

**Atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos do chá do caule da
Pereskia aculeata Miller fresco e armazenado sob congelamento**

**Antioxidant activity and phenolic compound content of fresh and frozen *Pereskia
aculeata* Miller stem tea**

**Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos del té de tallo de *Pereskia
aculeata* Miller fresco y almacenado bajo congelación**

Recebido: 23/03/2020 | Revisado: 24/03/2020 | Aceito: 25/03/2020 | Publicado: 27/03/2020

Thiago Vieira de Moraes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1740-9884>

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Email: biomedicothiagovieira@yahoo.com.br

João Paulo Gonçalves Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7703-6605>

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Email: jpferreira.jpg@gmail.com

Mariana Rangel Alves de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1740-9884>

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Email: mari_r_3t@yahoo.com.br

Ricardo Felipe Alves Moreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7823-9615>

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Email: ricfelipe1@yahoo.com.br

Resumo

A *Pereskia aculeata* Miller, popularmente conhecida no Brasil como ora-pro-nóbis (OPN), é considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC), rica em compostos bioativos e utilizada no tratamento de doenças e suplementação. O objetivo deste estudo foi determinar a atividade antioxidante *in vitro* (IC₅₀(DPPH)), o conteúdo total de compostos fenólicos (CTF) e flavonoides (CTFL) de chás (extratos aquosos) produzidos a partir da farinha do caule da *Pereskia aculeata* Miller, avaliando a influência do armazenamento sob congelamento nesses

parâmetros. Destaca-se que os resultados apresentados neste estudo são inéditos na literatura. Os valores médios encontrados para $IC_{50(DPPH)}$, CTF e CTFL foram $(589,34 \pm 69,48 \mu\text{g mL}^{-1})$; $(86,06 \pm 16,37 \text{ mg EAG g}^{-1})$ e $(13,18 \pm 3,56 \text{ mg ER g}^{-1})$, respectivamente. Esses compostos fenólicos parecem ter grande participação no potencial antioxidante moderado desse tipo de chá. O congelamento dos extratos durante um período de três semanas não produziu alterações estatisticamente significativas. Entretanto, é provável que o armazenamento desse chá por um período superior provoque tais mudanças.

Palavras-chave: Ora-pro-nóbis; Extrato aquoso; Temperatura.

Abstract

Pereskia aculeata Miller, popularly known in Brazil as ora-pro-nóbis (OPN), is considered an unconventional food plant (UFP); for being rich in bioactive compounds it is commonly used in disease treatment and supplementation. The aim of this study was to determine the *in vitro* antioxidant activity ($IC_{50(DPPH)}$), total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of teas (aqueous extracts) produced from the flour of *Pereskia aculeata* Miller stems, evaluating the influence of freezing storage at these parameters. The results presented in this study are unprecedented in the literature. The mean values found for $IC_{50(DPPH)}$, TPC and TFC were $(589.34 \pm 69.48 \mu\text{g mL}^{-1})$; $(86.06 \pm 16.37 \text{ mg AGE g}^{-1})$ and $(13.18 \pm 3.56 \text{ mg RE g}^{-1})$, respectively. These phenolic compounds appear to play a major role in the moderate antioxidant potential of this type of tea. Freezing the extracts over a period of three weeks did not produce statistically significant changes in the above mentioned parameters. However, storage of this tea for a longer period is likely to cause such changes.

Keywords: Ora-pro-nóbis; Aqueous extract; Temperature.

Resumen

Pereskia aculeata Miller, conocida popularmente en Brasil como ora-pro-nóbis (OPN), se considera una planta alimenticia no convencional (PANC), rica en compuestos bioactivos y es utilizada en el tratamiento de enfermedades y suplementos. El objetivo de este estudio fue determinar la actividad antioxidante *in vitro* ($IC_{50(DPPH)}$), contenido de fenoles totales (CFT) y flavonoides (CFLT) de tés (extractos acuosos) producidos a partir de la harina del tallo de *Pereskia aculeata* Miller, evaluando la influencia de almacenamiento bajo congelación en estos parámetros. Es de destacar que los resultados presentados en este estudio no tienen precedentes en la literatura. Los valores médios encontrados para $IC_{50(DPPH)}$, CFT y CFLT fueron $(589.34 \pm 69.48 \mu\text{g mL}^{-1})$; $(86.06 \pm 16.37 \text{ mg EAG g}^{-1})$ y $(13.18 \pm 3.56 \text{ mg ER g}^{-1})$,

respectivamente. Estos compuestos fenólicos parecen tener un papel importante en el potencial antioxidante moderado de este tipo de té. Tres semanas no produjeron cambios estadísticamente significativos, sin embargo, es probable que el almacenamiento de este té por un período más largo cause tales cambios.

Palabras clave: Ora-pro-nóbis; Extracto acuoso; Temperatura.

1. Introdução

A espécie *Pereskia aculeata* Miller, popularmente conhecida no Brasil como ora-pro-nóbis (OPN), é considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC). Pertencendo à família Cactaceae, apresenta-se como planta de aspecto arbustivo, trepadeira, com caules lenhosos, flores brancas e folhas verdadeiras (de Miranda Souza *et al.*, 2009; Royo *et al.*, 2005; Edwards *et al.*, 2005; Dias *et al.*, 2005). Essa PANC é utilizada como fonte de nutrientes para o tratamento de doenças. Por exemplo, Almeida *et al.* (2014) relataram que 100 gramas da farinha das folhas de OPN apresentam em média 28,99 gramas de proteínas (base seca). Já Pinto *et al.* (2015) relataram que os extratos hidrometanólicos das folhas da *P. aculeata* apresentam alguns alcaloides (p. ex.: triptamina, abrina e mescalina) com potencial anti-inflamatório e antinociceptivo.

O Brasil é considerado um país rico em biodiversidade (Filardi *et al.*, 2018); diante desse fato, torna-se primordial investigar a composição química e a bioatividade de nossa flora. Produtos naturais podem ser úteis, por exemplo, para combater o estresse oxidativo que frequentemente é associado ao envelhecimento precoce e ao surgimento de diversas doenças crônicas (Oliveira *et al.*, 2018). Nesse contexto, o consumo de espécies vegetais ricas em compostos fenólicos e com elevado potencial antioxidante é uma estratégia interessante. Conhecer mais profundamente o potencial antioxidante de PANCs, como a *Pereskia aculeata* Miller, pode favorecer a disseminação de seu consumo *in natura* ou promover seu uso como componente de novos produtos alimentícios e farmacêuticos.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antioxidante *in vitro* e o teor total de compostos fenólicos e flavonoides dos chás produzidos a partir da farinha do caule da *Pereskia aculeata* Miller, verificando a influência do armazenamento desse chá sob congelamento nesses parâmetros.

2. Metodologia

O presente estudo deve ser entendido como uma pesquisa laboratorial e de natureza quantitativa (Pereira et al., 2018).

O material vegetal (caule) foi coletado na Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Agrobiologia) localizada no município de Seropédica (RJ). As coordenadas geográficas do local de coleta são 22° 48' 00'' de latitude Sul e 43° 41' 00'' de longitude Oeste. O local apresenta chuvas concentradas no período de novembro a março; precipitação média anual de 1,213 mm e temperatura média anual de 24,5°C. As coletas ocorreram em novembro de 2017 (I) e janeiro de 2018 (II).

O caule foi submetido a um processo simples de higienização, utilizando água corrente e secagem com folhas de papel. Esse material foi levado para uma estufa ventilada (Marconi, MA035, Brasil) com temperatura de 60°C, onde foi seco por um período de 24 horas. Em seguida, o material vegetal foi processado em moinho de facas/martelo (RI 2035, Philips Wallita, Brasil) para a obtenção da farinha do caule.

As infusões originais foram preparadas através de extração aquosa (durante 5 minutos), utilizando 2,0 g da farinha do caule de OPN e 50 mL de água destilada em ebulição. Essas infusões foram resfriadas sobre água corrente e transferidas quantitativamente por filtração para balão volumétrico de 100 mL. Por último, os volumes dos balões foram completados com água destilada e as soluções foram homogeneizadas por agitação manual. Na sequência, foram realizados os testes com os chás frescos que, em seguida, foram armazenados dentro de recipientes de polietileno em um freezer sob temperatura de -18°C por 7 e 21 dias. Antes que os chás congelados fossem analisados, seu descongelamento foi conduzido à temperatura ambiente. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Para a determinação da atividade antioxidante adotou-se o método de inativação do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), proposto por Brand-Williams e Berset (1995). Para esse teste, foram realizadas quatro diluições da infusão original (100 µg mL⁻¹; 300 µg mL⁻¹; 600 µg mL⁻¹ e 1000 µg mL⁻¹). Os resultados obtidos foram empregados para a construção da curva de capacidade antioxidante que foi usada para o cálculo dos valores de IC₅₀ (concentração de um antioxidante capaz de reduzir o radical livre DPPH em 50 %). Esses testes foram realizados com o auxílio de um espectrofotômetro (Edutec, modelo EEQ-9023, Brasil) a 515 nm. O ácido gálico e a rutina foram utilizados como controles positivos.

A determinação do teor de compostos fenólicos totais (CTF) foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Hamazu e Iijima, 1999) diretamente sobre a infusão

original. As leituras foram feitas a 760 nm e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por grama de amostra seca.

O teor total de flavonoides (CTFL) foi avaliado pelo método espectrofotométrico do cloreto de alumínio (AlCl_3) na infusão original (Neves *et al.*, 2009). As leituras foram realizadas a 510 nm e o conteúdo total de flavonoides foi expresso em mg de equivalentes de rutina (mg ER) por grama de amostra seca.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software Graph Pad Prism 6.0. Os dados obtidos passaram por uma análise de variância agrupada (two-way ANOVA), com pós-teste de Tukey para múltiplas comparações entre os grupos. O nível de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. As correlações entre os parâmetros monitorados foram determinadas aplicando-se o teste do coeficiente de correlação de Pearson.

3. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos pelos diferentes métodos podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Avaliação do potencial antioxidante, teor total de fenólicos e teor total de flavonoides dos chás frescos e congelados (7 e 21 dias).

	Fresco	7 dias	21 dias
$\text{IC}_{50(\text{DPPH})}$ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	$503,34 \pm 31,55^a$	$579,86 \pm 51,45^a$	$684,84 \pm 125,46^a$
CTF (mg EAG g^{-1})	$89,81 \pm 13,96^a$	$79,41 \pm 21,58^a$	$70,98 \pm 13,58^a$
CTFL (mg ER g^{-1})	$14,80 \pm 3,28^a$	$13,56 \pm 3,53^a$	$11,18 \pm 3,88^a$

$\text{IC}_{50(\text{DPPH})}$: concentração do chá capaz de reduzir o radical DPPH em 50%; CTF: teor total de compostos fenólicos; EAG: equivalentes de ácido gálico; CTFL: teor total de flavonoides; ER: equivalentes de rutina; em uma mesma linha, os valores marcados com a mesma letra não diferem estatisticamente ($p > 0,05$). Fonte: Própria (2020).

Esse é o primeiro estudo que avalia o teor total de compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante do chá do caule da *Pereskia aculeata* Miller. O valor de IC_{50} médio obtido para os chás testados correspondeu a ($589,34 \pm 69,49$) $\mu\text{g mL}^{-1}$. O IC_{50} do ácido gálico

foi estimado em $8,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ e o da rutina em $93 \mu\text{g mL}^{-1}$. Dessa forma, o potencial antioxidante dos chás testados é 69 vezes menor do que o do ácido gálico e 6 vezes menor do que o da rutina. Souza *et al.* (2019) relatou valores de IC_{50} de $430 \mu\text{g mL}^{-1}$ em chás comerciais obtidos com o mesmo processo de extração a partir de folhas de boldo do Chile (*Peumus boldus* Molina). O chá verde é conhecido por suas propriedades antioxidantes. Ao comparar os valores de $\text{IC}_{50(\text{DPPH})}$ do chá do caule de OPN (Tabela 1) com aqueles apresentados no estudo de Farooq e Seghal (2018), percebe-se que o chá do caule de OPN apresenta uma atividade antioxidante média 23 vezes menor do que a encontrada para diferentes formas de chá verde (*Camellia sinensis*) ($\text{IC}_{50\text{médio}(\text{DPPH})} = 25,53 \mu\text{g mL}^{-1}$). Sendo assim, o chá do caule de OPN tem menor potencial antioxidante do que o chá verde e o chá de boldo. Entretanto, os extratos de hexano ($\text{IC}_{50} > 3.000 \mu\text{g mL}^{-1}$), clorofórmio ($\text{IC}_{50} = 1.592,21 \mu\text{g mL}^{-1}$) e acetato de etila ($\text{IC}_{50} > 3.000 \mu\text{g mL}^{-1}$) do caule da espécie *Buddleja salvifolia* (Matamane *et al.*, 2019), apresentam menor atividade antioxidante do que o chá do caule de OPN. O potencial antioxidante ($\text{IC}_{50(\text{DPPH})} = 833,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) relatado por Victoria *et al.* (2012) para o óleo essencial das folhas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) também é inferior ao do chá do caule de OPN. O armazenamento sob congelamento por 7 ou 21 dias não alterou de forma estatisticamente significativa o potencial antioxidante do chá do caule de OPN.

O teor total médio de compostos fenólicos das amostras analisadas foi de $(80,06 \pm 16,37)$ mg EAG/g de amostra seca. Darus (2015) apresentou valores de CTF inferiores aos apresentados na Tabela 1 para extratos aquosos de caule de uma espécie diferente de *Pereskia* (*Pereskia bleo*) (média de $6,06 \text{ mg EAG g}^{-1}$). Essa diferença pode ser explicada pela composição química distinta entre as espécies (*Pereskia aculeata* Miller x *Pereskia bleo*), por diferenças no preparo das amostras e dos extratos aquosos e, também, pela influência dos fatores ambientais (luminosidade, água, solo e temperatura) que podem interferir com o perfil de metabólitos secundários dessas matrizes. O armazenamento sob congelamento por 7 ou 21 dias também não foi capaz de produzir diferenças estatisticamente significativas entre os chás do caule da *Pereskia aculeata* Miller com relação a esse parâmetro.

A média da CTFL dos chás avaliados no presente estudo foi de $(13,18 \pm 3,56)$ mg ER/g de amostra. Darus (2015) também avaliou a concentração total de flavonoides dos extratos aquosos frescos do caule da *Pereskia bleo*, expressando o resultado em equivalentes de quercitina (EQ) por grama de amostra. Nesse estudo de Darus (2015), a CTFL média foi estimada em $7,86 \text{ mg EQ g}^{-1}$. A comparação com os dados do presente estudo fica prejudicada em função dos resultados terem sido expressos em relação a diferentes flavonoides padrões (quercitina x rutina). O armazenamento sob congelamento também não

foi capaz de alterar de forma estatisticamente significativa o teor total de flavonoides das amostras avaliadas.

Os coeficientes de correlação de Pearson (Tabela 2) foram calculados comparando-se os chás frescos e congelados por 7 e 21 com base em seus potenciais antioxidantes, teores totais de compostos fenólicos e teores totais de flavonoides. A CTF dos chás apresentou um elevado coeficiente de correlação negativo ($r = - 0,989$) com o IC_{50} estimado pelo método do DPPH, indicando que quanto menor o conteúdo de compostos fenólicos, maior é o valor de IC_{50} estabelecido e, portanto, menor é o potencial antioxidante da bebida. Foi possível observar o mesmo comportamento pela comparação do IC_{50} dos chás estudados com seus teores totais de flavonoides ($r = - 0,996$), mostrando mais uma vez a forte contribuição desse grupo de compostos fenólicos (flavonoides) para o potencial antioxidante desses chás.

Tabela 2. Coeficientes de correlação de Pearson (r) para atividade antioxidante, teor total de fenólicos e teor total de flavonoides dos chás frescos e armazenados sob congelamento.

	$IC_{50(DPPH)}$	CFT	CTFL
$IC_{50(DPPH)}$	_____	- 0,989	- 0,996
CFT	- 0,989	_____	0,971
CTFL	- 0,996	0,971	_____

$IC_{50(DPPH)}$: concentração do chá capaz de reduzir o radical DPPH em 50%; CFT: teor total de compostos fenólicos; CFLT: teor total de flavonoides. Fonte: Própria (2020).

Apesar de não haver diferença estatística significativa entre o chá fresco e os congelados em relação aos parâmetros avaliados, percebe-se claramente uma tendência de diminuição do teor total de compostos fenólicos e flavonoides com o avançar do tempo de armazenamento sob congelamento. Essa tendência de queda na concentração desses compostos é acompanhada por outra vertente (mais uma vez estatisticamente não significativa): o aumento do valor de IC_{50} , ou seja, a diminuição do potencial antioxidante das bebidas. É muito provável que o congelamento por período superior a 21 dias (3 semanas) leve a mudanças estatisticamente significativas nos parâmetros monitorados.

4. Conclusão

No presente estudo, o teor total de compostos fenólicos, flavonoides e a atividade antioxidante do chá da farinha do caule da *Pereskia aculeata* Miller foram determinados pela primeira vez. O armazenamento desse chá sob congelamento por 7 e 21 dias não alterou de forma estatisticamente significativa o seu conteúdo total de fenólicos, flavonoides e sua atividade antioxidante. Há uma elevada correlação entre o conteúdo dessas substâncias (compostos fenólicos e flavonoides) e o moderado potencial antioxidante desse tipo de chá.

Aparentemente, o armazenamento sob congelamento durante um período de tempo superior a três semanas irá produzir perdas estatisticamente significativas no conteúdo desses compostos e na atividade antioxidante desse chá. Novos testes ampliando o período de armazenamento sob congelamento devem ser conduzidos para que essa hipótese seja verificada. Também é interessante que outras técnicas de avaliação da capacidade antioxidante desses chás sejam aplicadas durante esses testes.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, FAPERJ e UNIRIO.

Referências

Almeida, M. E. F., Junqueira, A. M. B., Simao, A. A., & Correa, A. D. (2014). Chemical characterization of the non-conventional vegetable known as ora-pro-nobis. *Bioscience Journal*, 30(Supplement), 431-439.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Darus, M., & Aida, N. (2015). Profiling of anti-diabetic agent from *Pereskia Bleo* (KUNTH)/Nadzrul Aida Bt Mat Darus (Doctoral dissertation, University of Malaya).

Dias, A. C. P., Pinto, N. A. V. D., Yamada, L. T. P., Mendes, K. L., & Fernandes, A. G. (2009). Avaliação do consumo de hortaliças não convencionais pelos usuários das unidades

do Programa Saúde da Família (PSF) de Diamantina-MG. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 16(3), 279-284.

Edwards, E. J., Nyffeler, R., & Donoghue, M. J. (2005). Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American Journal of Botany*, 92(7), 1177-1188.

Farooq, S., & Sehgal, A. (2018). Antioxidant activity of different forms of green tea: loose leaf, bagged and matcha. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 6(1), 35-40.

Filardi, F. L. R., Barros, F. D., Baumgratz, J. F. A., Bicudo, C. E., Cavalcanti, T. B., Coelho, M. A. N., ... & Lanna, J. M. (2018). Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia*, 69(4), 1513-1527.

Hamauzu, Y., & Iijima, E. (1999). Polyphenolic composition and antioxidative activity of apple flesh extracts. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 46(10), 645-651.

Matamane, R. P., Pillai, M. K., & Magama, S. (2019). DPPH radical scavenging activity of extracts from *Buddleja salviifolia*. *Pharmacology OnLine*, 2, 233-240.

Neves, L. C., Alencar, S. D., & Carpes, S. T. (2009). Determinação da atividade antioxidante e do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola de *Apis mellifera*. *Brazilian Journal of Food Technology*, 7, 107-110.

Pereira, A.S., Shitsuka, D. M., Parreira, F. J. & Shitsuka, R. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_MetodologiaPesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1. Acesso em: 24 mar. 2020.

Pinto, N. D. C. C., Duque, A. P. D. N., Pacheco, N. R., Mendes, R. D. F., Motta, E. V. D. S., Bellozi, P. M. Q., ... & Scio, E. (2015). *Pereskia aculeata*: a plant food with antinociceptive activity. *Pharmaceutical biology*, 53(12), 1780-1785.

Royo, V.A.; Moraes, F.R.C.; Cestari, A.; Lima, T.C.; Silva, M.L.A.; Martins, C.H.G.; Furtado, N.A.J.C. (2005) Evaluation of the antimicrobial activity of the crude extract of branches of *Pereskia aculeata* Miller. *XIX Anais do Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química*. Ouro Preto - Minas Gerais.

Silva Oliveira, R., Lucas, C. P., Antonucci, G., & da Silva, F. C. (2018). Compostos bioativos naturais: agentes promissores na redução do estresse oxidativo e processos inflamatórios. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 5(2).

Souza, W. F. M., Mariano, X. M., Isnard, J. L., de Souza, G. S., de Souza Gomes, A. L., de Carvalho, R. J. T., ... & Moreira, R. F. A. (2019). Evaluation of the volatile composition, toxicological and antioxidant potentials of the essential oils and teas of commercial Chilean boldo samples. *Food Research International*, 124, 27-33.

Miranda Souza, M. R., Correa, E. J. A., Guimarães, G., & Pereira, P. R. G. (2009). O potencial do ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 4(2).

Victoria, F. N., Lenardão, E. J., Savegnago, L., Perin, G., Jacob, R. G., Alves, D. S., Nascente, P. (2012). Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. *Food and chemical toxicology*, 50(8), 2668-2674.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Thiago Vieira de Moraes – 30%

João Paulo Gonçalves Ferreira – 20%

Mariana Rangel Alves de Souza – 20%

Ricardo Felipe Alves Moreira – 30%