10 dias.



Fonte: A autora, 2025.

Conforme o conhecimento atual, são escassos os estudos publicados sobre a atividade antifúngica do *E. grandiflorus*. Estudos semelhantes com extratos etanólicos de folhas de *Piper auritum* e *P. guajava* demonstraram inibição entre 40,5% e 59% em espécies de *Colletotrichum*, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo (Silva; Yerena; Necha, 2021). O potencial antifúngico do extrato das *Gymnema inodorum* foi capaz de inibir o crescimento de micélios de *Colletotrichum gloeosporioides* em 20 a 43% próximos do *E. grandiflorus* (Suwan, Baison, Chuajedton, 2022).

Sabe-se que os metabólitos secundários de plantas possuem atividades antifúngicas e que extratos ricos em flavonoides podem apresentar inibição significativa para fungos (Silva; Yerena; Necha, 2021; Mohamed; Youssef; El-Shanhir, 2022). Assim, atividade antifúngica do *E. grandiflorus* pode estar relacionada ao seu conteúdo fenólico, em especial aos flavonoides. Estudo realizado por Zhong *et al.* (2022), com extrato de brotos de trigo-sarraceno da Tartária, mostrou que a isoorientina teve atividade inibitória moderada contra *Fusarium oxysporum* e *F. cucumerinum*, com a taxa inibitória de 47,2% e uma concentração inibitória efetiva em 146,12 µg/mL. Assim como Perović *et al.* (2023) verificaram a atividade antifúngica do extrato de folhas de *Celtis australis* contra fungos

patogênicos (*Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Fusarium verticillioides*). A inibição do crescimento fúngico foi associada à alta concentração de compostos fenólicos, destacando-se a isoorientina como principal constituinte (1117,54–2026,90 mg/g). Estes dados contribuem para elucidar, ainda que parcialmente, a ação antifúngica observada nos extratos de *E. grandiflorus* que possuem o flavonoide isoorientina em sua composição.

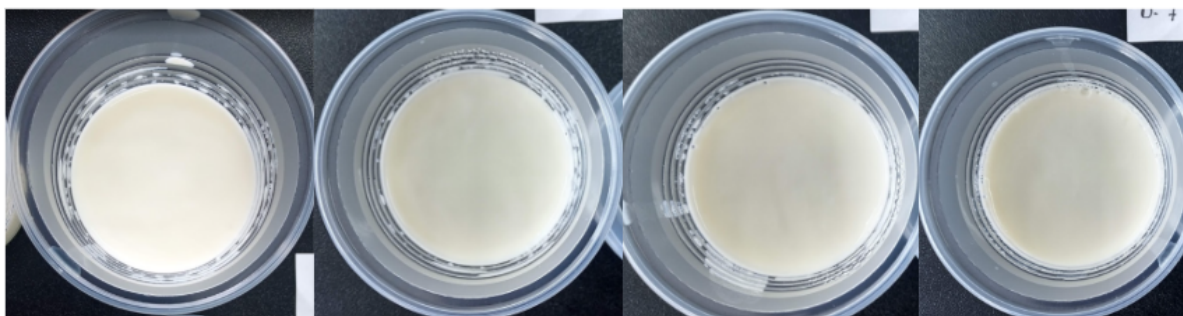
2.3.7 Atividade Antiglicêmica e Inibição da Lipase Pancreática

Os resultados da atividade antiglicêmica e inibição da lipase pancreática foram realizados avaliando a atividade inibitória da α -glicosidase e atividade da lipase, utilizando o extrato liofilizado das folhas maduras em uma concentração inicial de 5 mg/mL diluído em DMSO. O extrato apresentou o percentual de inibição enzimática de 45% e 36% para α -glicosidase e lipase, respectivamente, sendo um resultado positivo para o extrato fenólico. Contudo, esse resultado difere do encontrado por Franco *et al.* (2018), que avaliou a capacidade de inibição enzimática utilizando extrato de *E. grandiflorus* e observou porcentagem de inibição para α -glicosidase $29,8 \pm 3,9\%$ e $75,8 \pm 17,0\%$ para lipase utilizando como solvente etanol 98%. Li *et al.* (2009) relataram atividades inibitórias significativas da isoorientina, orientina e isovitexina contra a alfa-glicosidase, com inibição de 47,7%, 38,22% e 30,20%, respectivamente em extratos de folhas de *Crataegus oxyacantha*. Esses achados apoiam os dados obtidos para *E. grandiflorus*, onde foi identificada a isoorientina, além de relatos prévios da presença de orientina e isovitexina em sua composição (Garcia *et al.*, 2015; Rocha *et al.*, 2023; Prando *et al.*, 2016). Espinoza, (2013) explicam que a isoorientina estimula a captação de glicose pelos adipócitos tanto sensíveis quanto resistentes à insulina. Em estudo, Ziqubu *et al.* (2020) observaram o efeito antiobesidade da isoorientina ao bloquear o armazenamento de lipídios e aumentar a liberação de glicerol. Portanto, pode ser considerado que o conteúdo de compostos bioativos responsáveis pela inibição das enzimas é afetado por diversos fatores como clima, exposição ao sol, composição do solo, exercendo um efeito significativo nos resultados encontrados.

2.3.8 Desenvolvimento do iogurte

Para o desenvolvimento do iogurte optou-se pelo extrato obtido das folhas maduras devido ao volume possibilitado na coleta. Verificando que as características bioativas entre os diferentes estádios de desenvolvimento se mantiveram próximas e na atividade antifúngica as folhas maduras apresentaram maior eficiência, o que é de interesse, visto que iogurte também pode ser contaminado com sofre contaminação por bolores, justificando assim sua utilização no desenvolvimento do iogurte. A Figura 16, demonstra as formulações realizadas sendo iogurte controle, iogurte com 0,5, 1 e 2 % (v/v).

Figura 16 - Iogurtes formulados com adição do extrato de *E. grandiflorus*.



Nota: da esquerda para direita iogurte controle, iogurte com 0,5; 1 e 2 % de extrato respectivamente.
Fonte: A autora.

2.3.9 Monitorização da Fermentação (pH)

A evolução da fermentação através da acidificação do iogurte com adição do extrato (controle - CY, 0,5%-0,5Y, 1%-1Y e 2%-2Y) foi realizada por verificação do pH a cada 30 min até atingir pH de $4,6 \pm 0,2$, o resultado é apresentado na Figura 15 e Tabela 11. O pH inicial (tempo 0) dos iogurtes não foi alterado pela adição dos extratos que variou de 6,5 a 6,56. Foi possível observar que a adição dos extratos nos iogurtes não ocasionou alterações no declínio do pH, tendo um tempo de fermentação semelhante entre as amostras com adição de extrato e o controle. O tempo total de acidificação foi de 210 min. para os iogurtes 0,5Y, 1Y, 2Y e 230 min para CY.

Resultados similares a este foram encontrados nos iogurtes formulados com extrato das Folhas de oliveira (*Olea euroaea* L., variedade *Oblica*) onde a adição do extrato não interferiu inicialmente na formulação, mas reduziu o tempo de

fermentação dos iogurtes com 1,5%, 3,0% e 5,0% de extrato (Barukcic *et al.*, 2022). Em seguida, as amostras foram armazenadas durante 28 dias e o efeito dos extratos na acidificação foi avaliado (Tabela 11).

A partir do 7º dia houve alteração significativa para pH ($p < 0,05$) quando comparado o controle (YC) com os iogurtes adicionados de extrato. Ao avaliar a acidez observa-se alteração significativa ($p < 0,05$) a partir do dia 7.

Tabela 11 - Efeito do armazenamento nos parâmetros de acidez e pH

Parâmetros	Dias	CY	0,5 Y	1Y	2Y
pH	0	4,68 ^a ± 0,06	4,63 ^a ± 0,05	4,64 ^a ± 0,03	4,67 ^a ± 0,01
	7	4,24 ^a ±0,12	4,11 ^b ±0,03	4,16 ^b ±0,13	4,05 ^c ±0,07
	14	4,03 ^a ±0,02	4,01 ^b ±0,01	4,00 ^b ±0,01	3,98 ^c ±0,01
	21	4,02 ^a ±0,01	3,98 ^b ±0,01	3,97 ^b ±0,01	3,96 ^b ±0,01
	28	4,00 ^a ±0,01	3,90 ^b ±0,01	3,84 ^c ±0,01	3,85 ^c ±0,01
Acidez (em % ácido láctico)	0	0,63 ^a ±0,05	0,64 ^a ±0,02	0,61 ^a ±0,01	0,62 ^a ±0,03
	7	0,90 ^b ±0,01	0,90 ^b ±0,01	0,93 ^a ±0,01	0,95 ^a ±0,01
	14	0,90 ^b ±0,01	0,93 ^{ab} ±0,01	0,93 ^{ab} ±0,01	0,95 ^a ±0,01
	21	0,89 ^b ±0,31	0,90 ^b ±0,01	0,94 ^{ab} ±0,01	0,97 ^a ±0,04
	28	0,88 ^c ±0,01	0,92 ^b ±0,03	0,95 ^{ab} ±0,01	0,99 ^a ±0,04

Nota: As médias em uma linha na mesma análise com diferentes letras diferenciam-se significativamente ($p < 0,05$). CY- iogurte controle, 0,5Y- iogurte com 0,5% de extrato, 1Y- iogurte com 1% de extrato, 2Y- iogurte com 2% de extrato. Fonte: A autora, 2025.

A partir do 7º dia houve alteração significativa para pH ($p < 0,05$) quando comparado o controle (YC) com os iogurtes adicionados de extrato. Ao avaliar a

acidez observa-se alteração significativa ($p < 0,05$) a partir do dia 7. No entanto, maior produção de ácido láctico foi observada no Y2 do que no iogurte natural durante os períodos de armazenamento. Shori (2020) e Zhang *et al.* (2019) observaram em seus estudos características similares. Os resultados sugerem que os extratos agiram de forma positiva aumentando a viabilidade da cultura do iogurte que gerou uma maior produção de ácido láctico (Shori, 2020; Zhang, *et al.*, 2019; Joung *et al.*, 2016). Porém, são necessários mais estudos para avaliar esta possibilidade.

2.3.10 Composição Centesimal das Formulações de iogurte

Os resultados da Tabela 12, demonstram a composição nutricional dos iogurtes. O teor de umidade e proteína não apresentou diferença significativa ($p > 0,05$). Esses resultados revelam um aumento significativo ($p < 0,05$) no teor de cinzas e lipídios a partir da adição de 1% de extrato (1Y), quando comparados ao controle.

Esses resultados sugerem que a adição do extrato contribuiu de forma sutil para o aumento dos teores de lipídeos e minerais presentes em *E. grandiflorus*.

Tabela 12 - Composição centesimal dos iogurtes: controle, 0,5% extrato, 1% extrato e 2% extrato (g/100g), realizada no 7º dia.

Iogurtes	Umidade	Cinzas	Proteína	Lipídeos
Controle	87,44 ^a ± 0,05	0,8 ^c ± 0,002	3,82 ^a ± 0,16	3,49 ^b ± 0,08
0,5Y	87,24 ^a ± 0,10	0,80 ^c ± 0,002	3,93 ^a ± 0,05	3,52 ^b ± 0,03
1Y	87,24 ^a ± 0,02	0,81 ^b ± 0,004	4,01 ^a ± 0,39	3,94 ^a ± 0,12
2Y	87,20 ^a ± 0,06	0,85 ^a ± 0,004	4,09 ^a ± 0,31	3,99 ^a ± 0,09

As médias em uma coluna na mesma análise com diferentes letras diferenciam-se significativamente ($p < 0,05$). CY- iogurte controle, 0,5Y- iogurte com 0,5% de extrato, 1Y- iogurte com 1% de extrato, 2Y- iogurte com 2% de extrato. Fonte: A autora, 2025.

O aumento discreto dos valores de lipídios pode ser atribuída a homogenização no processo de formulação do iogurte, visto que o extrato não atribuiria essa característica por sua natureza hidrofílica. Houve um aumento no teor de cinzas e tendência semelhante foi observado por Pontes *et al.* (2024), no teor de cinzas de iogurtes formulados com extrato das folhas de *Malvaviscus arboreus* por

Celik *et al.* (2023), que adicionaram chá-preto e verde na formulação de iogurtes, observou-se um acréscimo no teor de cinzas.

2.3.11 Avaliação das Bactérias Lácticas e Bolores e Leveduras nos Iogurtes

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas dos iogurtes com extrato a 0,5%, 1% e 2%, além do controle, são apresentados na Tabela 13. Eles indicam que, inicialmente (no dia 0, para o tratamento 2Y, e no dia 7, para as três formulações com extrato), houve pequena diferença na contagem de bactérias lácticas, mas que não interferiu nas características químicas do iogurte como relatado anteriormente. No entanto, essa diferença foi superada ao longo do armazenamento. Observa-se que, apesar da redução inicial da viabilidade, o pH diminuiu e a acidez titulável aumentou, o que é esperado durante a produção de iogurte. É possível verificar que, no dia 28, o desenvolvimento das bactérias estava bastante semelhante entre as amostras. Esse resultado está em concordância com os obtidos na avaliação antibacteriana, na qual não foi observada inibição do crescimento de bactérias. Resultados similares foram encontrados em iogurtes com adição de chá-preto e chá-verde. Independentemente da variedade e da concentração utilizadas, não houve diferença significativa no número de bactérias lácticas viáveis (Celik *et al.*, 2023).

Quanto aos bolores e leveduras (Tabela 13) foi observado desenvolvimento de bolores no controle (CY) nos dias 14, 21 e 28, com contagens de 6×10^3 , 9×10^2 e $5,4 \times 10^3$ UFC/mL, respectivamente. No entanto, isso não foi observado nos iogurtes com adição de extrato, sugerindo que a presença do extrato de *E. grandiflorus*, independentemente da concentração, exerceu uma ação inibitória parcial. Esse dado corrobora os resultados obtidos neste estudo quanto à atividade antifúngica (Tabela 10). Os achados do presente trabalho são provavelmente atribuíveis aos compostos bioativos presentes no extrato de *E. grandiflorus*, como a isoorientina que teve ação antifúngica em estudos anteriores (Zhong *et al.*, 2022; Perović *et al.*, 2023). Georgakouli *et al.* (2016), observaram que iogurtes enriquecidos com polifenóis de azeitona inibiram o desenvolvimento de bolores e leveduras, atribuindo essa atividade à ação dos compostos bioativos presentes na azeitona. A legislação brasileira através da Instrução Normativa 161/2022 prevê os parâmetros microbiológicos para bolores e leveduras de 10^3 UFC/mL em iogurtes.

Em resumo, o extrato de *E. grandiflorus* mostrou-se promissor para uso em iogurtes, ajudando a controlar fungos sem prejudicar as bactérias lácticas ao longo do tempo.

Tabela 13 - Contagem de bactérias lácteas e bolores e leveduras no decorrer dos 28 dias de armazenamento.

Bactérias lácteas (UFC/g - log)					
Dias					
Amostra	0	7	14	21	28
CY	$6,3 \times 10^5 - 5,8$	$1,0 \times 10^6 - 6$	$1,1 \times 10^7 - 7$	$1,8 \times 10^7 - 7,2$	$1,8 \times 10^7 - 7,2$
0,5Y	$6,3 \times 10^5 - 5,8$	$6,5 \times 10^5 - 5,8$	$1,0 \times 10^7 - 7$	$1,2 \times 10^7 - 7,1$	$1,5 \times 10^7 - 7,2$
1Y	$6,3 \times 10^5 - 5,8$	$7,1 \times 10^5 - 5,9$	$1,3 \times 10^7 - 7,1$	$1,6 \times 10^7 - 7,2$	$1,6 \times 10^7 - 7,2$
2Y	$4,4 \times 10^5 - 5,6$	$7,1 \times 10^5 - 5,9$	$1,3 \times 10^7 - 7$	$1,8 \times 10^7 - 7,2$	$1,8 \times 10^7 - 7,2$
Bolores e Leveduras (UFC/g)					
CY	-	-	6×10^3 (est.)	9×10^2 (est.)	$5,4 \times 10^3$ (est.)
0,5Y	-	-	-	-	-
1Y	-	-	-	-	-
2Y	-	-	-	-	-

Bactéria lácticas apresenta o resultado das UFC seguida do log. Onde CY- iogurte controle, 0,5Y- iogurte com 0,5% de extrato, 1Y- iogurte com 1% de extrato, 2Y- iogurte com 2% de extrato, UFC-unidade formadoras de colônia, (est.) - estimado.

2.3.12 Avaliação dos Compostos Bioativos nos iogurtes

Os resultados para compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante (DPPH e ABTS) são apresentados na Tabela 14. A adição dos extratos aumentou significativamente ($p < 0,05$) TPC nas amostras 0,5Y, 1Y e 2Y, comparadas ao controle. Além disso, mostrou-se dependente da concentração do extrato: o 2Y obteve melhores resultados para TPC. O mesmo padrão foi observado durante o armazenamento; houve um acréscimo significativo de TPC ($p < 0,05$) no decorrer dos dias para todas as amostras. Contudo, o controle (CY) estabilizou no dia 21; em contrapartida, houve um aumento nos iogurtes com a adição de extrato. Assim, sugere-se que os iogurtes com extrato mantêm os níveis de TPC estáveis durante

28 dias. Os valores de TPC no controle podem ser atribuídos à presença de compostos fenólicos no leite, derivados da alimentação (ração e forragem) (Zheng *et al.*, 2024). Também ocorre a contribuição das bactérias lácticas que realizam a proteólise das proteínas do leite gerando diversos peptídeos que possuem atividade antioxidante (Shori, 2022).

É possível observar que a adição dos extratos não resultou no aumento expressivo dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante esperado, considerando o teor presente nesses extratos. Esse comportamento pode ser atribuído às interações entre os compostos fenólicos e as proteínas do leite, como caseínas e proteínas do soro. Han *et al.* (2019) verificaram que a mistura da caseína com extratos de chá-verde, uva e cranberry aumentou seu tamanho devido à interação química entre a caseína e os compostos fenólicos. De forma semelhante, Ścibisz, Ziarno, Mitek (2019), relataram que, no desenvolvimento de iogurte com frutas, a diminuição da concentração dos compostos fenólicos ocorreu devido à interação com as proteínas do leite formando complexos solúveis e insolúveis.

Sabe-se que as folhas de *E. grandiflorus* são reconhecidas por sua riqueza em compostos bioativos, incluindo isoorientina, swertiajaponina, isovitexina, ácido ferúlico e ácido cítrico (Rocha *et al.*, 2023; Garcia *et al.*, 2015; Prando *et al.*, 2016; Strada *et al.*, 2017). Esses resultados sugerem que o *E. grandiflorus* representa uma fonte promissora para o desenvolvimento de produtos lácteos e bebidas com propriedades bioativas.

Tabela 14 - Avaliação dos compostos bioativos dos iogurtes controle e com adição de extrato durante 28 dias de armazenamento

Ensaio	Amostra	Dias				
		0	7	14	21	28
TPC (mg GAE/g)	CY	4,09 ^{dC} ± 0,04	4,26 ^{cCB} ± 0,01	4,45 ^{cB} ± 0,06	5,08 ^{cA} ± 0,01	5,03 ^{cA} ± 0,22
	0,5Y	4,18 ^{cE} ± 0,01	4,58 ^{bD} ± 0,03	4,87 ^{bC} ± 0,12	5,04 ^{cB} ± 0,03	5,31 ^{bA} ± 0,01
	1Y	4,28 ^{bE} ± 0,01	4,89 ^{aD} ± 0,03	5,14 ^{aC} ± 0,09	5,32 ^{bB} ± 0,01	5,42 ^{bA} ± 0,01
	2Y	4,49 ^{aE} ± 0,03	4,95 ^{aD} ± 0,06	5,21 ^{aC} ± 0,06	5,53 ^{aB} ± 0,07	6,20 ^{aA} ± 0,02
DPPH (μmol TE/g)	CY	2,37 ^{aB} ± 0,02	2,05 ^{cD} ± 0,01	2,15 ^{cCD} ± 0,03	2,60 ^{dA} ± 0,06	2,32 ^{cB} ± 0,01
	0,5Y	2,25 ^{aB} ± 0,07	2,17 ^{bC} ± 0,01	2,58 ^{bA} ± 0,03	2,67 ^{cA} ± 0,04	2,57 ^{bA} ± 0,01
	1Y	2,26 ^{aC} ± 0,07	2,20 ^{bC} ± 0,01	2,62 ^{bB} ± 0,11	2,79 ^{bA} ± 0,02	2,60 ^{bB} ± 0,01
	2Y	2,31 ^{aC} ± 0,05	2,38 ^{aC} ± 0,08	2,75 ^{aB} ± 0,04	2,95 ^{aA} ± 0,01	2,92 ^{aA} ± 0,08
ABTS (μmol TE/g)	CY	52,25 ^{aE} ± 0,79	54,97 ^{bD} ± 0,48	57,62 ^{aC} ± 0,69	61,16 ^{aB} ± 2,13	64,97 ^{aA} ± 7,4
	0,5Y	55,51 ^{aB} ± 0,42	56,74 ^{cB} ± 0,48	60,95 ^{aB} ± 2,89	64,76 ^{cA} ± 0,42	65,71 ^{aA} ± 1,2
	1Y	57,42 ^{aBC} ± 5,54	57,15 ^{cBC} ± 0,1	63,40 ^{aB} ± 0,17	68,64 ^{cbA} ± ±2,07	67,41 ^{aA} ± 1,17
	2Y	57,42 ^{aC} ± 4,88	59,87 ^{aB} ± 0,54	66,87 ^{aB} ± ±1,26	69,66 ^{bA} ± 1,27	69,39 ^{aA} ± 0,67

Nota: as médias em uma mesma coluna na mesma análise com diferentes letras minúsculas diferenciam significativamente ($p < 0,05$) e médias em uma mesma linha na mesma análise com diferentes letras maiúsculas diferenciam significativamente ($p < 0,05$). CY- iogurte controle, 0,5Y- iogurte com 0,5% de extrato, 1Y- iogurte com 1% de extrato, 2Y- iogurte com 2% de extrato. Compostos fenólicos totais (TPC), flavonoides totais (TF) e atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS). Fonte: A autora, 2025.

2.4 CONCLUSÃO

Com a otimização da extração dos compostos bioativos foi possível determinar que as variáveis granulometria (80 Mesh) juntamente com etanol 60% obtiveram melhor efeito na extração TPC. Verificou que o desenvolvimento foliar (folhas novas, maduras e velhas) exerce influência na concentração de compostos fenólicos totais e por consequência em sua atividade antioxidante. Na avaliação de sua atividade biológica conclui-se que o extrato de *E. grandiflorus* não apresentou ação efetiva sobre as bactérias testadas, com tudo teve efeito positivo sobre fungo filamentosos inibindo até 48,74% seu desenvolvimento. Apresentou atividade antioxidante, antiglicêmica e capacidade de inibição da lipase, que estão relacionadas a seu conteúdo de compostos fenólicos, em destaque a isoorientina. Esse flavonoide esteve presente em diferentes estádios de desenvolvimento foliar e tem sido amplamente estudado devido às suas atividades biológicas (antioxidante, anti-inflamatória, antifúngica, antidiabética, antiobesidade e de prevenção da progressão do câncer), características de grande interesse para o desenvolvimento de alimentos funcionais. O iogurte elaborado com extrato das folhas maduras demonstrou-se resistente ao desenvolvimento de bolores, um achado promissor no desenvolvimento de produtos lácteos. Mas, além das possibilidades que apresentou o extrato de *E. grandiflorus*, sua composição centesimal reforça seu potencial como ingrediente alimentar, destacando-se por seu conteúdo de fibra alimentar, proteínas e minerais como cálcio e potássio, características que justificam estudos complementares para melhor exploração de sua aplicabilidade. Diante desses resultados pode-se considerar o *E. grandiflorus* como uma matéria-prima promissora no desenvolvimento de alimentos promotores da saúde.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAMID, M., *et al.* Development of a Multifunction Set Yogurt Using *Rubus suavissimus* S. Lee (Chinese Sweet Tea) Extract. **Foods**. v. 9, ed.9, p. 1163, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods9091163>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/9/1163>. Acesso em: 10 abr. 2025.
- ALBERTI, A. **Compostos fenólicos da maçã: extração, perfil e classes fenólicas, atividade antioxidante, processamento e avaliação termoanalítica**. 2014. Tese (Engenharia de Alimentos) - Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2014: Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/xmlui/bitstream/handle/1884/37175/R%20-%20T%20-%20OALINE%20ALBERTI.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Acessado em 18 set. 2025.
- ALARA, O. R., ABDURAHMAN, N. H., UKAEGBU, C. I. Extraction of phenolic compounds: A review. **Current Research in Food Science**. v. 4, p. 200-214, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2665927121000241?via%3Dihub#sec3>. Acesso em: 12 jan. 2024.
- ALVES, J.S.F., *et al.* Involvement of Isoorientin in the Antidepressant Bioactivity of a Flavonoid-Rich Extract from *Passiflora edulis* f. *Flavicarpa* Leaves. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v. 30, p. 240–250, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s43450-020-00003-x>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s43450-020-00003-x>. Acessado em 08 ago. 2025.
- ALI, A., *et al.*, LC-MS/MS-QTOF Screening and Identification of Phenolic Compounds from Australian Grown Herbs and Their Antioxidant Potential **Antioxidants**. v. 10, p.1770, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10111770>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/11/1770>. Acesso em: 06 dez. 2023.
- ALKHATIB, D. H., *et al.* The Role of Bioactive Compounds from Dietary Spices in the Management of Metabolic Syndrome: An Overview. **Nutrients**. v. 15, p. 17, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14010175>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/1/175>. Acesso em: 22 jan. 2024.
- ALVAREZ-MARTÍNEZ, F.J., *et al.* Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. **Phytomedicine**. v. 90, p. 153626, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153626>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690?via%3Dihub>. Acesso em: 18 jan. 2024.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC):. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. 17th ed., AOAC International, Arlington, 2000.
- ARORA, M., KIRAN, B., SHWETA, R., RANI, A., KAUR, B., MITTAL, N. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. **Food**

Chemistry. v. 11, ed. 4, p. 811-815, 2008. DOI:

<https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.foodchem.2008.04.049>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814608005013>. Acesso em: 01 out.2023.

AWAD, A. M., *et al.* Green Extraction of Bioactive Compounds from Plant Biomass and Their Application in Meat as Natural Antioxidant. **Antioxidants**. v. 10, p. 1465, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10091465>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/9/1465>. Acesso em: 05 dez. 2023.

BALAN, G. C., *et al.*, Geane Cristiane Balan Production of Wheat Flour/PBAT Active Films Incorporated with Oregano Oil Microparticles and Its Application in Fresh Pastry Conservation. **Springer**. v. 14, p. 1587-1599, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02659-2>. Disponível em: <https://link-springer-com.ez130.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s11947-021-02659-2#Sec24>. Acesso em: 05 dez. 2023.

BARONCELLI, R., *et al.* Genome evolution and transcriptome plasticity is associated with adaptation to monocot and dicot plants in Colletotrichum fungi. **Gigascience**. p. 2-13, 2024. DOI: 10.1093/gigascience/giae036. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38940768/>. Acesso em: 07 jan. 2025.

BARUKCIC, I. *et al.* The Potential of Olive Leaf Extract as a Functional Ingredient in Yoghurt Production: The Effects on Fermentation, Rheology, Sensory, and Antioxidant Properties of Cow Milk Yoghurt. **Foods**. v. 11, p.701, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11050701>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/5/701>. Acesso em: 07 mai. 2025.

BENZIE, I., Strain, J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**. v. 239, ed. 1, p. 70-76. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003269796902924?via%3Dihub>. Acesso em: 10 out. 2023.

BEYA, M. M. *et al.* Plant-Based Phenolic Molecules as Natural Preservatives in Comminuted Meats: A Review. **Antioxidants** v. 10, p. 263, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10020263>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/2/263>. Acesso em: 18 jan. 2024.

BHARGAVA, N. *et al.* Advances in application of ultrasound in food processing: A review. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 70, p. 1350-4177, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105293>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417720310944>. Acesso em: 19 ago. 2025.

BONETTI, C.I. *et al.* Perfil fitoquímico e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto das folhas de *Echinodorus grandiflorus*. **Journal of Agricultural Studies**. v. 8, n. 4, p. 176-192, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5296/jas.v8i4.17339>. Disponível em: <https://www.macrothink.org/journal/index.php/jas/article/view/17339>. Acesso em: 19 fev. 2025.

BORAH, A. K., *et al.* Adipose and non-adipose perspectives of plant derived natural compounds for mitigation of obesity. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 280, p. 114410, 2021. DOI:

<https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jep.2021.114410>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0378874121006395#abs0010>. Acesso em: 22 jan. 2024.

BOROSKI, M., VISENTAINER, J. V., COTTICA, S. M., MORAIS, D. R.

Antioxidantes: Princípios e Métodos Analíticos. 1ª ed. Curitiba: Appris, 2015, 141 p.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. **Technometrics**, v. 2, n. 4, p. 455–475, 1960. DOI:

<https://doi.org/10.2307/1266454>. Disponível em:

<https://www.jstor.org/stable/1266454?seq=1>. Acesso em: 26 jul. 2024.

BRAND-WILIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**. v. 28, ed.1, p.25-30. 1995. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5). Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>. Acesso em: 10 out. 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa 46/2007 de 23 de outubro de 2007. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados. Disponível em:

<https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=imprimirAto&tipo=INM&numeroAto=00000046&seqAto=000&valorAno=2007&orgao=MAPA&codTipo=&desItem=&desItemFim>. Acessado em 10 abr. 2025.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n.º**

360, de 23 de dezembro de 2003. ANVISA. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 26 dez. 2003.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.**

Instrução Normativa n.º 161, de 1º de julho de 2022. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 jul. 2022. Seção 1, p. 235.

BROADHURST, R. B.; JONES, W. T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 29, n. 9, p. 788–794, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125400>. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.2740290908>. Acesso em: 30 nov. 2025.

CABRAL, L. C., PINTO, V. F., PATRIARCA, A. Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods.

International Journal of Food Microbiology. v. 166, p. 1-14, 2013. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.026>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160513002730>. Acesso em: 07 jan. 2025.

CAMPANA, R.V., *et al.* Anti-TNF- α Atividade das Plantas Medicinais Brasileirase compostos de Ouratea semi-serrat. **Phytoterapia Research**. v. 29, p.1509–1515, 2015. DOI: 10.1002/ptr.5401. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez130.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1002/ptr.5401>. Acessado 20 jan. 2024.

CAO, J., *et al.* Hydrophobic interaction driving the binding of soybean protein isolate and chlorophyll: Improvements to the thermal stability of chlorophyll. **Food Hydrocolloids**. v. 113, p. 106465, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106465>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X20328393>. Acesso em: 13 mar. 2025.

CAROCHO, M., FERREIRA, I. C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**. v. 51, p. 15-25, 2013. DOI: <https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.fct.2012.09.021>. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0278691512006941#s0075>. Acessado em 08 jan. 2024.

CARVALHO, E. S., *et al.* Endothelium-Dependent Effects of *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schtdl.) Micheli Mediated by M3-Muscarinic and B2-Bradykininergic Receptors on Peripheral Vascular Resistance and Its Modulatory Effects on K⁺ Channels in Mesenteric Vascular Beds. Evidence-Based. **Complementary and Alternative Medicine**. v. 2019, p. 4109810. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/4109810>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2019/4109810/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

CASAGRANDE, M. **Otimização de extração de compostos bioativos de *Baccharis dracunculifolia* visando aplicação em processo produtivo industrial**. 2019. Tese (Doutorado em Química) - Departamento de Química, Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, PR, 2019. Disponível em: https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/5243/1/TESE_MAIRA_CASAGRANDE_2019.pdf. Acessado em 30 jan. 2024.

CASAGRANDE, M., *et al.* Influence of time, temperature and solvent on the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: In vitro antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Industrial Crops and Products**. v.125, p. 207-219, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.088>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669018307878?via%3Dihub>. Acessado em 10 jul.2024.

CELIK, O, F, *et al.* Improving the antioxidant activity of yogurt through black and green tea supplementation. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 58, ed. 11, p. 6121-6130, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.1111/ijfs.16722>. Disponível em:
<https://academic.oup.com/ijfst/article/58/11/6121/7806605>. Acesso em: 15 jul. 2025.

CHATURVEDI, S., *et al.* Metabolic engineering in food crops to enhance ascorbic acid production: crop biofortification perspectives for human health. **Physiology and Molecular Biology of Plants**. v. 28, p. 871–884, 2022.

DOI: <https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s12298-022-01172-w>.

Disponível em:

<https://link-springer-com.ez130.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s12298-022-01172-w>. Acesso em: 24 jul. 2025.

CHEMAT, A. *et al.* Shade of Innovative Food Processing Techniques: Potential Inducing Factors of Lipid Oxidation. **Molecules**. v. 28, p. 8138, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.3390%2Fmolecules28248138>. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10745320/>. Acessado em 08 jan. 2024.

CIKOS, A. M. Overview on the Application of Modern Methods for the Extraction of Bioactive Compounds from. **Marine Macroalgae**. v.16, p.348, 2018. DOI:

<https://doi.org/10.3390/md16100348>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1660-3397/16/10/348>. Acesso em: 20 fev.2024.

CLSI, 2015. **Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. Tenth Edition. Approved Standard, Document M07-A10, Pennsylvani app.1987-1898.

COLUSSI, J., *et al.* Desenvolvimento e avaliação da composição da farinha de dente-de-leão (*Taraxacum officinale*). **Revista Eletrônica Científica da UERGS**. v. 8, p. 43-53, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21674/2448-0479.81.43-53>. Disponível

em: <https://revista.uergs.edu.br/index.php/revuergs/article/view/3200>. Acesso em: 08 jan. 2025.

CRAFT, N.E., *et al.* Carotenoid, tocopherol, and retinol concentrations in elderly human brain. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**©. v. 2004, 2004. Disponível em:

https://www.researchgate.net/profile/Neal-Craft/publication/8576934_Carotenoid_tocopherol_and_retinol_concentrations_in_elderly_human_brain/links/0a85e5321f3cd7833b000000/Carotenoid-tocopherol-and-retinol-concentrations-in-elderly-human-brain.pdf. Acesso em: 18 jun. 2025.

CRUPI, P. *et al.* Overview of the Potential Beneficial Effects of Carotenoids on Consumer Health and Well-Being. **Antioxidants**. v. 12, ed. 5, p. 1069, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.3390/antiox12051069>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2076-3921/12/5/1069>. Acessado em 18 jun.2025.

DAM, R. M. V., HU, F. B., WILLET, W. C. Coffee, Caffeine, and Health. **The new england journal o f medicine**. v. 383, ed. 4, p. 369-378, 2020. DOI:

10.1056/NEJMra1816604. Disponível:

<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1816604>. Acesso em: 17 jun. 2025.

DO, Q. D., *et al.* Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*.

Journal of Food and Drug Analysis. v. 22, ed. 3, p. 296-302, 2014. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1021949813001348?via%3Dihub>.

Acesso em: 17 jun. 2025.

DOROSH, O. *et al.* Increasing the added value of vine-caness as a sustainable source of phenolic compounds: A review. **Science of the Total Environment**. v. 830, p. 154600, 2022. DOI:

<https://doi.org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.scitotenv.2022.154600>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S004896972201693X#bb0610>. Acesso em: 02 jan. 2024.

DUAN, S. C.; KWON, S. J.; FOM, S. H. Effect of Thermal Processing on Color, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Faba Bean (*Vicia faba* L.) Leaves and Seeds. **Antioxidantes**. v. 10, p. 1207, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.3390/antiox10081207>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2076-3921/10/8/1207>. Acesso em: 06 mar. 2025.

DUDA-CHODAK, A. TARKO, T. Possible Side Effects of Polyphenols and Their Interactions with Medicines. **Moléculas**, v.28, n. 6, p. 2536, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.3390/molecules28062536>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/28/6/2536>. Acesso em: 09 jan. 2024.

DUQUE-SOTO, C., *et al.* Bioactive Potential of Aqueous Phenolic Extracts of Spices for Their Use in the Food Industry—A Systematic Review. **Foods**. v.12, p.3031, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.3390/foods12163031>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2304-8158/12/16/3031>. Acessado em 10 jan. 2024.

EBRAHIMI, P., *et al.* Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products: A Critical Review. **Plants**. v. 12, ed. 7, p.1533. DOI:

<https://doi.org/10.3390/plants12071533>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2223-7747/12/7/1533>. Acesso em: 13 mar. 2025.

ELKADER, A. M. A., *et al.* Phytogetic compounds from avocado (*Persea americana* L.) extracts; antioxidant activity, amylase inhibitory activity, therapeutic potential of type 2 diabetes. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 29, v. 3, p. 1428-1433, 2022. DOI:

<https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.sjbs.2021.11.031>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S1319562X21009979?via%3Dihub>. Acesso em: 21 jan. 2024.

ESBERRI, I., *et al.* Variability in the Beneficial Effects of Phenolic Compounds: A Review. **Nutrients**. v. 14, p. 1925, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.3390/nu14091925>.

Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/14/9/1925>. Acessado em 02 jan.

2024.

ESPINOZA, M. G. **Mecanismos Moleculares de la Modulación del Metabolismo y la diferenciación adiposa por isoorientina**. 2013. Tese (Doutorado Ciência e Biologia Molecular) Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C, San Luis Potosí, México, 2013.

FERNANDES, A. M., *et al.* Leaf development stages and ontogenetic changes in passionfruit (*Passiflora edulis* Sims.) are detected by narrowband spectral signal. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**. v. 209, p. 111931, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111931>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101113442030381X#s0065>. Acesso em: 12 mar. 2025.

FRAGA-CORRAL, M., *et al.* Traditional Applications of Tannin Rich Extracts Supported by Scientific Data: Chemical Composition, Bioavailability and Bioaccessibility. **Alimentos**. v. 10, p. 251, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10020251>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/2/251>. Acesso em: 05 mar. 2025.

FRANCO, *et al.* Antioxidant and anti-glycation capacities of some medicinal plants and their potential inhibitory against digestive enzymes related to type 2 diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 215, p. 140-146, 2018. DOI: <https://doi.org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jep.2017.12.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0378874117329902>. Acesso em: 21 jan. 2024.

FRANCO, M. J.; *et al.* Determinação de metais em plantas medicinais comercializa-das na região de Umuarama-PR. **Arquivos de Ciência da Saúde UNIPAR**. v. 15, n. 2, p. 121-127, 2011. Disponível em: <https://revistas.unipar.br/index.php/saude/article/view/3706/2406>. Acessado em: 24 fev.2025.

FUJITA, A. H., FIGUEROA, O. R. Nutrient profile and beta-glucans content in cereal seeds and foodstuffs contain them. **Food science technolog**. v.2, p.23, 2003. DOI:<https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000200003>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cta/a/BnN8g7tTvJ89TYwM885DfFC/?lang=pt>. Acesso em: 08 jan.2025.

GARCIA, E. F., *et al.* Phytomedicine Antiedematogenic activity and phytochemical composition of preparations from *Echinodorus grandiflorus* leaves. **Phytomedicine**. v.18, ed. 1, p. 80-86, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2010.05.008>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711310001777?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=859081f8ff32f901. Acesso em: 01 fev. 2024.

GARCIA, E. F., *et al.* In Vitro TNF- α Inhibition Elicited by Extracts from *Echinodorus grandiflorus* Leaves and Correlation with Their Phytochemical. **Planta Med**. v. 82, ed. 4, p.337-343, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-1558290>. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0035-1558290>. Acesso em: 12 dez. 2023.

GASPAROTTO, A. J. *et al.* Formulação farmacêutica oral obtida através da técnica de infusão do extrato de *Echinodorus grandiflorus*. Depositante: UNIPAR-Universidade Paranaense. Depósito: 27.03.2018. Concessão: 15.10.2019. BR102018006169. Disponível em: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR275711965&_cid=P11-MD3GWI-83288-1. Acesso em: 11 set. 2024.

GASPAROTTO, F. M., *et al.* Heart-Protective Effects of *Echinodorus grandiflorus* in Rabbits That Are Fed a High-cholesterol Diet. **Planta Medica**. v. 84, ed. 17, p. 1271-1274, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1055/a-0644-2794>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29929207/>. Acessado em 10 ago. 2024.

GEORGAKOULI, K., *et al.* The Effects of an Olive Fruit Polyphenol-Enriched Yogurt on Body Composition, Blood Redox Status, Physiological and Metabolic Parameters and Yogurt Microflora. **Nutrients**. v.8, ed.6, p.344, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu8060344>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/8/6/344>. Acesso em: 02 jul. 2025.

GOTHAI, S., *et al.* Sivapragasam Gothai. Natural Phyto-Bioactive Compounds for the Treatment of Type 2 Diabetes: Inflammation as a Target. **Nutrientes**. v. 8, n.8, p. 461, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu8080461>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/8/8/461>. Acesso em: 21 jan. 2024.

GOULIN, E. H., *et al.* In vitro symptom induction of *Colletotrichum abscissum* infection in detached sweet orange flowers. **Journal of Plant Pathology**. V 101, p 695-699, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42161-018-00220-3>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42161-018-00220-3>. Acesso em: 07 jan. 2025.

GOULIN, E. H., *et al.* Genome Sequence Resources of *Colletotrichum abscissum*, the Causal Agent of Citrus Post-Bloom Fruit Drop, and the Closely Related Species *C. filicis*. **Phytopathology**. v. 113, p. 104-107, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-22-0176-A>. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-05-22-0176-A>. Acesso em: 07 jan. 2025.

GOUFO, P., TRINDAD, H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. **Food Science & Nutrition**. v. 2 p. 75-104, 2014. DOI: <https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1002/fsn3.86>. Disponível em: <https://onlinelibrary-wiley.ez130.periodicos.capes.gov.br/doi/10.1002/fsn3.86>. Acesso em: 03 jan. 2023.

GOWD, V., JIA, Z., CHEN, W. Anthocyanins as promising molecules and dietary bioactive components against diabetes e A review of recent advances. **Trends in Food Science & Technology**. v. 68, p. 1-13, 2017. DOI: <https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.tifs.2017.07.015>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0924224417303436?via%3Dihub>. Acesso em: 21 jan.2024.

GULÇİN, I. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**. v. 86, p. 345-391, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-011-0774-2>. Acesso em: 08 jan. 2024.

GULLÓN, B., *et al.* Optimization of solvent extraction of antioxidants from Eucalyptus globulus leaves by response surface methodology: Characterization and assessment of their bioactive properties. **Industrial Crops & Products**. v. 108, p. 649-659. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.07.014>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017304752#sec0100>. Acesso em: 30 dez. 2024.

HAM, J., *et al.* Butylated hydroxyanisole induces testicular dysfunction in mouse testis cells by dysregulating calcium homeostasis and stimulating endoplasmic reticulum stress. **Science of the Total Environment**. v. 702, p. 134775, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134775>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719347667>. 10 jan. 2024. Acesso em: 10 jan. 2024.

HAN, J., *et al.* Interactions of phenolic compounds with milk proteins. **European Food Research Technology**. v.245, p.1881–1888, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03293-1>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00217-019-03293-1#citeas>. Acessado em 12 ago.2025.

HAYES, M., FERRUZZI, M. G. Update on the bioavailability and chemopreventative mechanisms of dietary chlorophyll derivatives. **Nutrition Research**. v. 81, p.19-37, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2020.06.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531720304723>. Acesso em: 13 mar. 2025.

HASANUDIN, H., HASHIM, P., MUSTAFA, S. Corn Silk (Stigma Maydis) in Healthcare: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Molecules*. v. 17, p. 9697-9715, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17089697>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/17/8/9697>. Acesso em: 22 jan. 2024.

HE, X., *et al.* Fruit and vegetable polyphenols as natural bioactive inhibitors of pancreatic lipase and cholesterol esterase: Inhibition mechanisms, polyphenol influences, application challenges . **Food Bioscience**. v. 55, p. 103054, 2023. DOI: <https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.fbio.2023.103054>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2212429223007058?via%3Dihub>. Acesso em: 22 jan. 2024. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>. Acesso em: 22 jan. 2024.

HENDRY, G.A.F.; GRIME, J.P. **Methods in comparative plant ecology: a laboratory manual**. 1 ed. London: Chapman & Hall, 252 p. 1993.

HUANG, J. *et al.* Isoorientin Decreases Cell Migration via Decreasing Functional Activity and Molecular Expression of Proton-Linked Monocarboxylate Transporters in Human Lung Cancer Cells. **The American Journal of Chinese Medicine**. v. 48, p. 201-222, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1142/S0192415X20500111>. Disponível em : <https://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0192415X20500111>. Acessado em 25 jul. 2025.

IDRIS, N. S., *et al.* Polyphenolic Compounds and Biological Activities of Leaves and Fruits of *Syzygium samarangense* cv. 'Giant Green' at Three Different Maturities. **Horticulturae**. v. 9, p. 326, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030326>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2311-7524/9/3/326>. Acesso em: 05 mar.2025.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análises de alimentos**. 4ª ed. (1ª Edição digital), 2008. 1020 p.

International Diabetes Federation. **IDF Diabetes Atlas**, 10th edn. Brussels,

IVANISOVÁ, E., *et al.* Polyphenol Content, Mineral Compounds Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Selected Medicinal Herbs from Slovak Republic. **Applied Sciences**. v. 13, p. 1918, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13031918>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/13/3/1918>. Acesso em: 06 dez. 2023.

JOMOVA, *et al.* Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging. **Archives Toxicology**. v. 97, p. 2499–2574, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-023-03562-9>. Acesso em: 17 jul. 2025.

JOUNG, J. Y., *et al.* Enhanced Microbial, Functional and Sensory Properties of Herbal Yogurt Fermented with Korean Traditional Plant Extracts. **Korean Journal Food Science Animal Resources**. v. 36, ed. 1, p. 90-9, 2016. DOI: 10.5851/kosfa.2016.36.1.90. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4973947/>. Acessado em 27 jun. 2025.

JUAN, C. A., *et al.* The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 22, ed. 9, p.464, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22094642>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/9/4642>. Acessado em; 17 jul. 2025.

KANDYLIARI, A., *et al.* Development of Dairy Products Fortified with Plant Extracts: Antioxidant and Phenolic Content Characterization. **Antioxidants**. v. 12, p. 500, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12020500>. Disponível em: [Development of Dairy Products Fortified with Plant Extracts: Antioxidant and Phenolic Content Characterization](https://www.mdpi.com/1422-0067/12/2/500). Acesso em: 10 abr. 2025.

KAUFFMANN, A. C., CASTRO, V. S. Phenolic Compounds in Bacterial Inactivation: A Perspective from Brazil. **Antibiotics**. v. 12, p. 645, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12040645>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/4/645>. Acessado em 31 jan. 2024.

KIM, Y. S., *et al.* Anti-obesity effect of Morus bombycis root extract: Anti-lipase activity and lipolytic effect. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 130, n.3, p. 621-624, 2010. DOI: <https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jep.2010.05.053>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0378874110003739>. Acesso em: 28 jan. 2024.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil**. 1. ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768 p.

KINUPP, V. F., BARROS, I. B. I. Protein and mineral contents of native species, potential vegetables, and fruits. **Ciência Tecnologia Alimentos**. v. 28, n. 4, p. 846-857, 2008. Disponível: <https://www.scielo.br/j/cta/a/YVFJFF7hsmZKq9BQFcQ5Yyy/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 24 fev. 2025.

KOTHA, R. R., *et al.* Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays. **Antioxidants**. v. 11, p. 2388, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fantiox11122388>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9774584/>. Acesso em: 08 jan. 2023.

KOMAL, KUMAR, J., SEN, A. The role of vitamin C: From prevention of pneumonia to treatment of Covid-19. **Materials Today: Proceedings**. p.2214-7853, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.11.213>. Disponível em: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S221478532207064X>). Acesso em: 24 jul. 2025.

KRUGER, R. T., *et al.* Application of ultrasound in wood chips on the accelerated aging of apple liqueur. **International Journal of Food Science and Technology**. v. 59, v. 1, p. 95-105, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.16750>. Disponível em: <https://academic.oup.com/ijfst/article/59/1/95/7808025>. Acesso em: 11 set. 2025.

KUMAR, K., SRIVASTAV, S., SHARANAGAT, V. S. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. **Ultrasonics - Sonochemistry**. v. 70, p. 105325, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417720309950?via=ihub#b0400>. Acesso em: 15 jan. 2024.

KUMAR, M., *et al.* Recent trends in extraction of plant bioactives using green technologies: A review . **Food Chemistry**. v. 353, p. 129431, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129431>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621004374?via%3Dihub#s0090>. Acesso em: 12 jan. 2024.

LAFIT, N. A., *et al.* Enhancing recovery of bioactive compounds from *Cosmos caudatus* leaves via ultrasonic extraction. **Scientific Reports**. v. 11, p. 17297, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96623-x>. Disponível em: <https://www-nature.ez130.periodicos.capes.gov.br/articles/s41598-021-96623-x>. Acesso em: 16 fev. 2024.

LAMA-MUNOZ, A., CONTRERAS, M. D. M. Extraction Systems and Analytical Techniques for Food Phenolic Compounds: A Review. **Foods**. v. 11, p. 3671, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11223671> . Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/22/3671>. Acesso em: 12 jan. 2024.

LAURINDO, L. F., *et al.* Isoorientin: Unveiling the hidden flavonoid's promise in combating cancer development and progression – A comprehensive review. **Life Sciences**. v. 360, p. 123280, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.123280>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320524008701>. Acessado em 24 jul. 2025.

LI, X., *et al.* Effects of abiotic stress on chlorophyll metabolism. **Plant Science**. v. 342, p. 112030, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2024.112030>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945224000578>. Acesso em: 12 mar. 2025.

LI, H., *et al.* Screening and structural characterization of alpha-glucosidase inhibitors from hawthorn leaf flavonoids extract by ultrafiltration LC-DAD-MS(n) and SORI-CID FTICR MS. **American Society for Mass Spectrometry**. v. 20, ed. 8, 1496-503, 2009. DOI: <https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.jasms.2009.04.003>. Disponível em: <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.ez130.periodicos.capes.gov.br/19443236/>. Acesso em: 25 jul. 2025.

LINCOLN, T; *et al.* **Fundamentos de Fisiologia Vegetal**. 1ª ed. Porto Alegre, Artmed, 558 p, 2021.

LINCOLN, T; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª ed. Porto Alegre, Artmed, 848 p, 2009.

LINCOLN, T., *et al.* **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 6ª ed. Porto Alegre, Artmed, 858 p, 2017.

LOBIUC, A., *et al.* Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. **Molecules**. v. 28, p. 1114, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28031114>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/3/1114>. Acesso em: 18 jan. 2024.

LOPEZA, G. G., BROUSSEA, M.M., LINARESA, A. R. Kinetic modelling of total phenolic compounds from *Ilex paraguariensis* (St. Hil.) leaves: Conventional and ultrasound assisted extraction. **Food and Bioproducts Processing**. v. 139, p. 75-88, 2023. DOI:

<https://doi-org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.fbp.2023.03.003>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0960308523000329?via=ihub#sec0120>. Acesso em: 15 fev.2024.

MAHARAJ, V., *et al.* Identification of Antidiabetic Compounds from the Aqueous Extract of *Sclerocarya birrea* Leaves. **Molecules**. v. 27, p. 8095, 2022.

DOI:<https://doi.org/10.3390/molecules27228095>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/22/8095>. Acesso em: 21 jan.2024.

MANDAL, D., SARKAR, T., CHAKRABORTY, R. Critical Review on Nutritional, Bioactive, and Medicinal Potential of Spices and Herbs and Their Application in Food Fortification and Nanotechnology. **Springer**. v. 195, p. 1319-1513, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s12010-022-04132-y>. Disponível em:

<https://link-springer-com.ez130.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s12010-022-04132-y>. Acesso: 05 dez. 2023.

MARTINS, T., *et al.* Enhancing Health Benefits through Chlorophylls and Chlorophyll-Rich Agro-Food: A Comprehensive Review. **Molecules**. v. 28, ed. 14, p. 5344, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28145344>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/28/14/5344>. Acesso em: 13 mar. 2025.

MARQUES, A. M., *et al.* *Echinodorus grandiflorus*: Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological overview of a medicinal plant used in Brazil. **Food and chemical Toxicology**. v. 109, ed. 2, p. 1032-1047, 2017. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.03.026>. Disponível em: [Echinodorus grandiflorus: Ethnobotanical, phytochemical and pharmacological overview of a medicinal plant used in Brazil - ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com/journal/food-and-chemical-toxicology/article/pii/S027323511730026). Acesso em: 10 out.2023.

MASA, A. *et al.* Quantitative Variation of Flavonoids and Diterpenes in Leaves and Stems of *Cistus ladanifer* L. at Different Ages. **Molecules**. v. 21, ed. 3, p. 275, 2016.

DOI:<https://doi.org/10.3390/molecules21030275>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1420-3049/21/3/275>. Acesso em: 17 jul. 2025.

MASAHIRO, O. *et al.* Preparação para uso externo para pele. Depositante:

SHISEIDO CO LTD. JPH10251134A. Depósito: 07 mar.1997. Concessão: 22 set. 1998. Disponível em:

<https://worldwide.espacenet.com/patent/search/family/013443318/publication/JPH10251134A?q=pn%3DJPH10251134A>. Acesso em: 10 set.2024.

MAXISELLY, Y., *et al.* Morpho-Physiological Traits, Phytochemical Composition, and Antioxidant Activity of *Canephora* Coffee Leaves at Various Stages. **International Journal of Plant Biology**. v. 13, ed. 2, p. 106-114, 2022.

DOI:<https://doi.org/10.3390/ijpb13020011>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2037-0164/13/2/11#B25-ijpb-13-00011>. Acesso em: 12 mar. 2025.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J., *et al.* Carotenoids: Considerations for Their Use in Functional Foods, Nutraceuticals, Nutricosmetics, Supplements, Botanicals, and Novel Foods in the Context of Sustainability, Circular Economy, and Climate Change.

Annual Review of Food Science and Technology. v. 12, p 433, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-food-062220-013218>. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-food-062220-013218>. Acesso em: 10 mar. 2025.

MENDONÇA, J. S. *et al.* Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods. **Molecules**. v. 27, p. 3563, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/11/3563>. Acesso em: 08 jan. 2024.

MIRONEASA, S. *et al.* A Review of the Changes Produced by Extrusion Cooking on the Bioactive Compounds from Vegetal Sources. **Antioxidants**. v. 12, p.1453, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12071453>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/7/1453>. Acesso em: 05 dez. 2023.

MOHAMED, A. A. A., YOUSSEF, N. H., EL-SHAHIR, A. A. In vitro antioxidant and antifungal activities of different solvent extracts of leaf peel and gel of Aloe succotrina and their bio-control of leaf spot disease of Phaseolus vulgaris seedlings. **South African Journal of Botany**. v. 147, p.1112-1123, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.04.042>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629922002034?via%3Dihub#bib0022>. Acesso em: 19 fev. 2025.

MONTEIRO, A. P., SOCCOL, C. R., CARVALHO, J. C. Produção de bebida fermentada tipo cerveja à base de malte e extrato solúvel de chapéu-de-couro (*Echinodorus macrophyllum*; *Echinodorus grandiflorus*). Depositante: Universidade Federal do Paraná. BR 102015031078. Depósito: 11.12.2015. Concessão: 26.09.2017. Disponível em: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR205106096&_cid=P11-MD3GBA-69164-1. Acesso em: 11 set. 2024.

MORADI-AFRAPOLI, *et al.* In vitro α -glucosidase inhibitory activity of phenolic constituents from aerial parts of Polygonum hyrcanicum. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 20, p. 37, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/2008-2231-20-37>. Acesso em: 28 jan. 2024.

MOKRANI, A., MADANI, K. Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. **Separation and Purification Technology**. v. 162, p. 68-76, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383586616300430>. Acesso em: 25 fev.2025.

MULLER, C.J.F., *et al.* New Insights into the Efficacy of Aspalathin and Other Related Phytochemicals in Type 2 Diabetes- A Review. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 23, p.356, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23010356>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/1/356>. Acesso em: 25 jul. 2025.

MUNEKATA, P. E. S. *et al.* Bioactive Compounds from Fruits as Preservatives. **Foods**. v. 12, p. 343, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12020343>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/2/343>. Acesso em: 18 jan. 2024.

M'RABET, Y., *et al.* Profiling of phenolic compounds and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. leaves and fruits at two stages of maturity. **Industrial Crops and Products**. v. 107, p. 232-243, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.048>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669017303680#sec0065>. Acesso em: 06 mar.2025.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Data base. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/996#section=2D-Structure>. Acesso em: 02 jan.2024.

NIETO, G. A. Review on Applications and Uses of Thymus in the Food Industry. **Plants**. v. 9, p. 961, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9080961>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/8/961>. Acesso em: 18 jan.2024.

NOCE, A., *et al.* Annalisa Noce. Natural Bioactive Compounds Useful in Clinical Management of Metabolic Syndrome . **Nutrients**. v. 13, p. 630, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13020630>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/2/630>. Acesso em: 21 jan. 2024.

NZEKOU, F. K., *et al.* Grapevine leaves (*Vitis vinifera*): Chemical characterization of bioactive compounds and antioxidant activity during leave development. **Food Bioscience**. v. 50, p. 102120, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102120>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429222005806?via%3Dihub>. Acessado em 11 mar. 2025.

OLIVEIRA, W., Q., *et al.* Encapsulation of flavonoids in foods for diabetics: The emerging paradigm for an effective therapy. **Trends in Food Science & Technology**. v. 127, p. 198-206, 2022. DOI: <https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.tifs.2022.06.004>. Disponível em: <https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0924224422001972?via%3Dihub#bib18>. Acesso em: 21 jan. 2024.

PATEIRO, M., *et al.* Plant Extracts Obtained with Green Solvents as Natural Antioxidants in Fresh Meat Products. **Antioxidants**. v.10, p. 181, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10020181>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/2/181>. Acessado em 12 jan. 2024.

PEIXE, F. R. G. Medicamento fitoterápico encapsulado do café do açaí, processo de obtenção e seu uso. Depositante: Felipe Rattes Guerra Peixe. BR102022008681. Depósito: 04.05.2022. Concessão:04.05.2022. Disponível em: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR414304736&_cid=P11-MD3H7V-91525-1. Acesso em: Acesso em: 11 set. 2024.

PEROVIC, T., *et al.* Natural extracts against agricultural pathogens: A case study of *Celtis australis* L. **Food Science & Nutrition**. v. 11, p. 3358–3364, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.3325>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/fsn3.3325>. Acesso em: 31 jul.2025.

POGACNIK, L., ULRICH, N. P. Determination of Antioxidants in Medicinal Herbs. *Medical Sciences*. v. 4, ed 2, p. 2971-9402, 2011. Disponível em: https://webbut.unitbv.ro/index.php/Series_VI/article/view/6374. Acesso em: 22 jul. 2025.

PERRIG, W. J., PERRIG, P., STAHELIN, H.B. The relation between antioxidants and memory performance in the old and very old. **Journal Am Geriatr Soc**. v. 45, ed. 6, p. 718-24, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1997.tb01476.x>. Acessado em 18 jun. 2025.

PEROVIC, J., *et al.* Chicory (*Cichorium intybus* L.) as a food ingredient – Nutritional composition, bioactivity, safety, and health claims: A review. **Food Chemistry**. v. 336, p. 127676, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127676>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814620315387?via%3Dihub#section-cited-by>. Acesso em: 24 fev. 2025.

PÉREZ-MUÑOZ, E. P. *et al.* *Eryngium* Species as a Potential Ally for Treating Metabolic Syndrome and Diabetes. **Frontiers in Nutrition**. v. 9, p. 878306, 2022. DOI: 10.3389/fnut.2022.878306. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2022.878306/full>. Acesso em: 21 jan. 2024.

PHAM, D.C., *et al.* Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Flavonoids from *Celastrus hindsii* Leaves Using Response Surface Methodology and Evaluation of Their Antioxidant and Antitumor Activities, **BioMed Research International**. v. 2020, p. 3497107, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3497107>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2020/3497107>. Acessado em 13 jun. 2025.

PINTO, A. C. *et al.* Immunosuppressive effects of *Echinodorus macrophyllus* aqueous extract. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 111, ed.2, p. 435-439, mai. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.022> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106006258>. Acesso em: 22 jul.2023.

PISOSCHI, A. M., POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 97, p. 55-74, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523415300039>. Acesso em: 09 jan. 2024.

POLIDORI, C. M., STAHL, W., GRIFFITHS, H. R. Nutritional cognitive neuroscience of aging: Focus on carotenoids and cognitive frailty. **Redox Biology**. v.44, p. 101996, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101996>. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231721001543>. Acesso em: 18 jun. 2025.

POLIDORO, A. S., *et al.* Analytical and chemometric strategies for elucidation of yerba mate composition. **Food Chemistry**. v. 429, p. 136918, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136918>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814623015364#s0110>. Acesso em: 29 ago. 2025.

PONTES, E., *et al.* Effect of *Malvaviscus arboreus* Flower and Leaf Extract on the Functional, Antioxidant, Rheological, Textural, and Sensory Properties of Goat Yogurt. **Foods**. v. 13, ed. 13, p. 3942, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13233942>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/23/3942>. Acesso em: 18 jun. 2025.

POTRICH, M. *et al.*, Are plant extracts safe for honey bees (*Apis mellifera*)?. **Revista de Pesquisa Apícola**. v. 59, p. 844–851, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1735733>. Disponível em: <https://www.tandfonline-com.ez130.periodicos.capes.gov.br/doi/full/10.1080/00218839.2020.1735733#d1e282>. Acesso em: 19 fev. 2025.

PRANDO, T. B. L., *et al.* Involvement of bradykinin B2 and muscarinic receptors in the prolonged diuretic and antihypertensive properties of *Echinodorus grandiflorus* (Cham. & Schltdl.) Micheli. **Phytomedicine**. v. 23, ed. 11, p. 1249-1258, 2016. DOI: <https://doi.org.ez130.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.phymed.2015.10.020>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0944711315003657?via%3Dihub>. Acesso em: 31 jan. 2024.

PRANDO, T. B. L., *et al.* Ethnopharmacological investigation of the diuretic and hemodynamic properties of native species of the Brazilian biodiversity. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 174, p. 369–378, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2015.08.029>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874115300970?via%3Dihub>. Acesso em: 22 nov. 2024.

QADIR, R. A. *et al.* Variation in Nutritional and Antioxidant Attributes of *Moringa oleifera* L. Leaves at Different Maturity Stages. **Frontiers in Energy Research**. v. 10, p. 888355, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fenrg.2022.888355>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/energy-research/articles/10.3389/fenrg.2022.888355/full>. Acesso em: 11 mar. 2025.

RAGHUNATH, S. *et al.* Processing Technologies for the Extraction of Value-Added Bioactive Compounds from Tea. **Food Engineering Reviews**. v. 15, p. 276-308, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12393-023-09338-2>. Disponível em: <https://link-springer-com.ez130.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007/s12393-023-09338-2>. Acesso em: 12 jan. 2024.

RAMÍREZ-MORENO, E., *et al.* Role of Bioactive Compounds in Obesity: Metabolic Mechanism Focused on Inflammation. **Foods**. v. 11, p. 1232, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.3390/foods11091232>. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/2304-8158/11/9/1232>. Acesso em: 22 jan. 2024.

RASHWAN, A. K., OSMAN, A. I., CHEN, W. Natural nutraceuticals for enhancing yogurt properties: a review. **Environmental Chemistry Letters**. v. 21, p. 1907-1931, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01588-0>. Disponível em: [Natural nutraceuticals for enhancing yogurt properties: a review | Environmental Chemistry Letters](#). Acesso em: 10 abr. 2025.

RE, R., *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. v. 26, p. 1231-1237, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584998003153?via%3Dihub>. Acesso em: 10 out. 2023.

RIBEIRO, A. S., *et al.* Alice de Souza Ribeiro. Composição centesimal e mineral de plantas alimentícias não convencionais: tupinambor (*Helianthus tuberosus*), ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*) e moringa (*Moringa oleifera*), comercializadas em Porto Belo, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**.v. 21, p.38-44, 2021. Disponível em:https://www.sbpmed.org.br/admin/files/papers/file_vfYFrXOIIfcF.pdf. Acesso em: 08 jan.2025.

ROCHA, M. P., *et al.* Quantitative Chemical Composition, Anti-Oxidant Activity, and Inhibition of TNF Release by THP-1 Cells Induced by Extracts of *Echinodorus macrophyllus* and *Echinodorus grandiflorus*. **Antioxidants**. v. 12, ed. 7, p. 1365, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12071365>. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711310001777?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=859081f8ff32f901. Acesso em: 20 fev. 2024.

RODRÍGUES, J., *et al.* Antifungal activity in vitro of Aloe vera pulp and liquid fraction against plant pathogenic fungi. **Culturas e Produtos Industriais**. v. 21, ed. 1, p. 81-87, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.01.002>. Disponível em:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669004000263?via%3Dihub>. Acesso em: 10 dez. 2024.

RODRIGUES, J. F., *et al.* *Moringa oleifera* Lam. Commercial Beverages: A Multifaceted Investigation of Consumer Perceptions, Sensory Analysis, and Bioactive Properties. **Foods**. v. 12, p. 2253, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12112253>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/11/2253>. Acesso em: 05 ago. 2025.

ROY, A., *et al.* Flavonoids a Bioactive Compound from Medicinal Plants and Its Therapeutic Applications. **BioMed Research International**. v. 2022, p. 5445291, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5445291>. Disponível: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2022/5445291>. Acesso em: 16 jun. 2025.

ROWLES, J. L., ERDMAN, J.W. Carotenoids and their role in cancer prevention, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. **Molecular and Cell Biology of Lipids**, v.

1865, ed. 11, p. 158613, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2020.158613>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388198120300056>. Acesso em: 11 mar. 2025.

SAAD, B., GHAREEB, B., KMAIL, A. Metabolic and Epigenetics Action Mechanisms of Antiobesity Medicinal Plants and Phytochemicals. **Evidence-Based**

Complementary and Alternative Medicine. v. 2021, p. 9995903, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1155/2021/9995903>. Disponível

em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2021/9995903>. Acesso em: 22 jan. 2024.

SAMTIYA, M., *et al.* Potential Health Benefits of Plant Food-Derived Bioactive Components: An Overview. **Foods**. v.10, ed.4, p. 839, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.3390/foods10040839>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2304-8158/10/4/839>. Acesso em: 19 ago. 2025.

SANTOS, C. D. Ação inibitória de extratos de plantas sobre lipase pancreática.

Fundação de Amparo à Pesquisa de Est. de MG, Universidade Federal de Lavras.

Custódio Donizete dos Santos. PI0914283. Depósito:03.12.2009.

Concessão:31.01.2012. Disponível

em: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR44242653&_cid=P20-MD4MWV-76098-1. Acessado em 11 set.2024.

ŚCIBISZ, I., ZIARNO, M., MITEK, M. Color stability of fruit yogurt during storage.

Journal of Food Science Technology. v.56, p.1997–2009, 2019. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03668-y>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-019-03668-y#citeas>. Acessado em 13 ago. 2025.

SERESHTI, H., SAMADI, S. A rapid and simple determination of caffeine in teas, coffees and eight beverages. **Food Chemistry**. v. 158, p. 8-13, 2014. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.095>. Disponível:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614002805>.

Acessado em 24 jul. 2025.

SETYANI, W., *et al.* Application of Response Surface Methodology (RSM) for the Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction (UAE) of Moringa oleifera: Extraction Yield, Content of Bioactive Compounds, and Biological Effects In Vitro. **Plantas**. v. 12, n. 13, p. 2455, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12132455>. Disponível

em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/13/2455>. Acesso em: 16 jan. 2024.

SHONTE, T. T., DUODU, K.G., KOCK, H. L. Effect of drying methods on chemical composition and antioxidant activity of underutilized stinging nettle leaves. **Heliyon**.

v. 6, ed. 5, p. 2405-8440, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03938>.

Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844020307830>. Acessado em 21 jul. 2025.

SHAH, S. H., HOUBORG, R., MCCABE, M, F. Response of Chlorophyll, Carotenoid and SPAD-502 Measurement to Salinity and Nutrient Stress in Wheat (*Triticum*

aestivum L.). **Agronomy** . v. 7, ed. 3, p.61, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy7030061>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2073-4395/7/3/61>. Acesso em: 12 mar. 2025.

SHORI, A. B. Storage quality and antioxidant properties of yogurt fortified with polyphenol extract from nutmeg, black pepper, and white pepper. **Electronic Journal of Biotechnology**. v. 57, p. 24-30, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2022.03.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0717345822000094>. Acessado em 26 jun. 2025.

SILVA, P. E. B. Utilização da clonagem vegetal para padronização de fitoterápicos. Laboratório Simões Ltda. PI0205634. Depósito:24.07.2002. Concessão:24.01.2017. Disponível em: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR192388119&_cid=P20-MD4Q43-78028-1. Acesso em: 11 set.2024.

SILVA, A. V. , YERENA, R. L. , NECHA, L. L. Chemical profile and antifungal activity of plant extracts on *Colletotrichum spp.* Isolated from fruits of *Pimenta dioica* (L.) Merr. **Pesticide Biochemistry and Physiology**. v.179, p. 104949, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.104949>. Disponível: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048357521001802#s0055>. Acesso em: 17 fev. 2025.

SILVA, C.J., BASTO, K. B., TAKAHASHI, C.S. Evaluation of the genotoxic and cytotoxic effects of crude extracts of *Cordia ecalyculata* and *Echinodorus grandiflorus*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 12, p. 445–450, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.10.015>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874109006564?via%3Dihub>. Acesso em: 22 out. 2024.

SILVA G.P. *et al.* Flavonoid-enriched fraction from *Echinodorus macrophyllus* aqueous extract exhibits high in-vitro and in-vivo anti-inflammatory activity. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 68, n.12, p. 1584–1596, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/jphp.12620>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jpp/article/68/12/1584/6128168>. Acesso em: 26 agosto 2023.

SILVA, G. P. *et al.* *Echinodorus macrophyllus*: Hydroxycinnamoyl derivatives reduces neutrophil migration through modulation of cytokines, chemokines, and prostaglandin in the air-pouch model. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 284, ed.1, art. 114757, out. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114757>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874121009867>. Acesso em: 22 jul. 2023.

SILVA, P. S. C., FRANCISCONI, L.S, GONÇALVES, R. D. M. R. Evaluation of Major and Trace Elements in Medicinal Plants. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 27, n. 12, p. 2273-2289, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20160123>. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/jbchs/a/L4FqzrfB5cKqPMPkZhtTW3q/?format=pdf&lang=en>. Acessado em 24 fev. 2025.

SILVA, N., *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 5. ed. São Paulo: Blucher, 2017. 535 p.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**. v. 299, p. 152-178, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1). Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>. Acessado em 03 abr. 2024.

SWAPNIL, P., *et al.* Vital roles of carotenoids in plants and humans to deteriorate stress with its structure, biosynthesis, metabolic engineering and functional aspects. **Current Plant Biology**, v. 26, p. 100203, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2021.100203>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214662821000098>. Acesso em: 09 mar. 2025.

ŠOJIC, B., *et al.*, Isolation, Bioactive Potential, and Application of Essential Oils and Terpenoid-Rich Extracts as Effective Antioxidant and Antimicrobial Agents in Meat and Meat Products. **Molecules**. v. 28, p. 2293, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28052293>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/5/2293>. Acesso em: 06 dez. 2023.

SOTO, C. D., *et al.* Bioactive Potential of Aqueous Phenolic Extracts of Spices for Their Use in the Food Industry—A Systematic Review. **Foods**. v. 12, p. 3031, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12163031>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/16/3031>. Acesso em: 05 dez. 2023.

SOUZA, L. E. S., *et al.* Lizana Emanuele Silva de Souza. Application of ultrasound-assisted extraction to obtain antioxidant compounds from leaves of *Echinodorus macrophyllus*. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**. v. 32, p. 101031, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101031>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2352554123000657?via%3Dihub>. Acesso em: 20 set. 2023.

SOUZA, D. G., *et al.* Composição farmacêutica contém ácidos aconíticos de folhas de *Echinodorus grandiflorus* e uso no tratamento de artrite. Depositante: Universidade Federal de Minas Gerais. R102012027551. Depósito: 26.10.2012. Concessão: 21.10.2014. Disponível em: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR128741610&_cid=P11-MD3GK9-74738-1. Acesso em: 11 set. 2024.

SOUZA, G. D. *et al.* Composição farmacêutica contendo uma fração rica em flavonoides de folhas de *Echinodorus grandiflorus* e uso no tratamento de artrite. Depositante: Universidade Federal de Minas Gerais-UFMG. BR102012027556. Depósito 26 nov. 2012. Concessão: 27 fev. 2018. Disponível em:

https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=BR217852049&_cid=P20-M5PA6A-53002-1. Acesso em: Acesso em: 10 set.2024.

STRADA, C. L., *et al.* Isovitexin as marker and bioactive compound in the antinociceptive activity of the Brazilian crude drug extracts of *Echinodorus scaber* and *E. grandiflorus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V. 27, p. 619–626, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2017.05.011>. Disponível em: <https://link.springer.com/journal/43450>. Acessado em 11 dez. 2023.

SULTANBAWA, F., SULTANBAWA, Y. Mineral nutrient-rich plants – Do they occur?, Applied. **Food Research**. v. 3, p. 100347, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2023.100347>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772502223000847>). Disponível em: <https://www-sciencedirect-com.ez130.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S2772502223000847?via=ihub>. Acesso em: 24 fev. 2025.

SURIYAPROM, S., *et al.* Antioxidants of Fruit Extracts as Antimicrobial Agents against Pathogenic Bacteria. **Antioxidants**. v. 11, p. 602, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11030602>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/3/602>. Acesso em: 18 jan. 2024.

SUWAN, N., BAISON, W. CHUAJEDTON, A. Purification of *Gymnema inodorum* Leaf Extract and Its Antifungal Potential Against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences**. v. 92, p. 667–677, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40011-022-01364-0>. Disponível: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40011-022-01364-0>. Acessado: em 18 fev. 2025.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). **Food Research Center (FoRC)**. Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>. Acesso em: 12 ago. 2024.

THEODOSIS-NOBELOS, P. REKKA, E. A. The Multiple Sclerosis Modulatory Potential of Natural Multi-Targeting Antioxidants. **Moléculas**. v. 27, n. 23, p. 8402, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27238402>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/23/8402>. Acesso em: 09 jan. 2024.

TIBIRIÇA, E. *et al.* Pharmacological mechanisms involved in the vasodilator effects of extracts from *Echinodorus grandiflorus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, n. 1, p. 50-55, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.030>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874106005721>. Acesso em: 24 jul. 2023.

TOBÓN, O. J. F. Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. **Journal of Food Science Technology**. v. 57, p. 4299–4315, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-020-04433-2#citeas>. Acesso em: 27 fev. 2025.

TOPKA, P., *et al.* Effect of Enriching Gingerbread Cookies with Elder (*Sambucus nigra* L.) Products on Their Phenolic Composition, Antioxidant and Anti-Glycation Properties, and Sensory Acceptance. **Molecular Sciences**. v. 24, p. 1493, 2023. DOI: Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/2/1493>. Acesso em: 10 jan. 2024.

TRAN, N., PHAM, B., LE, L. Bioactive Compounds in Anti-Diabetic Plants: From Herbal Medicine to Modern Drug Discovery. **Biology**. v. 9, p. 252, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology9090252>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-7737/9/9/252>. Acesso em: 21 jan. 2024.

TRESSERRA-RIMBAU, A., LAMUELA-RAVENTOS, R., MORENO, J. J. Polyphenols, food and pharma. Current knowledge and directions for future research. **Biochemical Pharmacology**. v. 156, p. 186-195, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.07.050>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295218303228?via%3Dihub#b0025>. Acessado em 02 jan. 2024.

TUNG MUNNITHUM, D., *et al.* Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. **Medicines**. 5, p. 93, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2305-6320/5/3/93>. Acesso em: 16 jun. 2025.

UZUNER, S. Ultrasonication Effects on Quality of Tea-Based Beverages. **Beverages**. v. 9, n. 1, p. 1. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages9010001>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-5710/9/1/1>. Acesso em: 15 jan. 2024.

VIERA, I., HERRERA, M., ROCA, M. Influence of food composition on chlorophyll bioaccessibility. **Food Chemistry**. v. 386, p. 132805. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132805>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814622007671>. Acesso em: 13 mar. 2025.

World Health Organization (WHO). **Obesity and overweight**. 2021. Disponível em: XIU, X., *et al.* Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action. **Food Chemistry**. v. 353, p. 129488, 2021. DOI: Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814621004945?via%3Dihub>. Acesso em: 10 jan. 2024.

YAN, X. T., *et al.* *In Vitro* Anti-Obesity Effect of Shenheling Extract (SHLE) Fermented with *Lactobacillus fermentum* grx08. **Foods**. v. 11, ed. 9, p. 1221, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11091221>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/12/2431#B19-antioxidants-11-02431>. Acesso em: 28 jan. 2024.

YANG, S. C., *et al.* Bioactive Agent Discovery from the Natural Compounds for the Treatment of Type 2 Diabetes Rat Model. **Molecules**. v. 25, p. 5716, 2020.

DOI:<https://doi.org/10.3390/molecules25235713>. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/23/5713>. Acessado em 21 jan. 2024.

YUSOFF, I. M., *et al.* A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. **Food Research International**.V. 157, p. 111268, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111268>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996922003258?via%3Dihub>.
 Acesso em: 26 ago. 2023.

ZAMUZ, S. *et al.* The role of phenolic compounds against *Listeria monocytogenes* in food. A review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 110, p. 385-392, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.068>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224421000765?via%3Dihub>. Acesso em: 18 jan. 2024.

ZHANG, T. *et al.* Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt, **LWT - Food Science and Technology**. v.101, p.276-284, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.010>. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818309617>). Acesso em: 26 jun. 2025.

ZIQUBU, K., *et al.* Impact of Isoorientin on Metabolic Activity and Lipid Accumulation in Differentiated Adipocytes. **Molecules**. v.25, ed. 8, p.1773, 2020. DOI:
<https://doi.org/10.3390/molecules25081773>. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/8/1773>. Acesso em: 08 ago. 2025.

ZHENG, J., *et al.* Effects of chrysanthemum extract on physicochemical, sensory, and in vitro digestion of set-type yogurt. **Journal of Food Science and Technology**. v. 6, p. 2343–2353, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-024-06000-5>. Disponível em:<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-024-06000-5>. Acesso em: 02 jul. 2025.

ZHISHEN, J., MENGCHENG, T., JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**. v. 64, n. 4, p. 555-559, 1999. DOI:
[https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi-org.ez82.periodicos.capes.gov.br/10.1016/S0308-8146(98)00102-2).
 Disponível em:<https://www-sciencedirect.ez82.periodicos.capes.gov.br/science/article/pii/S0308814698001022?via%3Dihub>. Acesso em:29 jan.2024.

ZHOU, Z., *et al.* Hawthorn with “homology of medicine and food”: a review of anticancer effects and mechanisms Front. **Pharmacol.** v. 15, p. 1384189, 2024. DOI:[3389/fphar.2024.1384189](https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1384189). Disponível em:
<https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2024.1384189/full>. Acessado em 25 jul. 2025.

ZHONG, L., *et al.* Chemical Profile, Antimicrobial and Antioxidant Activity Assessment of the Crude Extract and Its Main Flavonoids from Tartary Buckwheat Sprouts. **Molecules**. v. 27, ed. 2, p. 374. 2022. DOI:

<https://doi.org/10.3390/molecules27020374>. Disponível em:
<https://www.mdpi.com/1420-3049/27/2/374>. Acesso em: 31 jul.2025.