UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROCESSOS QUÍMICOS E BIOTECNOLÓGICOS

SARA GONÇALVES PASCHOAL

EFEITO DO SOLVENTE EXTRATOR SOBRE A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Zingiber officinale* Roscoe, *Curcuma longa* Linn e *Pereskia aculeata* Miller

TOLEDO
2018

SARA GONÇAVES PASCHOAL

EFEITO DO SOLVENTE EXTRATOR SOBRE A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Zingiber officinale* Roscoe, *Curcuma longa* Linn e *Pereskia aculeata* Miller

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos na Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do grau "Mestre em Processos Químicos e Biotecnológicos"- Área de Concentração: Processos Químicos e Biotecnológicos.

Orientador: Prof. Dr. Clayton Antunes Martin
Co-orientadora: Profa. Dra. Janesca Alban Roman

TOLEDO
2018

P279e Paschoal, Sara Gonçalves

Efeito do solvente extrator sobre a atividade antioxidante de Zingiber officinale Roscoe, Curcuma longa Linn e Pereskia aculeata Miller. / Sara Gonçalves Paschoal. Toledo /PR, 2018.

97 f.

Orientador: Prof. Dr. Clayton Antunes Martin.

Co-Orientadora: Profa. Dra. Janesca Alban Roman

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

1. Extração por solventes. 2. Minerais na nutrição. I. Martin, Clayton Antunes. II. Roman, Janesca Alban. III. UTFPR. IV. Título.

CDD: 660.6

Ficha catalográfica elaborada na Biblioteca UTFPR / Toledo

Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Toledo
Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos

TERMO DE APROVAÇÃO

EFEITO DO SOLVENTE EXTRATOR SOBRE A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE, CURCUMA LONGA LINN* E *PERESKIA ACULEATA MILLER*

Por

SARA GONÇALVES PASCHOAL

Essa dissertação foi apresentada às 14 horas do dia vinte e oito de fevereiro de dois mil e dezoito, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Processos Químicos e Biotecnológicos, Linha de Pesquisa de Processos Biotecnológicos, no Programa de Pós-Graduação em Processos Químicos e Biotecnológicos – PPGQB, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo relacionados. Após deliberação, a banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado.

_____
Prof. Dr. Clayton Antunes Martin (Orientador – PPGQB)

_____
Prof.ª Dr.ª Solange Cottica (Membro Interno – PPGQB)

_____
Prof. Dr. Reinaldo Aparecido Bariccatti (Membro Externo – UNIOESTE)

A versão assinada encontra-se arquivada na Coordenação do PPGQB

AGRADECIMENTOS

As seguintes palavras de agradecimento tentarão expressar um sentimento sincero de dizer muito obrigada.

Agradeço, primeiramente, a Deus por me sustentar em fé, me guiar e me proporcionar a oportunidade de estudar.

Ao meu marido, grande amor, gostaria de dedicar a seguinte frase: o resultado de um trabalho nada mais é do que, dia-a-dia, construir um propósito e almejar uma conquista. Quero agradecer meu marido, Bruno, por me ensinar a sonhar e que com dedicação é possível alcançar nossos sonhos.

Agradeço aos meus queridos e amados pais, os quais sempre foram exemplos de honestidade e perseverança, por todo apoio e incentivo durante esta caminhada.

Agradeço minha família pelas orações e todo encorajamento durante este trabalho.

Agradeço ao Professor Dr. Clayton Antunes Martin pela oportunidade de ser orientada por ele, por sua dedicação e esforço neste trabalho.

Agradeço a todos os técnicos e estagiários do laboratório de processos químicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), campus Toledo, pelo auxílio e atenção nos procedimentos realizados.

Agradeço aos Professores Drs. Paulo Rodrigo Stival Bittencourt e Éder Lisandro de Moraes Flores por cederem o laboratório, no campus de Medianeira, para a realização dos ensaios.

Agradeço a minha querida amiga Pâmela por ser tão presente e atenciosa ao longo deste projeto.

Agradeço ao estimado Maderson por coletar a planta ora-pro-nobis e pelo apoio e dedicação durante os experimentos.

Por fim, agradeço aos meus amigos que sempre trouxeram palavras de esperança e motivação.

RESUMO

O efeito do solvente extrator (etanol, isopropanol, acetato de etila, suas misturas binárias e ternárias) sobre a atividade antioxidante de extratos de *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), *Curcuma longa* Linn (açafrão) e *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nobis) foi avaliado, a fim de determinar a composição de solventes que forneça extratos com alta atividade antioxidante e verificar seu efeito protetor em estabilizar o óleo de soja durante o aquecimento (1 h a 250 ˚C). Para o gengibre, a extração com a mistura ternária etanol:isopropanol:acetato de etila (0,30:0,33:0,37, v/v/v) resultou na condição em que a atividade antioxidante foi maximizada para os ensaios de DPPH (61,39 µmol Trolox g^{-1}), ABTS (156,91 µmol Trolox g^{-1}) e FRAP (225,55 µmol $FeSO_4$ g^{-1}). Para o açafrão esta condição foi alcançada para a mistura binária etanol:isopropanol (0,52:0,48, v/v) sendo obtidos os valores de 133,91, 665,47 µmol Trolox g^{-1} e 218,71 µmol $FeSO_4$ g^{-1}, respectivamente para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP. Os extratos de ora-pro-nobis apresentaram baixa atividade antioxidante em relação ao gengibre e açafrão, sendo que a extração com 100 % de etanol resultou na maximização da atividade antioxidante nos ensaios de DPPH (9,35 µmol Trolox g^{-1}), ABTS (18,41 µmol Trolox g^{-1}) e FRAP (13,47 µmol $FeSO_4$ g^{-1}). O ora-pro-nobis apresentou as maiores concentrações de Ca (3417,14 mg 100 g^{-1}), K (3263,21 mg 100 g^{-1}), Mg (659,57 mg 100 g^{-1}) e P (541,82 mg 100 g^{-1}), seguido pelo açafrão cujas concentrações foram (119,35, 1225,95, 220,39, 236,65 mg 100 g^{-1} para Ca, K, Mg e P, respectivamente). Para o gengibre estes minerais também ocorreram em maior proporção, contudo as concentrações foram bem menores. A adição dos extratos de gengibre e açafrão, cuja atividade antioxidante foi maximizada, ao óleo de soja resultou em menores valores para os índices de acidez e peróxido ($p < 0,05$) em relação ao óleo de soja comercial, utilizado como controle. A adição dos extratos de gengibre ao óleo de soja resultou em uma menor degradação dos ácidos graxos insaturados, em relação ao óleo de soja comercial e ao óleo de soja com adição do extrato de açafrão. O uso dos extratos de gengibre e açafrão preparados nas condições selecionadas, contribuiu para diminuir a degradação do óleo de soja durante o ensaio termoxidativo.

Palavras-chave: Capacidade antioxidante. Planejamento fatorial. Gengibre. Açafrão. Ora-pro-nobis. Composição mineral. Estabilidade térmica.

ABSTRACT

The effect of extraction solvent (ethanol, isopropanol and ethyl acetate, their binary and ternary solvent mixtures) on the antioxidant activity of *Zingiber officinale* Roscoe (ginger), *Curcuma longa* Linn (turmeric) and *Pereskia aculeata* Miller (barbados gooseberry) extracts was evaluated in order to determine the most suitable extraction solvent composition with antioxidant capacity and evaluate its protective effects on stabilizing soybean oil during thermal condition (1 h at 250 ˚C). For ginger, the extraction using ternary mixture ethanol-isopropanol-ethyl acetate (0.3:0.33:0.37, v/v/v) resulted in the condition where antioxidant activity was maximized for DPPH assay (61.39 µmol Trolox g^{-1}), ABTS (156.91 µmol Trolox g^{-1}) e FRAP (225.55 µmol $FeSO_4$ g^{-1}). For turmeric this condition was achieved in the binary mixture ethanol-isopropanol (0.52:0.48, v/v) for which was obtained the values 133.91, 665.47 µmol Trolox g^{-1} and 218.71 µmol FeSO4 g^{-1} to DPPH, ABTS and FRAP, respectively. Barbados gooseberry extracts showed a lower antioxidant activity in relation to ginger and turmeric, being that the extraction using 100 % of ethanol resulted in the maximization of antioxidant activity in the DPPH assay (9.35 µmol Trolox g^{-1}), ABTS (18.41 µmol Trolox g^{-1}) and FRAP (13.47 µmol $FeSO_4$ g^{-1}). Barbados gooseberry showed the higher concentration of Ca (3417.14 mg 100 g^{-1}), K (3263.21 mg 100 g^{-1}), Mg (659.57 mg 100 g^{-1}) e P (541.82 mg 100 g^{-1}), followed by turmeric whose concentrations were (119.35, 1225.95, 220.39, 236.65 mg 100 g^{-1} to Ca, K, Mg and P, respectively). For ginger, these minerals also occurred in higher proportion, but in lower concentrations. The addition of ginger and turmeric extracts, whose antioxidant activity was maximized, to soybean oil resulted in lower values to acid and peroxide assays ($p < 0.05$) in relation to commercial soybean oil, used as control. The addition of ginger extracts to soybean oil resulted in the lower degradation of unsaturated fatty acids, when compared to commercial soybean oil and soybean oil with turmeric extract. The ginger and turmeric extracts prepared under the selected conditions contributed to reduce the degradation of soybean oil during the thermoxidative assay.

Keywords: Antioxidant Capacity. Factorial design. Ginger. Turmeric. Barbados gooseberry. Mineral composition. Thermal stability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estruturas de flavonoides (flavona, flavan-3-ol e isoflavona). 17
Figura 2 - Estrutura dos taninos condensados. 18
Figura 3 - Típico tanino condensado composto de epigalocatequina e galocatequina. 18
Figura 4 - Tanino hidrolisável composto de um núcleo esterificado de glicose com resíduos de ácido gálico. G= resíduo de ácido gálico 19
Figura 5 - Rizoma de gengibre. 21
Figura 6 - Estruturas moleculares do [6]-gingerol e [6]-shogaol. 22
Figura 7 - Rizoma de açafrão. 23
Figura 8 - Estruturas de curcuminóides naturais. 24
Figura 9 - Folha de ora-pro-nobis. 26
Figura 10 - Estruturas dos compostos identificados nos extratos metanólicos de folhas de *Pereskia aculeata*. 27
Figura 11 - Reação entre o radical DPPH e o antioxidante (AOH). 29
Figura 12 - Reação de oxirredução do radical ABTS. 29
Figura 13 - Reação de redução da forma ($[Fe^{3+}(TPTZ_2]^{3+}$) a ($[Fe^{2+}(TPTZ_2]^{2+}$). 30
Figura 14 - Superfície de resposta para todas as possíveis misturas dos componentes 1, 2 e 3. 33
Figura 15 - Reação química proposta para o ensaio de titulação iodométrica para determinação do valor de peróxidos. 38
Figura 16 - Curva de calibração utilizando o Trolox como substância padrão e o reagente DPPH. 51
Figura 17- Curva de calibração utilizando o Trolox como substância padrão e o reagente ABTS. 51
Figura 18- Curva de calibração utilizando o Sulfato Ferroso heptahidratado como substância padrão e o reagente FRAP. 52
Figura 19 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio DPPH, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do gengibre. (R^2= 0,9344) 56
Figura 20- Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio ABTS, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados para a extração do gengibre. (R^2= 0,9745) 57

Figura 21 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1} obtidos pelo ensaio FRAP, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do gengibre. (R^2= 0,9886) 58
Figura 22 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio DPPH, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do açafrão. (R^2 = 0,9773) 63
Figura 23 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio ABTS, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do açafrão. (R^2= 0,991) 64
Figura 24 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1} obtidos pelo ensaio FRAP, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do açafrão. (R^2= 0,9806) 65
Figura 25 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio DPPH, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração de ora-pro-nobis. (R^2= 0,9345) 69
Figura 26 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio ABTS, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração de ora-pro-nobis. (R^2 = 0,987) 70
Figura 27 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}obtidos pelo ensaio FRAP, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração de ora-pro-nobis. (R^2= 0,9844) 71
Figura 28 - Espectros representativos no infravermelho do óleo de soja com o extrato de gengibre, a 25 e 250 ºC. 77
Figura 29 - Curva de calibração utilizando o ácido linoleico como substância padrão. 77
Figura 30 – Grau de insaturação do óleo de soja (OS), óleo de soja com extrato de gengibre (OG) e óleo de soja com extrato de açafrão (OA), avaliado nas temperaturas ambiente (25 °C) e 250 °C. Os resultados foram expressos em % m/m de ácido linoleico. 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Compostos do açafrão e suas atividades biológicas. 25
Tabela 2 - Níveis codificados das variáveis independentes do planejamento experimental para extração de compostos antioxidantes de extratos de gengibre, açafrão e ora-pro-nobis. 43
Tabela 3 - Valores de umidade determinados em rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis. 50
Tabela 4 - Proporção dos solventes e atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Equivalente Trolox – µmol EQT g^{-1} e Equivalente sulfato ferroso - µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}) referentes aos extratos de gengibre. 53
Tabela 5 - Proporção dos solventes e atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Equivalente Trolox – µmol EQT g^{-1} e Equivalente sulfato ferroso - µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}) referentes aos extratos de açafrão. 60
Tabela 6 - Proporção dos solventes e atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Equivalente Trolox – µmol EQT g^{-1} e Equivalente sulfato ferroso - µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}) referentes aos extratos de ora-pro-nobis. 66
Tabela 7- Índice de acidez e peróxidos das amostras: OS – óleo de soja e etanol (branco), OG - óleo de soja com extrato de gengibre e OA – óleo de soja com extrato de açafrão. Resultados expressos em média ± desvio-padrão. 73
Tabela 8 – Principais minerais extraídos dos rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis (mg $100g^{-1}$ de base seca). Resultados expressos em média ± desvio-padrão. 81

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 13

1.1 Objetivos 15

1.1.1 Objetivo geral 15

1.1.2 Objetivos específicos 15

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA 16

2.1 Compostos naturais com atividade antioxidante 16

2.2 Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) 20

2.3 Açafrão (*Curcuma longa* Linn) 22

2.4 Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) 25

2.5 Metodologias de avaliação da atividade antioxidante e capacidade redutora .. 28

2.6 Planejamento experimental de misturas 31

2.7 Polaridade de solventes extratores 34

2.8 Óleos vegetais e o processo de fritura 35

2.9 Composição mineral 39

3 MATERIAIS E PROCEDIMENTOS 42

3.1 Amostras 42

3.2 Reagentes e solventes 42

3.3 Moagem do material vegetal 42

3.4 Perda por dessecação em estufa 42

3.5 Planejamento experimental 43

3.6 Preparo dos extratos 44

3.7 Determinação da atividade antioxidante e redutora 44

3.7.1 Capacidade de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 44

3.7.2 Capacidade da captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)] 45

3.7.3 Poder de redução pelo método FRAP (*Ferric Reducing Ability Power*) 45

3.8 Extração de minerais 46

3.9 Ensaio de estabilidade do óleo vegetal 47

3.9.1 Preparo das amostras 47

3.9.2 Determinação de acidez 47

3.9.3 Índice de peróxido 48

3.9.4 Determinação do grau de insaturação 48

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 50

4.1 Perda por dessecação em estufa (umidade) **50**
4.2 Determinação dos resultados em µmol EQT g^{-1} e µmol $EQFeSO_4$ g^{-1} **50**
4.3 Atividade antioxidante e redutora dos extratos **53**
4.3.1 Extratos de gengibre 53
4.3.2 Extratos de açafrão 60
4.3.3 Extratos de ora-pro-nobis 66
4.4 Estudo de estabilidade térmica dos extratos naturais em óleo de soja **72**
4.4.1 Índice de acidez e peróxidos 72
4.4.2 Grau de insaturação 76
4.5 Comparação do efeito antioxidante entre as plantas estudadas **79**
4.6 Composição mineral **80**
5 CONCLUSÃO **83**
REFERÊNCIAS **85**

1 INTRODUÇÃO

A avaliação de plantas e suas propriedades farmacológicas tem se levantado como um dos assuntos de interesse da comunidade científica, devido ao fácil acesso, uma variedade de compostos presentes nesses matérias vegetais e sendo muito deles com atividade biológica e estrutura desconhecidas. Para várias espécies de plantas o foco tem se direcionado ao estudo e avaliação da presença de compostos com atividade antioxidante (NICÍFOROVIC et al., 2010), com o objetivo de aplicação em alimentos como conservantes naturais, ou ainda, para auxiliar na prevenção de doenças relacionadas às reações de oxidação.

Estudar, avaliar e obter compostos com atividade biológica provenientes de plantas demanda criteriosa avaliação, sendo que, a etapa de extração pode determinar e até mesmo selecionar os produtos que serão obtidos. Devido à complexidade da estrutura e das propriedades dos materiais vegetais, os resultados podem variar dependendo dos solventes extratores escolhidos, do método de extração empregado e da estação do ano em que a coleta é realizada. Portanto, é preciso avaliar o efeito do sistema extrator para determinar a condição que maximiza a atividade antioxidante.

A literatura tem descrito a atividade antioxidante de diversas plantas, dentre elas: o *Zingiber officinale* Roscoe, popularmente conhecido como gengibre (LU et al., 2014); a *Curcuma longa* Linn, conhecida como açafrão (BARANKEVICZ, 2015; CHOI, 2009); e a *Pereskia aculeata* Mill., popularmente conhecida como ora-pro-nobis (PINTO et al., 2013; SOUSA et al., 2014). Essas plantas foram avaliadas quanto à sua atividade antioxidante por diversos autores empregando diferentes metodologias de análise.

O gengibre é uma planta consumida no mundo todo como especiaria e erva medicinal (WANG et al., 2014). Além disso, apresenta diversos efeitos farmacológicos descritos tais como, em desordens cardiovasculares e gastrointestinais e no tratamento de diabetes (BUTT; SULTAN, 2011). Os rizomas do gengibre possuem um aroma forte que é atribuído a presença de gingeróis, um grupo de compostos fenólicos voláteis (SEMWAL et al., 2015). Ademais, o gengibre vem sendo considerado uma erva medicinal segura com efeitos adversos insignificantes (ALI et al., 2008).

O açafrão é uma planta que possui aplicabilidade em diversas áreas da indústria alimentícia e farmacêutica como condimento, aromatizante, corante e em medicamentos (NOR et al., 2009). A curcumina é o maior componente dos rizomas secos de açafrão a qual apresenta diversas atividades biológicas (SHEN et al., 2017) dentre elas: atividade antioxidante (TANVIR et al., 2017), anti-inflamatória (KARIMIAN et al., 2017) e antimicrobiana (BALAN et al.,

2016). A propriedade antioxidante do açafrão tem sido verificada devido à presença de compostos fenólicos (CHATTOPHADHYAY, 2004) e o torna interessante para a aplicação em alimentos e medicamentos para prevenção e/ou cura de doenças.

Outra planta de interesse é a ora-pro-nobis, isso devido ao seu alto conteúdo proteico (MARTINEVSKI, 2013) e altos níveis de minerais, fibras, vitamina A e C e ácido fólico (TAKEITI, 2009). Além disso, alguns efeitos farmacológicos descritos para a ora-pro-nobis descrevem a determinação da atividade antioxidante, a qual foi verificada em compostos extraídos de suas folhas (PINTO et al., 2013; SOUZA et al., 2016), compostos extraídos de seus frutos (ANGOSTINI-COSTA et al., 2012). Portanto, a potencial aplicação da ora-pro-nobis como antioxidante vem sendo reforçada.

Estudos estatísticos podem ser utilizados para a obtenção de informações detalhadas de uma determinada resposta (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). Os ensaios realizados para avaliação de uma propriedade farmacológica fornecem resultados que, devidamente analisados, podem indicar as melhores condições de extração de compostos ativos provenientes de plantas.

Alguns alimentos, tais como, o óleo de soja, podem apresentar instabilidade frente a condições ambientais como luz, temperatura e umidade, e também quando submetidos a tratamentos usualmente empregados como, por exemplo, o processo de fritura. O processamento térmico do óleo e soja pode acarretar em sua degradação e, consequentemente, na formação de compostos envolvidos nas alterações físicas e químicas deste alimento. Uma vez que as reações de oxidação estão efetivamente envolvidas no processo de degradação do óleo, uma alternativa para minimizar esse processo é o emprego de antioxidantes. O efeito antioxidante de compostos sintéticos e naturais já vem sendo empregado em óleos vegetais, a fim de evitar sua degradação. Todavia, os antioxidantes já utilizados pela indústria alimentícia têm se mostrado pouco efetivos na temperatura de fritura (CHOE e MIN, 2007).

Com a perspectiva de avaliar a adição de extratos naturais de rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis em óleo de soja sob aquecimento, foi desenvolvido um planejamento de misturas para determinar a composição extratora que maximiza a atividade antioxidante e aplicar os extratos otimizados ao óleo de soja para avaliar o seu efeito sobre o aquecimento do óleo. O trabalho é importante não somente para determinar e comprovar a atividade antioxidante das plantas supracitadas, mas para apresentar uma aplicação deste estudo em um processo corriqueiramente utilizado no preparo de alimentos, que é o processo de fritura.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Esta pesquisa tem por objetivo determinar a melhor composição de solventes extratores de rizomas de gengibre e açafrão e folhas de ora-pro-nobis, que maximize a resposta antioxidante, aplicar os extratos otimizados em óleo de soja submetido a aquecimento e, por fim, avaliar o efeito desta adição no óleo processado.

1.1.2 Objetivos específicos

- Desenvolver um planejamento experimental de misturas para a extração de rizomas de gengibre e açafrão e de folhas de ora-pro-nobis, utilizando os solventes etanol, isopropanol e acetato de etila;
- Determinar a atividade antioxidante, pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, dos extratos obtidos;
- Avaliar, por meio de análise estatística, qual a composição de solventes extratores que maximiza a resposta antioxidante;
- Determinar a composição mineral dos rizomas de gengibre e açafrão e das folhas de ora-pro-nobis;
- Avaliar o efeito da adição dos extratos otimizados em óleo de soja submetido a ensaio termoxidativo.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Compostos naturais com atividade antioxidante

A busca por compostos naturais com atividade antioxidante vem crescendo, pois além de manterem as propriedades organolépticas e químicas dos alimentos possuem o apelo de manutenção da saúde e prevenção de doenças (BOROSKI et al., 2015). Numa abordagem geral, os antioxidantes são substâncias que em baixas concentrações, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato (SOUSA et al., 2007).

O oxigênio possui vital importância em diversos processos biológicos, no entanto, durante o processo de estresse oxidativo o oxigênio pode levar a formação de radicais livres incluindo moléculas do radical superóxido (O_2^{-}•), radical hidroxila (OH•), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radicais peróxido lipídicos (CHAND et al., 2017). Esses radicais reagem com moléculas do organismo como DNA, RNA e proteínas em processos naturais e podem promover danos ao organismo (LIMA, 2011), os quais estão relacionados à carcinogenicidade, inflamação, envelhecimento e desordens cardiovasculares (RAZA et al., 2009).

A concentração normal de radicais livres ou espécies reativas do oxigênio (ROS) presentes no organismo são estabilizadas por enzimas antioxidantes que promovem uma proteção aos danos oxidativos (PEUCHANT et al., 2004). Algumas vezes essas enzimas não são capazes de manter o equilíbrio da concentração de radicais livres devido à sua produção descontrolada, ocasionando graves problemas de saúde (UCHIDA, 2000). Nestes casos a suplementação com antioxidantes é necessária para manter o balanço entre radicais livres e enzimas antioxidantes (CHAND et al., 2017).

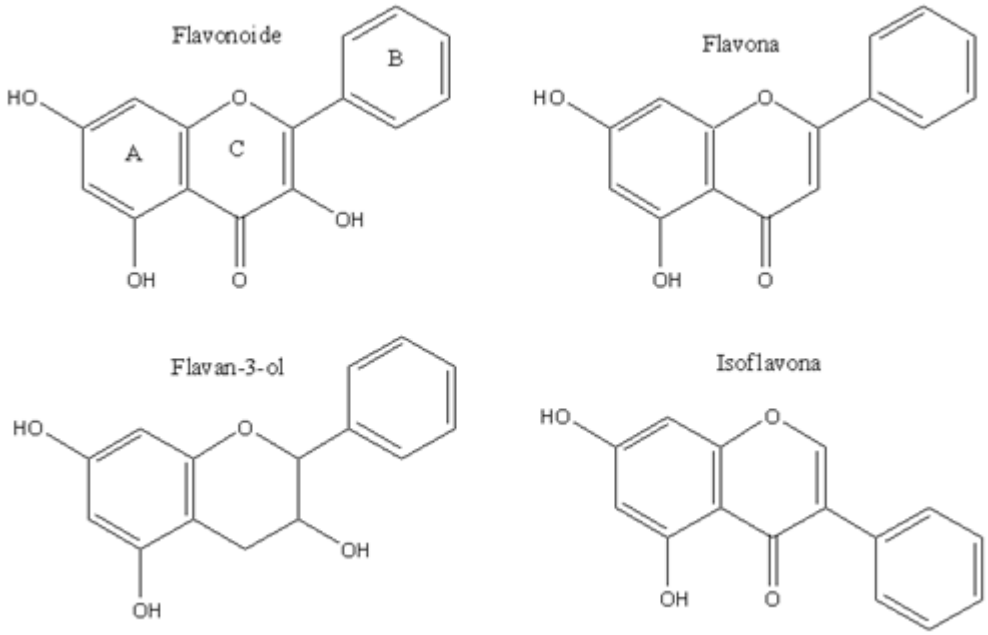
Os compostos com atividade antioxidante são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (ATOUI et al., 2005; BARREIROS et al., 2006). Compostos fenólicos, flavonoides, taninos, antocianinas e outros constituintes fenólicos vêm sendo as principais classes de antioxidantes naturais estudadas (LONNI et al., 2012), devido a sua potencial ação na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (LI et al., 2014).

Os compostos fenólicos possuem um grupo fenólico em sua estrutura base e podem exercer sua atividade antioxidante por diferentes meios. Estes compostos podem atuar diretamente no sequestro de espécies reativas, suprimir a peroxidação lipídica por reciclar outros antioxidantes e, ainda, se ligar a metais pró oxidativos, tais como ferro e cobre (MOZURAITYTE et al., 2016) evitando a formação de radicais livres (WALTER; MARCHESAN, 2011). De acordo com

Rice-Evans, Miller, Paganga (1997) os compostos polifenólicos tem apresentado melhor atividade antioxidante *in vitro* do que as vitaminas E e C em base molar.

Os flavonoides, a maior classe de compostos fenólicos em plantas (WALTER; MARCHESAN, 2011), são compostos que apresentam em sua estrutura grupamentos hidroxila fenólicos ligados em anéis, os quais conferem potencial atividade antioxidante a esta classe (RICE-EVANS, MILLER, PAGANGA, 1997). A estrutura base dos flavonoides consiste na fusão dos anéis A e C com o anel fenil B anexado (Figura 1) que pode apresentar algumas variações nos grupos ligados a esses anéis e dividir os flavonoides em subclasses incluindo: flavonois, flavonas, flavanois, catequinas, antocianidinas e isoflavonas (RICE-EVANS, MILLER, PAGANGA, 1997; XU et al., 2017).

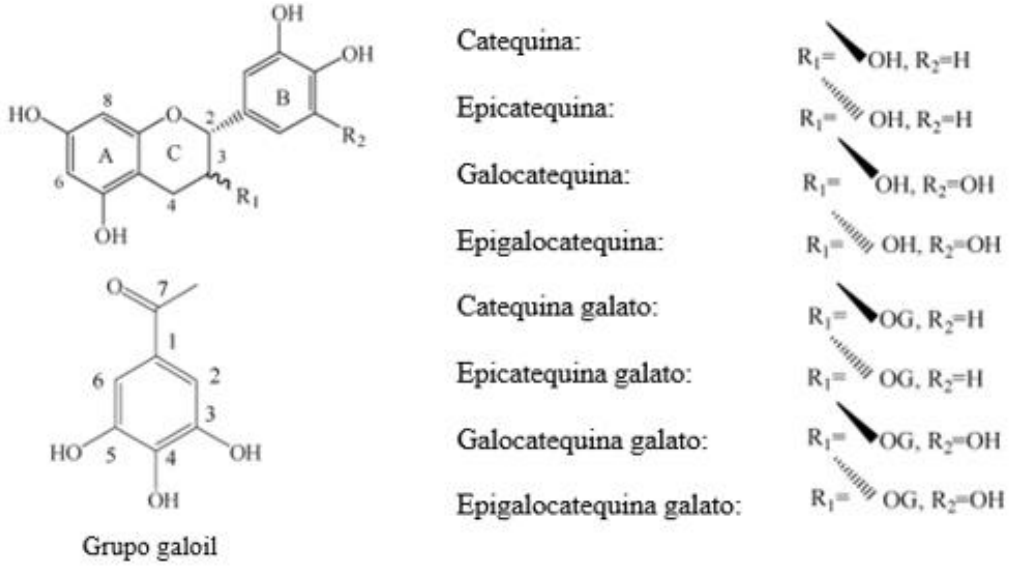
Figura 1 - Estruturas de flavonoides (flavona, flavan-3-ol e isoflavona).



Adaptado de Rice-Evans, Miller, Paganga (1997).

Os taninos compõem outro grupo de compostos fenólicos de alto peso molecular (HAGERMAN et al., 1998) e são divididos em taninos condensados e hidrolisáveis (WALTER; MARCHESAN, 2011). Os taninos condensados (Figura 2), também conhecidos como proantocianidinas, tem sua diversidade dada pela variabilidade das unidades monoméricas (diferentes padrões de hidroxilação dos anéis aromáticos A e B e diferentes configurações nos centros quirais C2 e C3) (ZHANG; LIN, 2008).

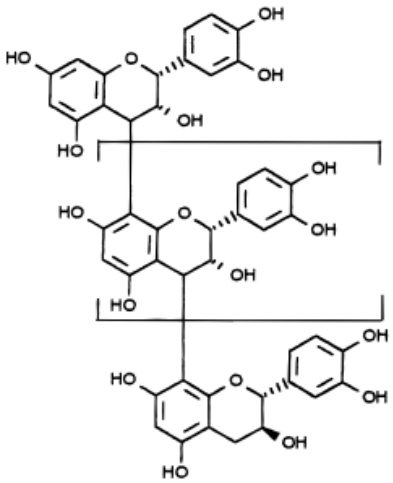
Figura 2 - Estrutura dos taninos condensados.



Fonte: Zhang; Lin (2008).

Além disso, os taninos condensados melhor caracterizados estão ligados através de uma ligação carbono-carbono entre C8 da unidade terminal e o C4 da unidade extensora (Figura 3).

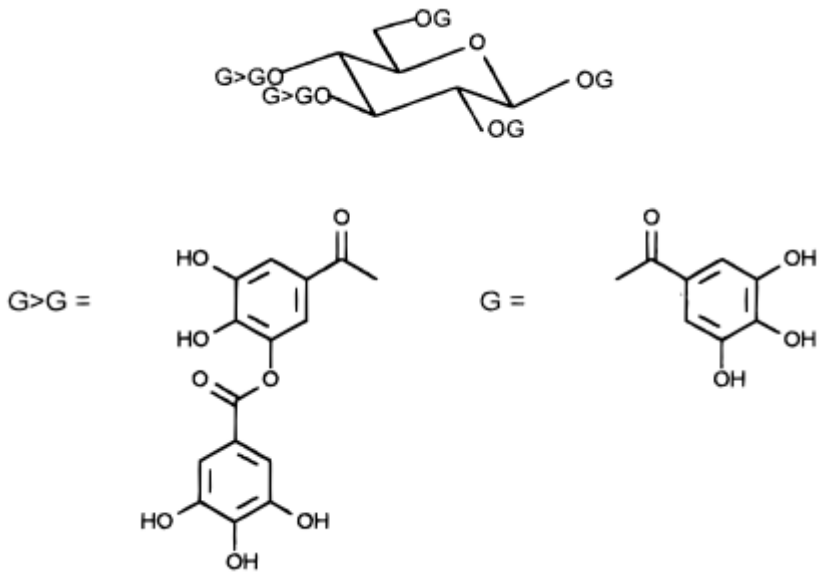
Figura 3 - Típico tanino condensado composto de epigalocatequina e galocatequina.



Fonte: Hagerman et al. (1998).

Os taninos hidrolisáveis são derivados do ácido gálico, o qual é esterificado a um núcleo poliol, sendo que os grupos galoil podem ser ainda esterificados ou oxidavelmente ligados para produzir complexos de taninos hidrolisáveis (Figura 4) (HAGERMAN et al., 1998).

Figura 4 - Tanino hidrolisável composto de um núcleo esterificado de glicose com resíduos de ácido gálico. G= resíduo de ácido gálico



Fonte: Hagerman et al. (1998).

Os taninos são descritos por possuírem não somente uma atividade antioxidante primária (doar um elétron ou um átomo de hidrogênio), mas também por serem antioxidantes secundários (habilidade de quelar íons metálicos) (AMAROWICZ, 2007). A literatura menciona que taninos condensados e hidrolisados de alto peso molecular têm mostrado atividade antioxidante mais efetiva quando comparados aos compostos fenólicos simples (HAGERMAN et al., 1998).

Os polifenóis naturais são metabólitos secundários de plantas e muitos deles podem ser encontrados em alimentos à base de plantas (LI et al., 2014). Alguns trabalhos apresentam a relação inversa da ingestão diária de alimentos ricos em compostos antioxidantes e a incidência de doenças (SIES, 1993). Contudo, a larga utilização de antioxidantes sintéticos tais como, hidróxi tolueno butilado (BHT - *butylated hydroxytoluene*) e hidróxi anisol butilado (BHA - *butylated hydroxyanisole*) pode ser responsável por danos hepáticos e carcinogenicidade (GRICE, 1988; WITSCHI, 1986). Assim, encontrar antioxidantes de fontes naturais que venham substituir aos sintéticos se torna um assunto de interesse.

Nicíforovic et al. (2010) avaliaram a atividade antioxidante de seis plantas provenientes da Sérvia (*Ballota nigra* L., *Cotinus coggygria* Scop., *Echium rubrum* L. , *Echium vulgare* L., *Gentiana asclepiadea* L., *Halacsya sendtneri* - Boiss.- Dörfl.) e seu possível emprego como fonte de antioxidantes naturais. As plantas avaliadas apresentaram atividade antioxidante,

sendo a maior atividade encontrada em extratos metanólicos de *C. coggygria* Scop. (313 mg ácido ascórbico g^{-1} de extrato seco). O autor observou uma interessante prospecção sobre a utilização destas plantas como antioxidantes naturais.

O autor Li et al. (2014) reuniu o trabalho de diversos pesquisadores relacionados ao estudo da atividade antioxidante de extratos de plantas em diferentes alimentos e sistemas biológicos. O autor concluiu que plantas ricas em compostos fenólicos apresentam potencial ação antioxidante e promovem efeitos biológicos tais como: redução do estresse oxidativo sérico, diminuição da lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada no plasma, conservação de alimentos devido ao efeito antioxidante, dentre outros.

Uma vez determinada e comprovada a atividade antioxidante de compostos naturais é possível prospectar seu emprego na prevenção de doenças causadas pela formação de radicais livres.

2.2 Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe)

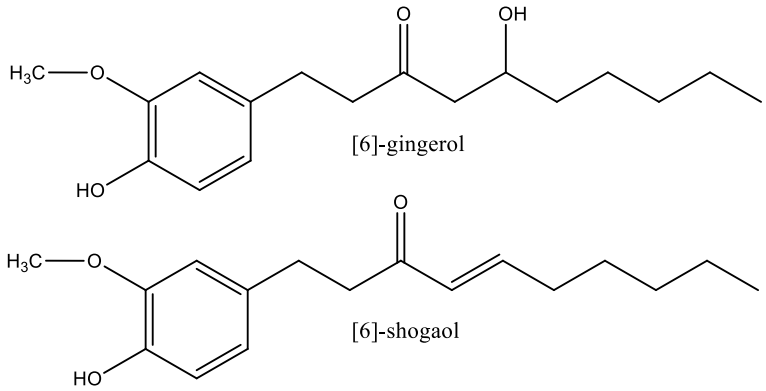
Uma das especiarias mais utilizadas na culinária é o *Zingiber officinale* Roscoe, popularmente conhecido como gengibre (Figura 5). O gengibre apresenta cerca de 50 gêneros e 1300 espécies pelo mundo, distribuídos principalmente no sul e sudeste da Ásia (WU; LARSEN, 2000). Na medicina o gengibre tem sido utilizado para o tratamento de reumatismo, doenças relacionadas ao sistema nervoso, gengivite, odontalgia, asma, acidente vascular cerebral, constipação e diabetes (TAPSELL et al., 2006; WANG; WANG, 2005) e sua aplicação tem se estendido para a indústria cosmética na fabricação de perfumes e para a indústria alimentícia na produção de bebidas e produtos de confeitaria como pães, bolos, biscoitos e geleias (ELPO; NEGRELLE, 2004).

Figura 5 - Rizoma de gengibre.

O rizoma de gengibre também é conhecido por sua atividade antioxidante, características devido à presença de gingerois, gingerones e shogaois (ANDREO, 2007) e, esta planta tem sido identificada como uma erva medicinal com efeito farmacológico de suprimir a síntese de prostaglandinas através da inibição de ciclooxigenase-1 e ciclooxigenase-2 (SHIRIN; JAMUNA, 2010).

Os compostos presentes no gengibre são numerosos e muitos dependem do local de origem e se os rizomas estão frescos ou secos. Além disso, seu odor, atribuído a presença de gingeróis (SEMWAL et al., 2015), é proveniente principalmente do óleo essencial cuja produção pode variar de 1 a 3% (ALI et al., 2008). Os componentes mais pungentes do gengibre são os compostos 6-gingerol e 6-shogaol (Figura 6), os quais estão relacionados à sua atividade antioxidante (LU et al., 2014) e seus principais compostos químicos são o zingiberona, β-bisabolona, α-farneseno, β-sesquifelandreno e α-curcumeno (PRASAD, 2015). A forte atividade sequestradora de radicais do gengibre está relacionada aos seus componentes que são fortes doadores de prótons e elétrons (KIKUZAKI; NAKATANI, 1996; PAWAR, 2011).

Figura 6 - Estruturas moleculares do [6]-gingerol e [6]-shogaol.



Adaptado de Lu et al. (2014).

Lu et al. (2014) avaliaram a atividade antioxidante dos compostos 6-gingerol e 6-shogaol presentes no gengibre pelos testes de capacidade sequestradora do radical DPPH e poder de redução do radical FRAP e observaram expressiva atividade antioxidante destes compostos.

Shirin e Jamuna (2010) determinaram a atividade antioxidante de extratos metanólicos e etanólicos de gengibre por meio do ensaio de sequestro do radical livre 2,2- difenil-1-picrilidrazila (DPPH). Os resultados mostraram alta atividade antioxidante dos extratos, demonstrando uma boa prospecção de utilização do gengibre como fonte de compostos com atividade antioxidante.

Em estudo feito por Godínez et al. (2017) extratos aquosos de *Zingiber officinale* foram avaliados quanto ao seu potencial uso como fonte de antioxidantes naturais pelos testes de DPPH e FRAP em diferentes temperaturas e tempos de extração. Os resultados de atividade antioxidante, avaliados em base úmida, foram satisfatórios, sendo, 537,4 e 555,6 mg Trolox 100 g^{-1} para o teste DPPH (90 °C por 15 min. e 55 °C por 5 min., respectivamente) e 813,7 e 1237,4 mg Fe^{2+} 100 g^{-1} para o teste FRAP (20 °C por 15 min. e 90 °C por 15 min., respectivamente), demonstrando a potencial aplicação desta planta como antioxidante natural.

2.3 Açafrão (*Curcuma longa* Linn)

A *Curcuma longa* L. (Figura 7) é uma planta tradicional da medicina chinesa e indiana amplamente utilizada como carminativo, laxativo, anti-helmíntico e no tratamento de doenças hepáticas (LONG, 2014), além de apresentar propriedades digestiva, analgésica, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, antioxidante e antidepressiva (CHATTOPHADHYAY, 2004; RAVIDRAN et al., 2007; TILAK et al., 2004;). Conhecida popularmente como açafrão, a

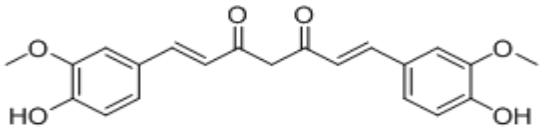
Curcuma longa L. possui aplicação em alimentos, medicamentos, como corante e aromatizante (NOR et al., 2009).

Figura 7 - Rizoma de açafrão.

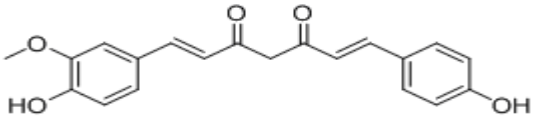
A cúrcuma é o maior componente de coloração da *Curcuma longa L.*, constituindo até 15 % de seu peso (TILAK et al., 2004), sendo que este composto é responsável por sua atividade anti-inflamatória (CHATTOPHADHYAY, 2004). Comercialmente este corante natural é utilizado como uma especiaria e uma fonte de amido industrial (BARANKEVICZ, 2015).

Alguns dos compostos presentes na *Curcuma longa* L. são apresentados na Figura 8.

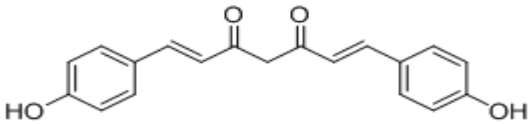
Figura 8 - Estruturas de curcuminóides naturais.



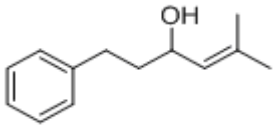
Curcumina I



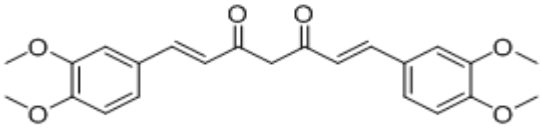
Curcumina II



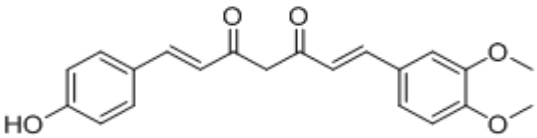
Curcumina III



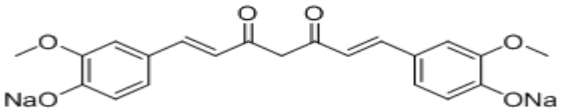
Ar-tumerona



Metilcurcumina



Demetoxicurcumina



Curcuminato de Sódio

Adaptado de Chattophadhyay (2004).

De acordo com a literatura o pó de açafrão, a cúrcuma e seus derivados, todos extraídos dos rizomas da *Curcuma longa* L. apresentam compostos com atividades biológicas (CHATTOPHADHYAY, 2004). A Tabela 1 apresenta algumas atividades biológicas de compostos provenientes do açafrão, descritas na literatura.

Tabela 1 – Compostos do açafrão e suas atividades biológicas.

Composto/extrato	Atividade biológica
Pó de açafrão	Cicatrização de feridas
Extrato etanólico	Anti-inflamatório
	Hipolipêmico
	Antitumor
	Antiprotozoário
Extrato alcoólico	Antibacteriano
Extrato aquoso	Antifertilidade
Cúrcuma	Antioxidante
	Antitumor
	Anticarcinogênico
	Antibacteriano
	Antiprotozoário
	Antiviral
	Hipolipêmico
	Hipoglicêmico
	Anticoagulante
Metilcurcumina	Antiprotozoário
Demetoxicurcumina	Antioxidante
Bisdemetoxicurcumina	Antioxidante

Adaptado de Chattophadhyay (2004).

A atividade antioxidante do açafrão e da curcumina vem sendo demonstrada na literatura. Ruby et al. (1995) avaliaram a atividade antioxidante e antitumor de curcuminóides naturais. De acordo com o autor a curcumina natural isolada da *Curcuma longa* contêm Curcumina I (diferuloilmetano) como maior componente, Curcumina II (6%) e Curcumina III (0,3%). Os resultados mostraram que as Curcuminas I, II e III reduziram em 50% a peroxidação lipídica se apresentando como bons sequestradores de radicais hidroxila.

O mecanismo de atividade antioxidante da curcumina está relacionado a uma estrutura conjugada que inclui dois fenóis metoxilados e uma forma enol de β-dicetona (CHATTOPHADHYAY, 2004). Masuda et al. (2001) isolou 6 compostos da curcumina e propôs um mecanismo de atividade antioxidante na presença de linoleato de etila, um éster de

ácido graxo poli-insaturado. Durante o processo antioxidante a curcumina reagiu com radicais peroxila do linoleato. Segundo o autor, a curcumina tem habilidade de aprisionar o radical livre promovendo uma quebra da cadeia antioxidante do radical livre.

Em estudo feito por Pulla e Lokesh (1992) a curcumina apresentou atividade antioxidante e inibição da peroxidação lipídica em microssomas de fígado de ratos, membranas de eritrócitos e em homogeneizados de cérebro. Outro autor observou que a curcumina pode promover a diminuição da peroxidação lipídica por manter a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, catalase e glutationaperoxidase a altos níveis (Araújo, 2001). Ainda, Nor et al. (2009) avaliou a oxidação acelerada de óleo de palma sob aquecimento com adição de diferentes concentrações de extrato de açafrão e o resultado encontrado foi uma diminuição no valor de peróxidos após prolongado aquecimento.

A atividade antioxidante de diferentes frações de extratos metanólicos de *Curcuma longa* L. foi determinada *in vitro* por Choi (2009). A fração em acetato de etila apresentou os melhores resultados quando avaliada pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, sugerindo que o açafrão apresenta compostos de alto potencial antioxidante.

Barankevicz (2015) avaliou a atividade antioxidante de extratos etanólicos e aquosos de cúrcuma pelos métodos de DPPH e ABTS e mostrou que os melhores resultados para o teste DPPH estão relacionados aos extratos mais hidrofílicos, e para o teste ABTS, extratos etanólicos.

2.4 Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.)

A *Pereskia aculeata*, conhecida no Brasil como ora-pro-nobis, possui diversas indicações e finalidades pela medicina popular. Seu fruto tem sido indicado como antissifilítico e expectorante e suas folhas como emolientes, isso devido ao seu alto conteúdo de mucilagens (PINTO; SCIO, 2014). Além disso, as folhas da ora-pro-nobis (Figura 9) apresentam alto teor de proteínas quando comparadas com outras plantas comumente consumidas (MARTINEVSKI, 2013) e também altos níveis de minerais, fibras, vitamina A e C e ácido fólico (TAKEITI, 2009).

Figura 9 - Folha de ora-pro-nobis.

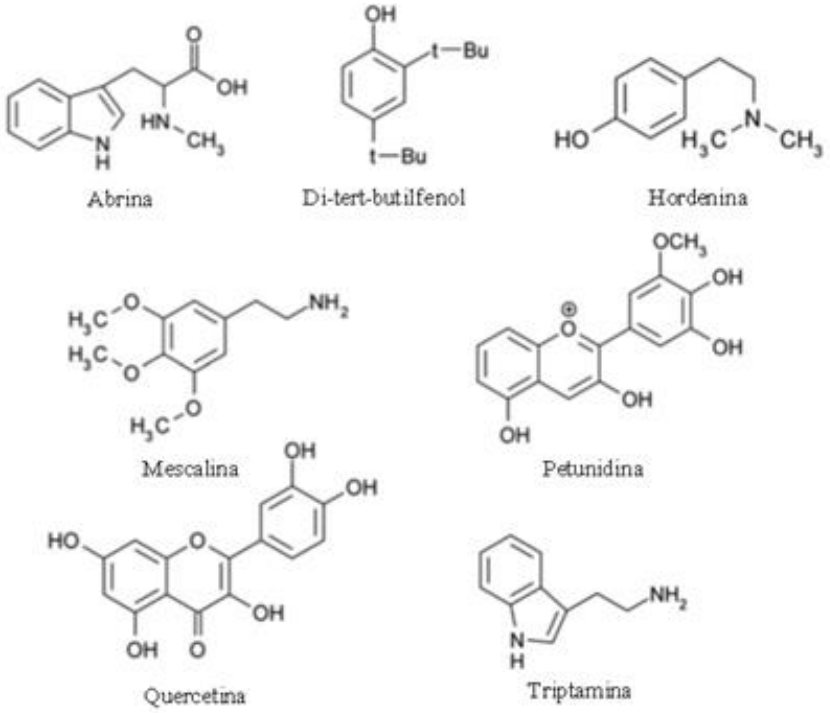
A espécie *P. aculeata* Mill. pertence à família Cactaceae, sendo que em diversas espécies desta família foram identificadas a presença de compostos fenólicos e atividade antioxidante (SOUSA et al., 2014). Angostini-Costa et al. (2012) avaliaram o perfil de carotenóides e polifenóis totais em frutos de *P. aculeata*. Foram identificados como principais produtos na polpa dos frutos de *P. aculeata*, o α-caroteno (22,7 μg g^{-1}), β-caroteno (34,3 μg g^{-1}), luteína (6,5 μg g^{-1}), α-criptoxantina/zeinoxantina (2,7 μg g^{-1}) e β-criptoxantina (2,2 μg g^{-1}). O autor ressaltou a importância da presença dos compostos α e β-caroteno, uma vez que estes são pró vitamina A.

Pouco tem sido descrito na literatura sobre os efeitos biológicos da *P. aculeata* (SOUZA, 2016). Um estudo feito por Pinto et al. (2013) reportou a atividade antioxidante de diferentes frações de extratos metanólicos de folhas de *P. aculeata* pelo teste de capacidade sequestradora do radical DPPH. O autor observou interessante atividade antioxidante devido à presença de compostos fenólicos. Sousa et al. (2014) avaliaram a atividade antioxidante de extratos aquosos, etanólicos e cetônicos de folhas de *P. aculeata Mill.* pelo método de DPPH. Os resultados mostraram elevada atividade antioxidante dos extratos cetônicos seguida de boa atividade dos extratos etanólicos, sugerindo que os compostos responsáveis pelo sequestro de radical DPPH apresentam grupos fenólicos em sua composição.

Pinto e colaboradores (2015) avaliaram a caracterização química e a atividade antinociceptiva de frações hidrometanólicas de folhas de *P. aculeata* M. Os autores observaram

a presença de diversos compostos (Figura 10), bem como ação antinociceptiva dos extratos de *P. aculeata*.

Figura 10 - Estruturas dos compostos identificados nos extratos metanólicos de folhas de *Pereskia aculeata*.



Fonte: Pinto et al. (2015).

Por fim, um estudo feito por Souza et al. (2016) avaliou a composição química do óleo essencial proveniente das folhas de *P. aculeata*, bem como verificou algumas atividades biológicas de extratos feitos a partir das folhas e três solventes diferentes. O autor identificou 24 compostos no óleo essencial, dos quais os principais constituintes foram: sesquiterpenos oxigenados (44,92 %), além dos compostos (Z, Z)-metil-4,6-hexadecadieno (16,34 %), 1-nonadecen-ol (6,18 %) e (5E, 9E)-farnesil acetona (5,70 %). O extrato metanólico apresentou a mais alta porcentagem inibitória do DPPH (73,71 %) na concentração de 10 mg/mL, em base seca.

2.5 Metodologias de avaliação da atividade antioxidante e capacidade redutora

O estudo da eficiência de compostos com atividade antioxidante em alimentos apresenta grande complexidade, visto as várias interferências dessas matrizes nos resultados. Para isso diversas técnicas vêm sendo introduzidas e é indicado utilizar diferentes metodologias para determinar o efeito antioxidante (BOROSKI et al., 2015).

A habilidade redox de moléculas presentes em alimentos e sistemas biológicos para o sequestro de radicais livres tem sido avaliada (FLOEGEL et al., 2011). Sendo que é preferencialmente considerado um efeito aditivo e sinérgico de todos os antioxidantes do que o efeito de um único composto, o que pode ser útil para estudar os benefícios de antioxidantes à saúde (BRIGHENTI et al., 2005; PUCHAU et al., 2009).

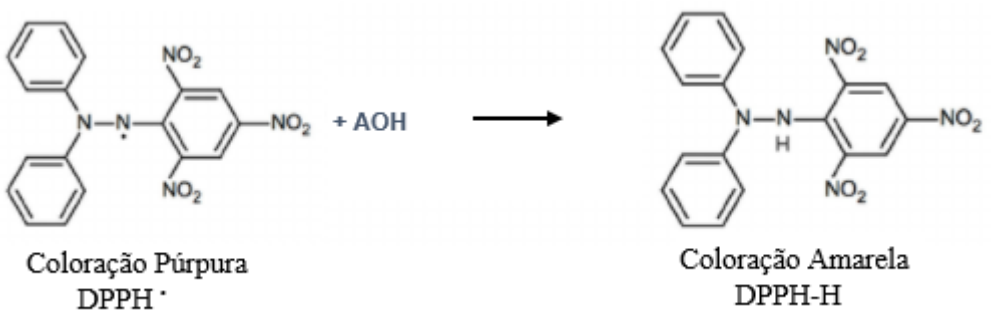
Dois tipos de abordagens são mencionados para os métodos de avaliação da atividade antioxidante, aqueles denominados ensaios de inibição, em que a extensão da capacidade sequestrante é determinada pela doação de um hidrogênio ou elétron de um radical pré-formado, assim como os ensaios que envolvem a presença de um sistema antioxidante durante a geração do radical (RE et al., 1999).

Diversos métodos têm sido utilizados para estimar a atividade antioxidante de plantas, frutas, vegetais e alimentos incluindo o ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) (FLOEGEL et al., 2011; LEONG; SHUI, 2002; RE et al., 1999), o 2,2- difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; GIL et al., 2002) e o poder de redução pelo método FRAP (*Ferric Reducing Ability Power*) (GUO et al., 2003). Cada um desses métodos difere um do outro em termos de princípio de ensaio e condições de reação (BÜYÜKTUNCEL; PORGALI; ÇOLAK, 2014).

Um dos métodos mais utilizados na avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de plantas consiste em avaliar a capacidade sequestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura/violeta com absorção máxima em 517 nm (região de 515 a 528 nm) (BOROSKI et al., 2015). Por ação de um antioxidante o DPPH• é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorvância (SOUSA, 2007) (Figura 11). Sua limitação está em avaliar a atividade antioxidante em sistemas biológicos (SHALABY; SHANAB, 2013) e tem sido descrito como não adequado para a atividade antioxidante do plasma, devido a precipitação das proteínas no meio alcoólico (MAGALHÃES et al., 2008). Entretanto, mesmo assim, muitos trabalhos descrevem a utilização deste ensaio para a avaliação da atividade antioxidante de plantas e alimentos, para os quais os resultados têm reportado boa atividade antioxidante dos

compostos e reprodutibilidade do método (ASNAASHARI et al., 2017; SELAMOGLU et al., 2017; TABARSA et al., 2017).

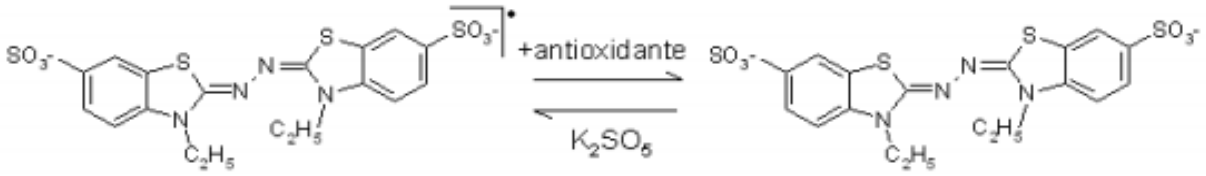
Figura 11 - Reação entre o radical DPPH e o antioxidante (AOH).



Fonte: Boroski et al. (2015).

O método de ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) é um ensaio espectrofotométrico tecnicamente simples, o que explica a sua aplicação em determinações de rotina (MAGALHÃES et al., 2008). Esta técnica tem como princípio a captura do radical ABTS ($ABTS^{\bullet+}$) na presença de compostos antioxidantes. A atividade antioxidante da amostra é medida através da sua capacidade em estabilizar o cátion radicalar ABTS presente na solução, que volta à forma do composto neutro ABTS (Figura 12). Essa reação ocasiona a descoloração da reação e a diminuição da absorvância (BOROSKI et al., 2015). Uma das vantagens deste ensaio é que a capacidade sequestrante do $ABTS^{\bullet+}$ pode ser avaliada numa ampla faixa de pH, portanto, sendo útil para estudar o efeito do pH em mecanismos de atividade antioxidantes (MAGALHÃES et al., 2008). Os resultados para este ensaio são expressos em equivalente Trolox ou, alternativamente, como massa de ácido ascórbico por 100 g ou 100 mL de amostra (MAGALHÃES et al., 2008).

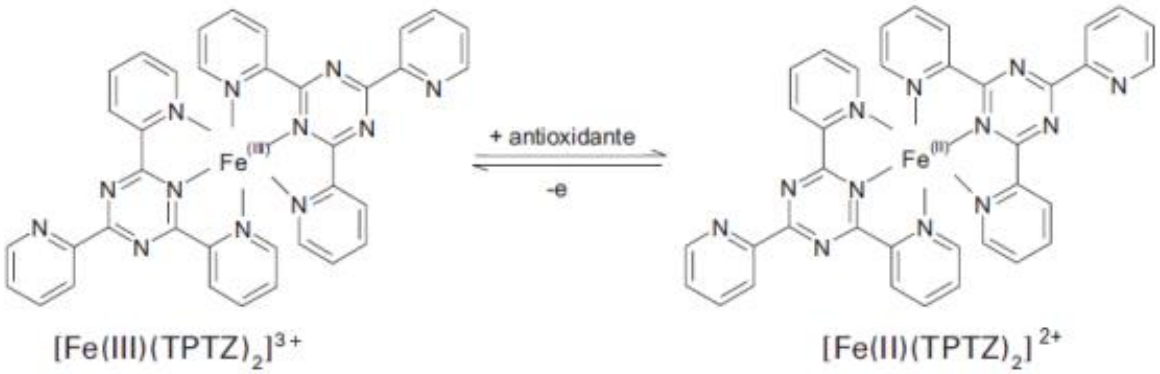
Figura 12 - Reação de oxirredução do radical ABTS.



Fonte: Rufino et al. (2007).

O ensaio de FRAP é uma técnica que utiliza o complexo férrico 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina ($[Fe^{3+}(TPTZ_2]^{3+}$) para a determinação do poder de redução de um composto (BOROSKI et al., 2015). Por ação de uma substância antioxidante redutora o complexo ($[Fe^{3+}(TPTZ_2]^{3+}$) recebe um elétron sendo reduzido ao complexo ($[Fe^{2+}(TPTZ_2]^{2+}$) o qual apresenta coloração azul intensa e é avaliado a 593 nm (Figura 13) (BOROSKI et al., 2015). Diversos estudos reportam que o poder de redução pode servir como um significante indicador de atividade antioxidante (SOWNDHARARAJAN; KANG, 2013) sendo, portanto, o FRAP um método complementar aos métodos de avaliação da atividade antioxidante.

Figura 13 - Reação de redução da forma ($[Fe^{3+}(TPTZ_2]^{3+}$) a ($[Fe^{2+}(TPTZ_2]^{2+}$).



Fonte: Rufino et al. (2006).

Os métodos DPPH e ABTS apresentam algumas especificidades em relação à solubilidade dos compostos, uma vez que na metodologia do ABTS é possível avaliar aqueles que são de natureza lipofílica e hidrofílica, já o DPPH não possui esta capacidade, sendo sensível aos compostos hidrofílicos (SHALABY; SHANAB, 2013).

Contudo, alguns trabalhos descrevem uma correlação entre os métodos DPPH, ABTS e FRAP. Em um estudo realizado por Mariutti et al. (2008) 23 ervas secas diferentes foram avaliadas quanto às suas capacidades de sequestro de radicais livres pelos ensaios de DPPH e ABTS, ambos utilizando o Trolox como substância referência. Para todas as amostras os dois métodos apresentaram boa correlação linear em relação ao Trolox, indicando que a média dos compostos presentes nos extratos etanólicos foi semelhante. O autor concluiu que os ensaios avaliados mostraram uma tendência de atividade antioxidante similar. Büyüktuncel, Porgali e Çolak (2014) avaliaram a atividade antioxidante de vinhos tintos através dos métodos DPPH, ABTS, FRAP e CUPRAC (*cupric ion reducing capacity*), para os quais os resultados foram expressos em mmol de equivalente trolox por litro de vinho. O total de atividade antioxidante

determinado pelos métodos citados variou de 7,49 – 15,93 mmol L^{-1}, 12,02 – 24,73 mmol L^{-1}, 12,65 – 27,68 mmol L^{-1} e 13,19 – 31,07 mmol L^{-1}, respectivamente. O autor concluiu que os métodos FRAP e ABTS apresentaram boa correlação em relação aos resultados. Chatzikonstantinou et al. (2017) avaliaram, dentre outras características, a atividade antioxidante total de extratos aquosos de diferentes cepas de *Chlorella* através dos ensaios DPPH, ABTS e FRAP. Os resultados indicaram diferença significativa entre as cepas utilizadas sugerindo uma vasta diversidade química de antioxidantes nesta planta.

Sendo assim, o emprego de metodologias com princípios diferentes pode trazer resultados que se complementam, além de corroborar para a comprovação da atividade de um composto.

2.6 Planejamento experimental de misturas

Grande parte dos compostos naturais medicinalmente úteis e interessantes possui em sua composição metabólitos secundários, os quais geralmente ocorrem em baixas concentrações (SOARES; BRUNS; SCARMINIO, 2009). Os produtos isolados destes metabólitos são dependentes dos solventes e métodos de extração empregados, pois a eficiência na extração depende da natureza química da planta (DICIAULA et al., 2014). Para exemplificar, o etanol extrai uma grande quantidade de flavonóides (VICTÓRIO; LAGE; KUSTER, 2009), enquanto que terpenos são seletivamente extraídos em pH neutro com acetato de etila e cetonas alifáticas (DICIAULA et al., 2014) e misturas aquosas de metanol, etanol e acetona têm sido empregadas na extração de polifenóis de plantas (GARCIA-SALAS et al., 2010). Assim, o processo extrativo necessita de cuidadosa seleção dos solventes uma vez que estes têm um papel primordial na separação de misturas.

Experimentos que empregam misturas são frequentemente encontrados nas indústrias química, farmacêutica e de alimentos, assim como em outros segmentos. Nestes experimentos os fatores são os componentes na mistura e a resposta é a variável que caracteriza a qualidade do produto (DAL BELLO; VIEIRA, 2011).

Para que a resposta seja determinada de forma coerente é necessária a utilização de um planejamento experimental baseado em princípios estatísticos. Essa ferramenta pode aprimorar o sistema a ser estudado, além de prover resultados confiáveis e processos mais produtivos. Também, saber quais as variáveis a serem estudadas num primeiro momento pode tornar produtivos o tempo e dinheiro despendidos na execução das atividades.

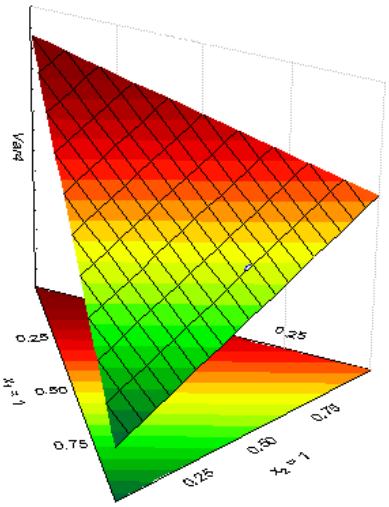
A modelagem de misturas é um exemplo de planejamento experimental ajustado pelo método dos mínimos quadrados no qual se deseja obter uma descrição mais detalhada do sistema (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010, p.21). Quando o processo a ser estudado constitui na avaliação de uma determinada resposta pelo emprego de misturas de solventes no sistema, o planejamento de misturas consegue avaliar a importância dos efeitos dos solventes e suas misturas nos produtos do extrato, com o objetivo de otimizar o processo de extração (LONNI et al., 2012). Sendo assim, aplicar a modelagem de misturas como planejamento estatístico, com o intuito de avaliar o efeito de solventes no processo extrativo de plantas para obtenção de compostos com atividades biológicas, se faz justificado.

A modelagem de misturas pode compreender a misturas de dois, três ou mais componentes (Figura 14) e apresenta uma importante diferença em relação aos planejamentos fatoriais. Nos planejamentos que avaliam a influência de um ou mais fatores em uma resposta, quando os fatores são alterados é esperado que a resposta seja afetada e que as propriedades do produto final sejam também afetadas. No planejamento de misturas se os fatores forem alterados a consequência será a alteração na resposta, porém, sem alterar as propriedades do produto final, pois as propriedades de uma mistura são denominadas pelas proporções de seus ingredientes e não por valores absolutos (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Segundo Neto, Scarminio e Bruns (2010, p.317),

> Todas as composições possíveis da mistura ternária são representadas pelos pontos pertencentes ao triângulo. Os vértices correspondem aos componentes puros e os lados às misturas binárias, enquanto os pontos situados no interior do triângulo representam as misturas de três componentes. A variação de uma dada propriedade com a composição da mistura pode ser descrita por uma superfície de resposta desenhada acima do triângulo, como a figura 8.

Figura 14 - Superfície de resposta para todas as possíveis misturas dos componentes 1, 2 e 3.



Adaptado de Neto; Scarminio; Bruns (2010).

Diversos autores vêm aplicando o planejamento de misturas como ferramenta de otimização de processos. Em um estudo realizado por Hacke et al. (2016) um planejamento experimental de misturas com otimização simplex-centróide foi utilizado para avaliar o efeito do tempo e da temperatura na extração de compostos antioxidantes de sementes de Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* cv. Sabará). O intuito foi otimizar a mistura de solventes e caracterizar a composição química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas. A proporção de solventes otimizada foi de 60% de água e 40% de propanona, a qual apresentou resultados de 8,65g GAE/100g para o conteúdo de compostos fenólicos totais e 82,79 % ± 0,50 % de atividade antioxidante pelo ensaio de DPPH. O autor observou que as composições binárias e ternárias dos solventes foram significantes e que os dados da função desejabilidade do planejamento foram importantes para avaliar a proporção de solventes que fornecesse a melhor resposta de atividade antioxidante.

Lonni et al. (2012) avaliaram a extração de compostos com atividade antioxidante e conteúdo de polifenóis totais da *Trichilia catigua* através de um planejamento de misturas. O estudo apresenta a utilização de quatro solventes no processo extrativo. Os resultados experimentais e o modelo de superfície de resposta indicaram que a mistura quaternária, com proporções aproximadamente iguais de todos os solventes, forneceu as melhores respostas em termos de conteúdo de polifenóis totais e atividade antioxidante.

Portanto, utilizar a modelagem de misturas como ferramenta de planejamento e otimização de resultados é importante não somente para a obtenção da resposta desejada, mas também para o direcionamento dos experimentos a serem realizados.

2.7 Polaridade de solventes extratores

O efeito dos solventes nas propriedades físicas das moléculas, assim como em processos químicos, apresenta alta complexidade, devido aos diversos fatores que os influenciam (DUTKIEWICZ, 1990). Algumas propriedades estão envolvidas nas interações soluto-solvente, dentre elas: forças intermoleculares, forças íon-dipolo, forças dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio, solvatação, ionização, dissociação, dentre outras (REICHARDT, 2003). Assim sendo, dependendo das propriedades químicas dos compostos a serem extraídos, ocorrerá mais ou menos solubilidade destes nos solventes extratores.

O efeito do solvente está estreitamente relacionado ao termo polaridade, no entanto esta propriedade ainda não está bem definida (DUTKIEWICZ, 1990). Para Reichardt (2003) a polaridade de um solvente pode ser interpretada, pelo momento dipolo permanente de um composto, por sua permissividade relativa ou pela média de todas as propriedades moleculares responsáveis por todas as forças de interação entre um solvente e as moléculas do soluto.

Uma das formas de medir a polaridade utilizada para solventes é através do parâmetro empírico E^{N}_{T} (parâmetro E_T normalizado, sendo E_T a energia de transição molar expressa em Kcal/mol), derivado do solvatocromismo de uma betaína N-fenolato piridínio (REICHARDT, 2003). Os valores de E^{N}_{T} são apresentados para solventes orgânicos numa escala que parte de 1,000 para a água até 0,006 para o ciclohexano. Alguns exemplos de valores de polaridade obtidos nesta escala são: solvente etanol 0,654, isopropanol 0,546 e acetato de etila 0,228 (REICHARDT, 2003), os quais mostram o decréscimo da polaridade, respectivamente. Para misturas de solventes o valor de polaridade da mistura pode ser apresentado conforme descrito por Snyder (1968) (equação 1):

$$P' = \Phi_A P_A + \Phi_B P_B + \Phi_c P_c \qquad (1)$$

Onde Φ_A, Φ_B, Φc são as frações (v/v) dos solventes A, B e C na mistura, e P_A, P_B e P_c os valores de polaridade dos solventes puros A, B e C.

A força de um solvente se refere à sua habilidade de dissolver um composto em oposição a outro. Assim, um solvente pode preferencialmente dissolver grupamentos polares como, por exemplo, nitrila e álcoois (SNYDER, 1974). O solvente e sua polaridade podem afetar a transferência de um único elétron e a transferência de átomos de hidrogênio, o que não está necessariamente relacionado ao processo extrativo, mas são etapas fundamentais para a atividade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006). Uma vez que as plantas possuem matrizes complexas e apresentam compostos com diversos grupamentos químicos, é possível inferir que a polaridade do solvente está relacionada em extrair ou não um determinado composto e, portanto, o efeito da polaridade do solvente é um fator importante no processo extrativo.

Teofilovic e colaboradores (2017) avaliaram a atividade antioxidante, por meio do ensaio de DPPH, de extratos de basil (*Ocimum basilicum* L.) obtidos por extração com água, metanol, etanol, clorofórmio, diclorometano e hexano. O autor observou que diferenças na polaridade dos solventes influenciaram nas respostas, sendo que as composições mais polares forneceram um melhor resultado em relação à atividade antioxidante.

Em um estudo feito por Lloki-Assanga et al. (2015) quatro composições diferentes de solventes utilizadas na extração de *Bucida buceras* L. e *Phoradendron californicum* foram avaliadas em relação à sua capacidade de extração de compostos fenólicos totais, flavonoides, bem como quanto à atividade antioxidante dos extratos obtidos. O autor observou que utilizar diferentes solventes no processo extrativo de ambas as espécies avaliadas afeta a obtenção de compostos fenólicos e flavonoides, além de influenciar na atividade antioxidante. Para *Bucida buceras* L. a atividade antioxidante ótima foi observada quando utilizado o solvente acetona. Para *Phoradendron californicum* os melhores resultados foram obtidos utilizando os solventes metanol e água.

2.8 Óleos vegetais e o processo de fritura

Óleos e gorduras representam uma importante parte da dieta humana, além de serem fontes ricas de energia (MORENO et al., 1999). Os óleos utilizados para o preparo de alimentos possuem em sua composição primária triacilgliceróis (TAG), nos quais os ácidos graxos mais frequentes são o ácido palmítico, oleico e ácido linoleico (FENNEMA et al., 2002). Contudo, outros componentes podem ocorrer nesses óleos como: diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, fosfolipídios, dentre outros (CHEN et al., 2011).

Embora o processamento térmico tenha por resultado a ocorrência de compostos voláteis, que são as principais causas do sabor e odor favoráveis do material frito e do óleo de fritura (ZHANG et al., 2012), a partir do momento que os óleos e as gorduras são retirados de seu ambiente natural sua decomposição inicia causando sabor e cheiro desagradáveis, sendo a oxidação atmosférica a causa mais importante de deterioração de gorduras (MORENO et al., 1999).

Durante o processo de fritura diversas reações químicas deteriorantes acontecem (hidrólise, oxidação e polimerização) e o óleo se decompõe para formar produtos voláteis e compostos monoméricos e poliméricos não voláteis (FENNEMA et al., 2002). Grande parte dos compostos voláteis evaporam, no entanto, aqueles ainda presentes no óleo sofrem mais reações químicas ou são absorvidos pelo alimento (CHOE e MIN, 2007). Os compostos não-voláteis podem mudar as propriedades químicas e físicas dos alimentos, afetar seu sabor e textura e o processo de fritura pode diminuir a concentração de ácidos graxos insaturados e aumentar o conteúdo de ácidos graxos livres (CHOE e MIN, 2007).

Em geral os ácidos graxos presentes em óleos e gorduras apresentam ligações duplas na configuração *cis*, isso devido a estereoespecificidade das enzimas que atuam na biossíntese de lipídios (MERÇON, 2010). Entretanto, a isomerização geométrica dessas duplas ligações leva a formação de ácidos graxos *trans* (AGT), devido à maior estabilidade das duplas ligações *trans* (BRÜHL, 2014).

Já é de conhecimento científico que modesta ingestão de ácidos graxos *trans* pode alterar o perfil lipídico como, por exemplo, aumento da lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein* - LDL) e diminuição da lipoproteína de alta densidade (*high density lipoprotein* - HDL) (SANIBAL; MANCINI FILHO, 2004). A HDL e a LDL são lipoproteínas associadas ao colesterol que possuem funções importantes no organismo. A HDL, possui a função de transportar os lipídios dos tecidos para o fígado, onde são degradados e excretados. A LDL, transporta os lipídios biossintetizados do fígado para o resto do organismo (SOLOMONS e FRYHLE, 2006). Os AGT são absorvidos pelo organismo humano e incorporados em triglicerídeos, fosfolipídios e colesterol nos diferentes tecidos (KRIS-ETHERTON, 1995). A ingestão de gorduras *trans* pode acarretar problemas de saúde relacionados ao acúmulo de colesterol (LDL) no organismo, tais como, doenças cardiovasculares (MERÇON, 2010).

A técnica de processamento que mais contribui para a formação de AGT é a hidrogenação de óleos vegetais. Entretanto, processos térmicos tais como, o refino de óleos alimentares e a fritura, podem levar a formação desses compostos (BHARDWAJ et al., 2011).

A fritura pode causar a deterioração do óleo, promover a mudança na estabilidade e afetar a qualidade do sabor do óleo (CHOE e MIN, 2007). Além disso, a exposição ao calor, luz, presença de traços de metais, dentre outros fatores, aceleram o processo de oxidação do óleo (ARAÚJO, 2004).

A qualidade e conservação de óleos vegetais, sujeitos ao calor intenso, podem ser avaliadas por técnicas espectroscópicas (ENGELSEN, 1997), na região do ultravioleta e do infravermelho médio, que possibilitam determinar a formação de dienos e trienos conjugados (PEGG, 2001), bem como o grau de insaturação expresso como porcentagem (m/m) de um ácido graxo poli-insaturado, como, por exemplo, o ácido linoleico (MORENO et al., 1999). A aplicação de técnicas titulométricas permite a determinação dos índices de acidez e peróxido cujos valores são alterados com a degradação do óleo.

A composição do óleo vegetal é um fator importante no que diz respeito às reações de degradação, pois os óleos vegetais com maiores concentrações de ácidos graxos insaturados são mais suscetíveis à oxidação do que óleos contendo ácidos graxos saturados, como o palmítico e o esteárico (FENNEMA et al., 2002). A determinação dos níveis de ácidos graxos poli-insaturados, tais como o ácido linoleico, auxilia na determinação da extensão da oxidação térmica (FENNEMA et al., 2002) a qual pode ser realizada por meio de um espectrofotômetro no infravermelho. O ácido linoleico é o ácido 9Z,12Z-octadecadienóico e está presente, em proporção elevada (> 50 %), nos óleos de soja, milho e girassol. Juntamente com o ácido α-linoleico, estes compostos são produtos primários da síntese de ácidos graxos poli-insaturados das plantas, sendo precursores na síntese dos ácidos araquidônico, eicosapentaenóico e docosahexaenóico. (FENNEMA et al., 2002).

Um dos determinantes do estado de conservação de um óleo vegetal é o índice de acidez (FUENTES, 2011). As reações de hidrólise, oxidação ou fermentação estão envolvidas no processo de decomposição de óleos e gorduras, alterando, geralmente, a concentração de íons hidrogênio (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A degradação do óleo leva a formação de ácidos graxos livres, os quais podem ser determinados por métodos titulométricos empregando soluções álcali-padrão para titular a acidez do produto (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Os peróxidos são substâncias resultantes da oxidação de gorduras e óleos e podem ser determinados em termos de miliequivalentes de peróxido por 1000 g de amostra (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008), sendo, por conseguinte, indicadores do grau de conservação do óleo vegetal. Os valores de peróxidos indicam a concentração de peróxidos e hidroperóxidos formados nos estágios iniciais da oxidação (MALEKI et al., 2016).

A determinação de peróxidos envolve a titulação iodométrica de amostra de óleo e a solução padrão de tiossulfato de sódio. As reações químicas a seguir (Figura 15) apresentam o princípio deste método, que consiste na oxidação do iodeto a iodo pela ação dos peróxidos. O iodo formado é titulado com tiossulfato de sódio utilizando como indicador a solução de amido (KONG; SINGH, 2011). A quantidade de tiossulfato de sódio consumido indica a quantidade de peróxidos presentes na amostra.

Figura 15 - Reação química proposta para o ensaio de titulação iodométrica para determinação do valor de peróxidos.

$$ROOH + KI \rightarrow ROH + KOH + I_2$$

$$I_2 + \text{amido} + 2Na_2S_2O_3 \text{ (azul)} \rightarrow 2NaI + \text{amido} + Na_2S_4O_6 \text{ (sem cor)}$$

Fonte: Kong; Singh (2011).

Para evitar a degradação dos óleos são adicionados antioxidantes sintéticos, os quais incluem compostos naturais como os tocoferóis e compostos sintéticos, como o BHA (butil-hidróxi-anisol), BHT (butil-hidróxi-tolueno) e TBHQ (terc-butil-hidroquinona). Esses antioxidantes promovem a diminuição da oxidação do óleo, porém, têm se apresentado menos efetivos na temperatura de fritura (CHOE e MIN, 2007).

Uma atenção tem sido voltada aos materiais vegetais, quanto à sua atuação frente às reações de degradação em óleos vegetais, submetidos a tratamento térmico durante o processamento e preparo de alimentos. Neste direcionamento alguns pesquisadores têm buscado avaliar o emprego de plantas, seja em seu estado natural ou na forma de extratos.

Lee et al. (2002) avaliaram a adição de pó de espinafre (5, 15 e 25 % m/m) em massa de farinha, como um antioxidante natural, após o processo de fritura. Cada fritura foi realizada em óleo de soja a 160 ^{o}C por 1 min, repetindo o processo a cada 20 min por 20 h. As amostras foram analisadas imediatamente após o processo e por 12 dias, sendo mantidas a uma temperatura de armazenamento de 60 ^{o}C sob ausência de luz. O autor observou que a adição de espinafre na massa promoveu uma diminuição de compostos polares no óleo, bem como diminuiu a formação de aldeídos e dienos conjugados nas amostras armazenadas.

Em outro estudo realizado por Kim e Choe (2003) a oxidação lipídica de óleo de palma foi avaliada após processo de fritura de massa de farinha com adição de extratos de ginseng (*Panax ginseng*) (1 e 3 %). A adição dos extratos ao óleo promoveu uma diminuição de ácidos

graxos livres, ácidos dienóicos conjugados, bem como uma menor degradação dos ácidos palmítico e linoleico.

Diante das informações apresentadas, é importante estudar o efeito da adição de extratos de espécies vegetais que possuam atividade antioxidante a óleos vegetais que serão submetidos ao processamento térmico durante o preparo de alimentos. E dessa forma, encontrar alternativas que resultem em uma menor degradação do óleo e consequentemente em alimentos mais saudáveis.

2.9 Composição mineral

O estudo da composição inorgânica de vegetais é um assunto que vêm ganhando espaço (ALMEIDA et al., 2002), haja vista que frutas e vegetais são fonte de vitaminas e minerais e seu consumo juntamente com os alimentos básicos proporcionam uma alimentação saudável e balanceada (JIMÉNEZ-AGUILAR; GRUZAK, 2017).

A dieta rica em minerais tem ganhado grande interesse e importância na prevenção de doenças, uma vez que compõem 4-6% do peso corporal (RAHMATOLLAH e MAHBOBEH, 2010). Os minerais principais são aqueles que requerem quantidades maiores que 100 mg por dia na alimentação, os quais se destacam o cálcio, fósforo, magnésio, enxofre, potássio, cloreto e sódio. Já os minerais zinco, ferro, silício, manganês, cobre, flúor, iodo e cromo são essenciais em quantidades muito menores, menos de 100 mg por dia (RAHMATOLLAH e MAHBOBEH, 2010).

Os vegetais possuem em sua composição diversos minerais com comprovadas funções no metabolismo humano, os quais se sobressaem: Na, K, Ca, Mg, Fe, Al, Mn, Zn, dentre outros (ALMEIDA et al., 2002). O sódio é necessário para manter o sistema de fluídos físicos, além de ser importante no funcionamento de nervos e músculos (CONSTANTIN; ALEXANDRU, 2011). O cálcio é o mineral mais abundante do corpo compondo 99% dos dentes e ossos. Além disso, atua na contração vascular, vasodilatação, funções musculares, transmissão nervosa, sinalização celular e secreção hormonal (BETO, 2015). O magnésio está envolvido em inúmeras funções biológicas, dentre elas: apresenta importante papel no metabolismo do ATP; a absorção intestinal depende da quantidade e disponibilidade de Mg na dieta (PEERENBOOM; KECK, 1980); juntamente com o cálcio, atua na formação dos ossos, dentes e outros tecidos (ALMEIDA et al., 2002). Os elementos potássio e magnésio apresentam importante papel na manutenção da estabilidade no processo biológico de remoção de fósforo (BARAT et al., 2005). O zinco e o manganês participam de diversas reações enzimáticas como ativadores essenciais,

apresentando importante papel na reprodução e crescimento (ALMEIDA et al., 2002). O alumínio é um oligoelemento, ou seja, é encontrado em quantidades baixas no corpo humano, além de não ser essencial para os seres vivos (ALMEIDA et al., 2002). A intoxicação por este composto metálico pode provocar inibição de enzimas importantes para o crescimento celular, afetar vias metabólicas que envolvem o cálcio, fósforo e flúor, bem como afetar o metabolismo do ferro (JAISHANKAR, et al., 2014). O ferro é um composto essencial para grande parte dos organismos vivos, uma vez que participa de uma variedade de processos metabólicos, incluindo o transporte de oxigênio, a síntese de DNA e o transporte de elétrons (ABBASPOUR, et al., 2014). Conforme exposto, os minerais são fundamentais para o funcionamento do organismo humano e, logo, a deficiência desses compostos pode ocasionar várias doenças (ADJEPONG et al., 2017).

Os métodos de preparo de amostras para obtenção de compostos minerais geralmente empregam digestão com ácido nítrico concentrado, seguido de aquecimento e digestão com peróxido de hidrogênio (GÂLEA et al., 2015; JIMÉNEZ-AGUILAR; GRUZAK, 2017; YANG et al., 2011). A determinação dos compostos minerais pode ser feita pelas técnicas de espectroscopia de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES - i*nductively coupled plasma optical emission spectrometry*) (JIMÉNEZ-AGUILAR; GRUZAK, 2017; YANG et al., 2011), espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS - i*nductively coupled plasma mass spectrometry*) (GÂLEA et al., 2015), ou por emissão atômica com chama (FAAS - *flame atomic absorption spectrometry*) (PANEQUE et al., 2010), dentre outras técnicas de emissão atômica.

Diversos autores vêm empregando essas técnicas para averiguar a composição mineral dos vegetais. Em um estudo realizado por Adjepong et al. (2017) foi avaliado o nível de minerais em sementes, nozes e óleos de Gana, utilizando a técnica de espectroscopia de emissão por plasma indutivamente acoplado. Segundo o autor, havia necessidade de listagem dos nutrientes contidos nos alimentos de Gana. Os resultados mostraram bons níveis de ferro em sementes de agushie (88,4 mg g^{-1}), farinha de agushie (111,0 mg g^{-1}) e soja (78,4 mg g^{-1}). Além disso, as sementes de agushie e a farinha de agushie apresentaram alta quantidade de zinco. Ainda, outra pesquisa realizada por Mergedus e colaboradores (2015) apresentou o estudo da variação da composição de minerais em diferentes partes do taro (*Colocasia esculenta*). As concentrações de Ca, Mg e Zn foram determinadas pela espectrometria de absorção atômica com chama. O conteúdo de K foi determinado por espectrometria de emissão atômica com chama. Já os compostos Fe, Mn, Cu, Cr, Pb e Cd foram determinados por absorção atômica

com atomização eletrotérmica. Os minerais encontrados no taro em concentrações altas foram K (2,240 %), P (0,139 %), Mg (1000 mg kg^{-1}) e Ca (867 mg kg^{-1}).

A busca pela caracterização das plantas em relação à presença de minerais tem se tornado necessária, levando em consideração a importância desta determinação e que muitos desses materiais vegetais ainda não foram submetidos a este tipo de pesquisa.

3 MATERIAIS E PROCEDIMENTOS

3.1 Amostras

Neste estudo folhas de *Pereskia aculeata* Miller foram coletadas em Toledo, Paraná, Brasil (2017), identificadas por especialistas e encontram-se depositadas no Herbário da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, sob o número de registro UNOP 8654. Os rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe, *Curcuma longa* Linn, bem como o óleo de soja, utilizado no ensaio de estabilidade térmica, foram adquiridos em mercado local da cidade de Toledo, Paraná-Brasil.

3.2 Reagentes e solventes

Os seguintes reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich: DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila), ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin- 6-ácido sulfônico)], TPTZ 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina ($[Fe^{3+}(TPTZ)_2]^{3+}$, Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), ácido linoleico (*cis*-12-Octadecadienoic acid) 99,0 % e *n*-valeronitrila 99,5 %. Os demais reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico.

3.3 Moagem do material vegetal

As folhas de *Pereskia aculeata* Miller, os rizomas de *Zingiber officinale* Roscoe e de *Curcuma longa* Linn, após higienizados em água corrente, foram submetidos a secagem em estufa a 40 °C até secagem completa e triturados em moinho de facas (Solab SL 30 - Moinho tipo Willey), utilizando uma malha de 20 mesh (granulometria de 0,84 mm). O material triturado foi armazenado em sacos de polietileno, submetido ao vácuo e acondicionado em freezer.

3.4 Perda por dessecação em estufa

O teor de umidade das amostras trituradas de gengibre, açafrão e das folhas de ora-pro-nobis foi determinado conforme Métodos Físico-químicos para análise em Alimentos – Instituto Adolfo Lutz (2008). Sendo assim, 2,000 ± 0,0010 g de amostra foram pesados em cápsulas de porcelana, previamente taradas, e secas em estufa (105 °C) durante 3 horas. Em

seguida as cápsulas foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas novamente. A operação foi repetida até peso constante.

O cálculo da umidade foi feito conforme equação 2:

$$\frac{100 \times N}{P} = \text{umidade a } 105\ °C \qquad (2)$$

N: n° gramas de umidade (perda de massa em g);

P: n° gramas da amostra.

3.5 Planejamento experimental

Com o objetivo de direcionar o estudo para a obtenção da melhor resposta de atividade antioxidante, foi empregada uma metodologia de superfície de respostas por modelagem de misturas, utilizando um planejamento simplex-centróide.

Para isso, foram realizados sete ensaios, todos em triplicata, com a composição de solventes definida pelo planejamento experimental. As variáveis independentes foram: fração de etanol, isopropanol e acetato de etila (v/v).

A Tabela 2 apresenta os níveis codificados das variáveis independentes analisadas no planejamento experimental.

Tabela 2 - Níveis codificados das variáveis independentes do planejamento experimental para extração de compostos antioxidantes de extratos de gengibre, açafrão e ora-pro-nobis.

Extratos	**Etanol**	**Isopropanol**	**Acetato de etila**
1	1	0	0
2	0	1	0
3	0	0	1
4	1/2	1/2	0
5	1/2	0	1/2
6	0	1/2	1/2
7	1/3	1/3	1/3

As respostas, variáveis dependentes, para a determinação da melhor composição de extração foram: capacidade de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila ($DPPH^{\cdot}$), capacidade da captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$[2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfônico)] utilizando o Trolox como padrão de referência e poder de redução pelo método FRAP, utilizando o sulfato ferroso heptahidratado como substância de referência.

A modelagem e construção dos gráficos de superfície de reposta, linhas de contorno, assim como a aplicação das funções de desejabilidade, para determinar a composição da mistura extratora que resultou na maximização de todas as respostas, foram realizadas com software Statistica, versão 8.0. Em todas as análises foi utilizado o nível de significância de 0,05.

3.6 Preparo dos extratos

Para a extração foram utilizados 15,00 ± 0,01 g de material triturado e o volume de 150 mL de solvente extrator. Os solventes utilizados foram etanol (99,5 %, Anidrol), isopropanol (99,5 %, Alphatec) e acetato de etila (99,5%, Alphatec), e suas misturas binárias e ternárias, conforme o planejamento experimental (Tabela 2). Em seguida, a mistura foi submetida à agitação em agitador magnético por 20 minutos, à temperatura ambiente na ausência de luz. Posteriormente, os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo (40 °C) sob pressão reduzida e os extratos foram transferidos quantitativamente para balões volumétricos de 25 mL, utilizando a composição extratora. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar com batoque e acondicionados em freezer.

3.7 Determinação da atividade antioxidante e redutora

3.7.1 Capacidade de captura do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

A capacidade de capturar radicais livres foi determinada utilizando o DPPH$^{\cdot}$ (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) conforme descrito na literatura (BONDET; BRAND-WILLIAMS; BERSET, 1997), com algumas modificações. A partir dos extratos obtidos foram preparadas soluções em metanol, com alíquotas de 80 µL para o gengibre, 60 µL para o açafrão e 400 µL para a ora-pro-nobis, com volume final de 10 mL. Em seguida, 50 µL das soluções diluídas foram adicionados a 2,0 mL de solução metanólica de DPPH$^{\cdot}$ (0,0824 mmol L^{-1}) e mantidas no escuro por 30 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, a absorvância foi medida em espectrofotômetro (Sprectroquant® Pharo 100 – Merck) em 517 nm, sendo utilizado o metanol como branco e o Trolox® (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-carboxílico, Sigma) como controle positivo.

Os resultados foram expressos em equivalente Trolox (µmol EQT g^{-1}). Inicialmente foi feita a construção de uma curva de calibração empregando o padrão Trolox. A partir das

concentrações de Trolox (100, 500, 1000, 1400 e 1800 µmol L^{-1}) foi possível obter a concentração de compostos presentes no extrato capazes de inibir o radical DPPH·.

3.7.2 Capacidade da captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$ [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin- 6-ácido sulfônico)]

A atividade antioxidante pelo método $ABTS^{\bullet+}$ foi realizada conforme a metodologia descrita no Comunicado Técnico 128 (RUFINO et al., 2007). Inicialmente, o radical $ABTS^{\bullet+}$ foi formado pela reação da solução estoque de ABTS a 7 mmol L^{-1} com persulfato de potássio a 140 mmol L^{-1}, o qual foi mantido a temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 horas. Decorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorvância de 0,700 (± 0,050). A partir dos extratos obtidos foram preparadas soluções em etanol, com alíquotas de 40 µL para o gengibre, 10 µL para o açafrão e 700 µL para a ora-pro-nobis, com volume final de 10 mL. Em ambiente escuro, um volume de 3,0 mL da solução do radical $ABTS^{\bullet+}$ foi adicionado a 30 µL de cada diluição dos extratos, e as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro (734 nm) após seis minutos. Para a construção da curva-padrão, foi utilizado o padrão Trolox (100, 500, 1000, 1400 e 1800 µmol L^{-1}) e os resultados foram expressos em µmol EQT g^{-1}.

3.7.3 Poder de redução pelo método FRAP (*Ferric Reducing Ability Power*)

A determinação do poder de redução foi realizada conforme metodologia descrita por Boroski et al. (2015) com algumas modificações, utilizando o complexo férrico 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina ($[Fe^{3+}(TPTZ)_2]^{3+}$ (Reagente de FRAP) como receptor de elétrons. Primeiramente foram preparadas as soluções tampão acetato de sódio (300 mmol L^{-1}, pH 3,6), 2,4,6-tripiridil-1.3.5-triazina TPTZ (10 mmol L^{-1}) e $FeCl_3.6H_2O$ (20 mmol L^{-1}). O reagente de FRAP foi preparado no momento da análise, protegido da luz e mantido a uma temperatura constante de 37 °C, sendo que a proporção da solução tampão:TPTZ:Fe^{3+} utilizada no ensaio foi 10:1:1 (v/v/v), respectivamente. O método foi iniciado pela leitura da absorvância de 3,0 mL da solução reagente FRAP em espectrofotômetro a 593 nm. A partir dos extratos obtidos foram preparadas soluções em etanol, com alíquotas variando de 200 a 320 µL para o gengibre, açafrão e para a ora-pro-nobis, com volume final de 10 mL. Em seguida, foram adicionados os volumes dos extratos e volumes de água destilada totalizando 400 µL de solução adicionada. A

solução foi homogeneizada e incubada em banho de aquecimento (37 °C) por 40 min. e, na sequência, foi feita a leitura.

Os resultados foram expressos em equivalente sulfato ferroso (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) por meio da construção de uma curva de calibração empregando concentrações conhecidas (100, 500, 1000, 1500 e 2000 µmol L^{-1}) do padrão $FeSO_4.7H_2O$.

3.8 Extração de minerais

Para esta determinação, primeiramente, a vidraria utilizada foi descontaminada conforme Miller (1998). Assim, os tubos de digestão foram imersos em solução 1 % de detergente neutro por 1 h e enxaguados em água corrente. Em seguida, os tubos foram lavados em solução HCl 0,5 mol L^{-1}, lavados novamente em água Mili-q e secados em estufa a 80 ^{o}C por 1 h.

O método de determinação de minerais foi realizado de acordo com Jiménes-Aguilar e Grusak (2015) com modificações. Sendo assim, 0,2500 ± 0,0005 g das amostras foram digeridas com 6 mL de HNO_3 concentrado (65 %, Proquímicos) por 16 h à temperatura ambiente. Transcorrido esse tempo os tubos foram colocados em bloco digestor e aquecidos a 125 °C por 2,5 h. Em seguida, foram adicionados 2 mL de H_2O_2 (Neon 35% P.A.) e os tubos mantidos a 125 °C por 2 h. Na sequência a temperatura foi elevada a 200 °C e as amostras aquecidas até completa secagem. Após resfriamento dos tubos, as amostras foram resuspendidas em HNO_3 3% e transferidas quantitativamente para balões volumétricos de 50 mL. As amostras foram armazenadas em frascos de plástico em geladeira. A análise elementar da solução de digestão foi realizada em espectrômetro de emissão atômica (Thermo Scientific - ICAP DUO 3600) por plasma acoplado (ICP-AES - *Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry*) utilizando os seguintes comprimentos de onda indicados em parênteses: P (213,62 nm), K (766,49 nm), Ca (396,85 nm), Mg (280,27), Mn (257,61 nm), Zn (213,90 nm) e Fe (238,20). Uma solução padrão multielementar (0 – 1,0 ppm) contendo todos os elementos foi utilizada para calibração. As condições experimentais das análises foram as seguintes: nebulizador ultrassônico (U5000AT – CETAC); modo de observação do detector axial; radiofrequência do gerador 27,12 MHz; potência aplicada 1150 W; vazão do gás do plasma 12 L min^{-1}; vazão do gás de nebulização 0,70 L min^{-1}; vazão do gás auxiliar 0,5 L min^{-1}; vazão de introdução da amostra 0,70 L min^{-1}; tempo de leitura da duplicata 10 s; atraso de estabilização do instrumento 0 s.

Os resultados foram expressos em mg 100 g^{-1} de amostra em base seca.

3.9 Ensaio de estabilidade do óleo vegetal

3.9.1 Preparo das amostras

Os extratos com a composição de solventes determinada pela função de desejabilidade, utilizada para maximizar a atividade antioxidante obtida a partir dos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, foram adicionados ao óleo de soja comercial. Assim, 200,0 ± 0,5 mg de amostra (rizomas de gengibre e açafrão calculados em base seca e acondicionados como extratos etanólicos) foram pesadas e adicionadas a 30 mL de óleo de soja. A mistura de extrato e óleo foi colocada em cápsulas de porcelana e aquecida em chapa de aquecimento durante 1 h na temperatura de 250 °C ± 5 °C. Após resfriamento até temperatura ambiente, o óleo processado foi armazenado em congelador, em frasco âmbar com batoque, para posterior análise de índice de peróxidos, índice de acidez e determinação do grau de insaturação. O branco (óleo de soja com 3 mL de etanol) foi processado nas mesmas condições estabelecidas para as amostras contendo os extratos.

3.9.2 Determinação de acidez

A acidez das amostras foi determinada conforme metodologia descrita em Métodos Físico-químicos para análise em Alimentos – Instituto Adolfo Lutz (2008). Assim, após preparo das soluções éter-álcool (2:1), solução de fenolftaleína e solução padronizada de NaOH 0,1 mol L^{-1} e 0,01 mol L^{-1}, foi realizado uma titulação ácido-base envolvendo 2,00 ± 0,05 g de amostra, solubilizada em 25 mL da solução éter-álcool com solução titulante de NaOH 0,1 mol L^{-1} ou 0,01 mol L^{-1}. O volume do ponto final da titulação foi determinado pelo aparecimento da coloração rósea. O branco (óleo de soja com etanol) foi avaliado nas mesmas condições empregadas para o óleo contendo os extratos de gengibre e açafrão.
O cálculo do índice de acidez foi realizado conforme a equação 3.

$$\text{Índice de acidez} = (v \times f \times 56{,}1) / P \qquad (3)$$

Onde:
v = volume (mL) de solução de hidróxido de sódio gasto na titulação;
f = fator da solução de hidróxido de sódio;

P = massa (g) de amostra;
Sendo, acidez expressa em mg de KOH g^{-1} de óleo.

3.9.3 Índice de peróxido

O índice de peróxido das amostras de óleo processado foi determinado conforme o método 965.33 da AOAC (1995). Inicialmente foram preparadas: a mistura CH_3COOH:$CHCl_3$ 3:2 (v/v), a solução saturada de iodeto de potássio e a solução padronizada 0,1 mol L^{-1} de $Na_2S_2O_3$. Foi pesado 5,00 ± 0,05 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, no qual foi adicionado 30 mL da mistura CH_3COOH:$CHCl_3$ e agitado até completa dissolução. Em seguida, foi adicionado 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio e o frasco foi agitado ocasionalmente por 1 min. A solução foi titulada lentamente com $Na_2S_2O_3$ 0,1 mol L^{-1} até o aparecimento da cor amarelo pálido. Em seguida, foi adicionado 0,5 mL de solução de amido 1% e a solução foi titulada até o desaparecimento da cor azul. Um mesmo procedimento foi realizado com o óleo de soja (branco) e o volume obtido foi subtraído daqueles observados para as amostras.
O resultado desta determinação foi expresso em miliequivalente de peróxido Kg^{-1} de amostra e pode ser calculado conforme equação 4.

Índice de peróxido = (S x N x 1000) / massa da amostra (4)

Onde:
S = volume de $Na_2S_2O_3$ gasto na titulação (volume corrigido em relação ao branco);
N = normalidade da solução de $Na_2S_2O_3$ (equivalente a molaridade).

3.9.4 Determinação do grau de insaturação

O grau de insaturação foi determinado conforme descrito por Moreno et al. (1999). Sendo assim, as amostras processadas termicamente e o padrão interno *n*-valeronitrila foram pesados em escala analítica em microtubos, misturados e agitados em vortex para garantir total homogeneização. A proporção em peso de *n*-valeronitrila nas amostras foi de 1:1. Os espectros foram obtidos em um espectrofotômetro infravermelho, com transformada de Fourier, modelo Spectrum 100 (Perkin Elmer) e módulo de refletância total atenuada universal (UATR –

universal attenuated total reflectance). Cerca de 20 uL de amostra foram utilizados. A faixa de 3500 a 650 cm^{-1} foi utilizada, com resolução de 4 cm^{-1} e 10 varreduras.

A absorvância das amostras preparadas foi medida pela altura do pico a 3008 cm^{-1}, com respeito à linha de base tangente a 3116-2718 cm^{-1}, e o pico 2246 cm^{-1}, correspondente à *n*-valeronitrila, em relação à linha de base tangente a 2408-2144 cm^{-1}.

Uma curva de calibração contendo seis misturas de composição conhecida de *n*-valeronitrila e ácido linoleico, cuja proporção variou de 0,198 % a 0,600 %, foi preparada para determinar o grau de insaturação das amostras. Nestas misturas o quociente de absorvância 3008 cm^{-1}/2246 cm^{-1} foi medido em relação à linha de base 3116-2718 cm^{-1}. O grau de insaturação foi expresso como ácido linoleico (% m/m).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Perda por dessecação em estufa (umidade)

O teor de umidade dos rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis, determinado a partir do material vegetal triturado, é apresentado na Tabela 3. Os valores foram calculados conforme equação 2.

Tabela 3 - Valores de umidade determinados em rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis.

Amostra	Umidade (% m/m)
Rizomas de gengibre	2,17 ± 0,28[1]
Rizomas de açafrão	0,25 ± 0,09
Folhas de ora-pro-nobis	4,82 ± 0,15

[1] Desvio-padrão.

4.2 Determinação dos resultados em µmol EQT g^{-1} e µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}

Os resultados em equivalente Trolox e equivalente Sulfato Ferroso foram obtidos por meio de uma curva de calibração contendo o Trolox ou o sulfato ferroso como substâncias padrão e o reagente empregado no ensaio, com as soluções de referência sendo preparadas em triplicata. As Figuras 16, 17 e 18 mostram as curvas padrão utilizadas para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP.

Figura 16 - Curva de calibração utilizando o Trolox como substância padrão e o reagente DPPH.

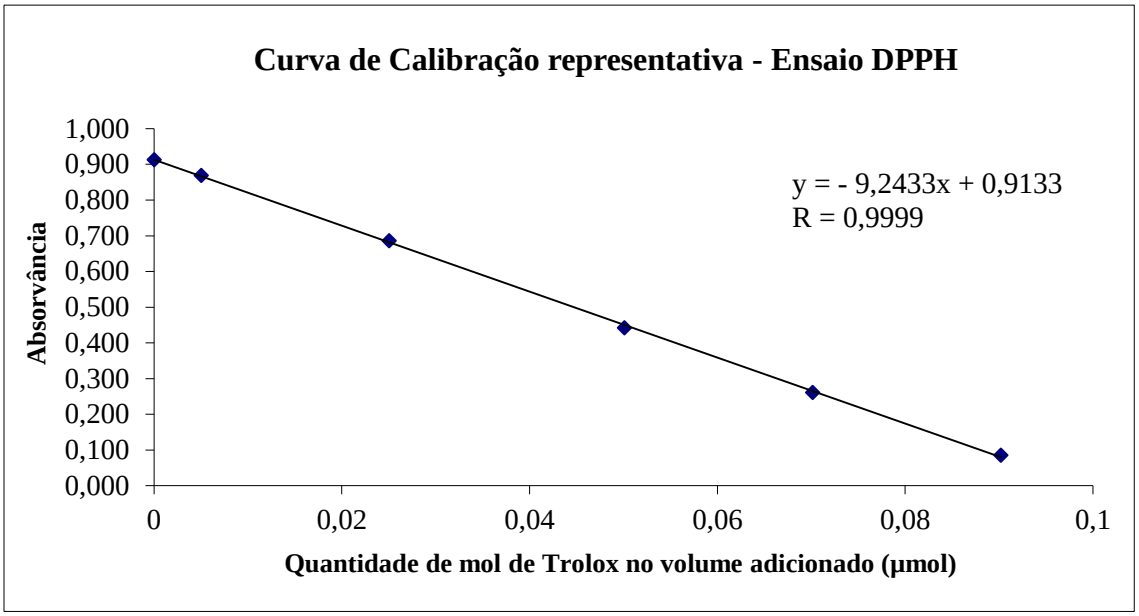


Figura 17- Curva de calibração utilizando o Trolox como substância padrão e o reagente ABTS.

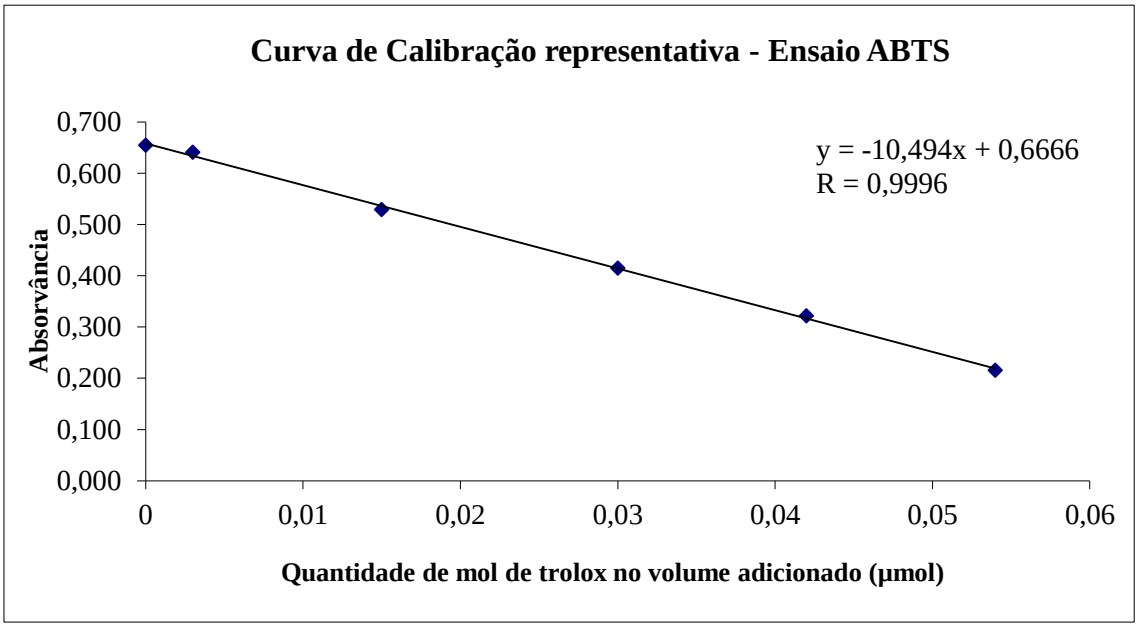
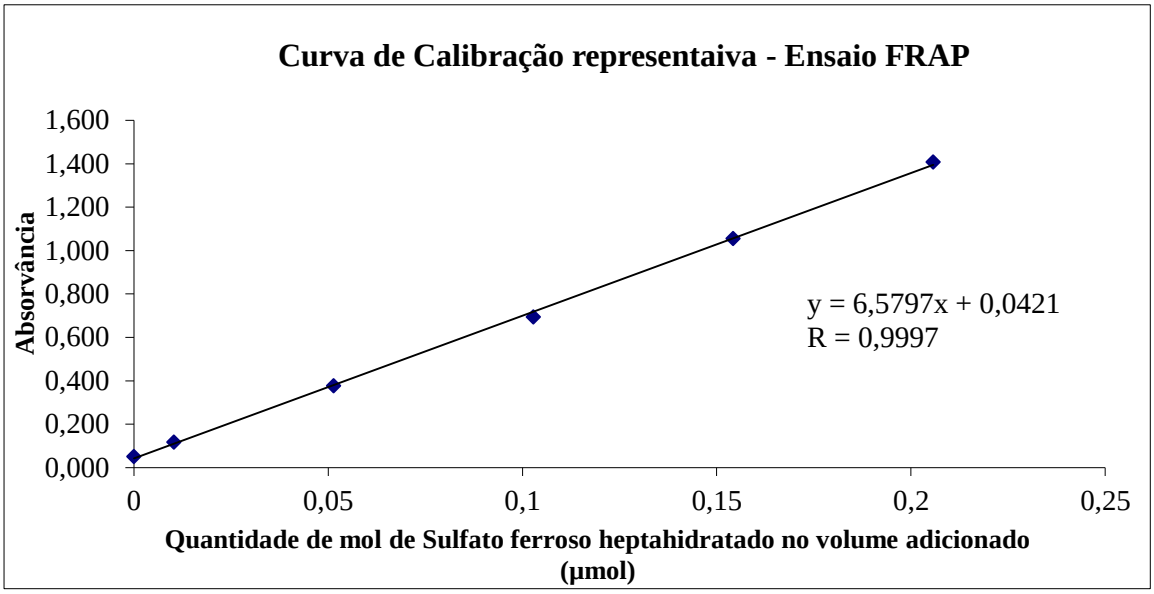


Figura 18- Curva de calibração utilizando o Sulfato Ferroso heptahidratado como substância padrão e o reagente FRAP.



O cálculo de equivalente-substância padrão foi realizado conforme a equação 5:

$$y = ax + b \qquad (5)$$

Sendo:

y: absorvância

a: coeficiente angular

b: coeficiente linear

Para todas as curvas-padrão foi observado um valor para o coeficiente de correlação (R) superior a 0,999, mostrando que os resultados foram obtidos dentro de uma faixa linear. Os dados de absorvância foram obtidos e substituídos na equação (valor de y), sendo a resposta obtida mensurada como equivalente da substância padrão e relacionada com a massa de vegetal em base seca.

4.3 Atividade antioxidante e redutora dos extratos

A partir do planejamento experimental foram avaliados, todos em triplicada, sete extratos preparados com as plantas gengibre, açafrão e ora-pro-nobis. As respostas obtidas da avaliação destes extratos nos diferentes ensaios podem ser verificadas nas Tabelas 4, 5 e 6.

4.3.1 Extratos de gengibre

A Tabela 4 apresenta o efeito da composição dos solventes dos extratos de gengibre (G) nas respostas obtidas pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, a proporção de solventes utilizada em cada amostra, a atividade antioxidante (µmol EQT g^{-1} de amostra em base seca), para os testes de DPPH, ABTS e a capacidade redutora (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1} de amostra em base seca), para o teste FRAP.

Tabela 4 - Proporção dos solventes e atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Equivalente Trolox – µmol EQT g^{-1} e Equivalente sulfato ferroso - µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) referentes aos extratos de gengibre.

Extrato	Proporção solventes	DPPH (µmol EQT g^{-1})	ABTS (µmol EQT g^{-1})	FRAP (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1})
01G	e (1)	76,23 ± 1,20[1]	112,90 ± 3,04	138,44 ± 3,71
02G	i (1)	60,90 ± 2,26	99,70 ± 5,57	121,93 ± 5,03
03G	a (1)	57,23 ± 2,20	114,44 ± 5,97	135,09 ± 5,82
04G	e:i (1/2:1/2)	42,23 ± 2,04	61,12 ± 3,63	78,69 ± 6,98
05G	e:a (1/2:1/2)	50,17 ± 6,35	92,22 ± 4,82	105,52 ± 1,77
06G	i:a (1/2:1/2)	59,57 ± 2,77	125,27 ± 2,82	115,35 ± 6,20
07G	e:i:a (1/3:1/3:1/3)	60,90 ± 2,47	154,55 ± 8,82	225,19 ± 7,48

e = etanol; i = isopropanol; a = acetato de etila; [1] Desvio-padrão.

As médias das respostas obtidas dos extratos de gengibre contendo os solventes puros, suas misturas binárias e ternárias foram comparadas e é possível observar, para o ensaio DPPH, em geral, um aumento dos resultados na seguinte ordem: mistura binária (50,65 ± 7,21 µmol de EQT g^{-1}), mistura ternária (60,89 ± 2,47 µmol de EQT g^{-1}) e solventes puros (64,78 ± 3,37 µmol de EQT g^{-1}). A melhor resposta foi observada para o solvente etanol puro (extrato 01G) seguida da mistura ternária (extrato 07G), enquanto que, a mistura e:i (extrato 04G) apresentou o resultado mais baixo.

Considerando as polaridades normalizadas do acetato de etila, isopropanol e etanol, cujos valores são 0,228, 0,546 e 0,654, respectivamente (REICHARDT, 2003, p.420), é possível verificar que a atividade antioxidante aumentou a medida que ocorreu o aumento da polaridade para extração com os solventes puros.

Fernandes et al. (2016), ao avaliarem a atividade antioxidante de gengibre brasileiro, utilizando como sistema extrator a mistura de acetona, água e ácido acético na proporção de 70:28:2 (v/v), com a extração sendo realizada por 1 h, obtiveram o valor de 29,6 µmol de EQT g^{-1} de gengibre em base seca. Em outro estudo realizado com gengibre brasileiro, Mariutti et al. (2008) realizaram a extração com etanol por 15 h, sendo obtido a atividade antioxidante de 31,2 µmol de EQT g^{-1} de gengibre em base seca. Outro estudo também realizado com gengibre brasileiro, mas que utilizou a extração com fluído supercrítico, obteve 574,8 µmol de EQT g^{-1} de gengibre em base seca.

Quanto aos dados obtidos pelo ensaio ABTS, avaliando as médias das respostas, os resultados apresentaram um aumento na seguinte ordem: mistura binária (94,14 ± 6,66 µmol de EQT g^{-1}), solventes puros (109,01 ± 8,71 µmol de EQT g^{-1}) e mistura ternária (154,55 ± 8,82 µmol de EQT g^{-1}). Para este ensaio a melhor resposta foi verificada na mistura e:i:a (extrato 07G) seguida da mistura binária i:a (extrato 06G), enquanto que, a mistura e:i (extrato 04G) apresentou a resposta mais baixa.

Nesse sentido, Sharif e Bennett (2016) avaliaram o efeito do solvente sobre a extração de polifenóis e constataram que o teor de compostos fenólicos totais foi maior para a extração por maceração utilizando etanol, seguido pela extrações com acetona e metanol. Também foi avaliado por estes autores o efeito do solvente sobre a concentração de 6-gingerol sendo verificado que a concentração foi 23,9 % maior para a extração com etanol em relação a acetona e 40,7% maior comparado a extração com metanol.

Mariutti et al. (2008), ao realizar a extração com etanol por 15 h obteve a atividade antioxidante de 91,9 µmol de EQT g^{-1} de gengibre em base seca. Przygodzka et al. (2014) ao determinar a atividade antioxidante de gengibre proveniente da Eslováquia e Tchecoslováquia, encontrou os valores de 39,4 e 52,8 µmol de EQT g^{-1} de gengibre em base seca, respectivamente para as extrações com etanol/água (1:1, v/v) e etanol.

Em relação ao método FRAP, ao avaliar as médias das repostas obtidas, pode ser verificado o aumento na capacidade redutora na seguinte ordem: misturas binárias (99,85 ± 9,50 µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}), solventes puros (131,82 ± 8,54 µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) e mistura ternária (225,19 ± 7,48 µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}). A melhor resposta também foi observada para a mistura

etanol-isopropanol-acetato de etila (extrato 07G), enquanto que a reposta mais baixa foi verificada na mistura etanol-isopropanol (extrato 04G).

Ghasemzadeh et al. (2010) ao determinar a atividade antioxidante pelo método FRAP, para extratos metanólicos de gengibre produzidos na Malásia (variedades Halia Betong e Halia Bara), encontraram 680,7 e 767,2 µmol de Fe g^{-1}, respectivamente, de gengibre em base seca.

Os melhores resultados para a mistura ternária dos extratos de gengibre são dados interessantes e indicam extração de diferentes compostos antioxidantes, devido à utilização de solventes com valores de polaridade diferentes. Além disso, o etanol e o isopropanol atuam como doadores e receptores de prótons, enquanto que o acetato de etila age exclusivamente como aceptor de prótons. Estas diferenças podem favorecer a extração de uma maior variedade de compostos com atividade antioxidante. Em um estudo feito por DiCiaula et al. (2014) o emprego de diferentes solventes (água, etanol e acetona) no rendimento, conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante de extratos brutos de cascas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) resultou como melhor resposta a mistura ternária com proporções iguais dos três solventes, apresentando um resultado maior quando comparada às misturas binárias.

A superfície de resposta foi determinada para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP em função da composição dos solventes utilizados na extração do gengibre. Em todos os casos, os modelos linear, quadrático e especial cúbico foram testados. A falta de ajuste (*Lack of fit*) para estes modelos foi avaliada por meio da Análise de Variância (ANOVA).

Os valores do coeficiente de correlação (R) verificados foram: 0,286, 0,326 e 0,148, para o modelo linear; 0,861, 0,664 e 0,319 para o modelo quadrático; e para o modelo especial cúbico os valores de R obtidos foram de 0,967, 0,987, 0,994 para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente. Conforme observado, o último modelo descrito foi mais adequado para predizer o comportamento da mistura. O modelo especial cúbico foi altamente significativo ($p < 0,001$) com todos os termos sendo significativos ($p < 0,05$) e pode ser verificado nas equações 6, 7 e 8.

$$\text{Atividade antioxidante (DPPH)} = 76,23*e + 60,90*i + 57,23*a - 105,32*e*i - 6,22*e*a + 2,04*i*a + 403,49*e*i*a. \quad (6)$$

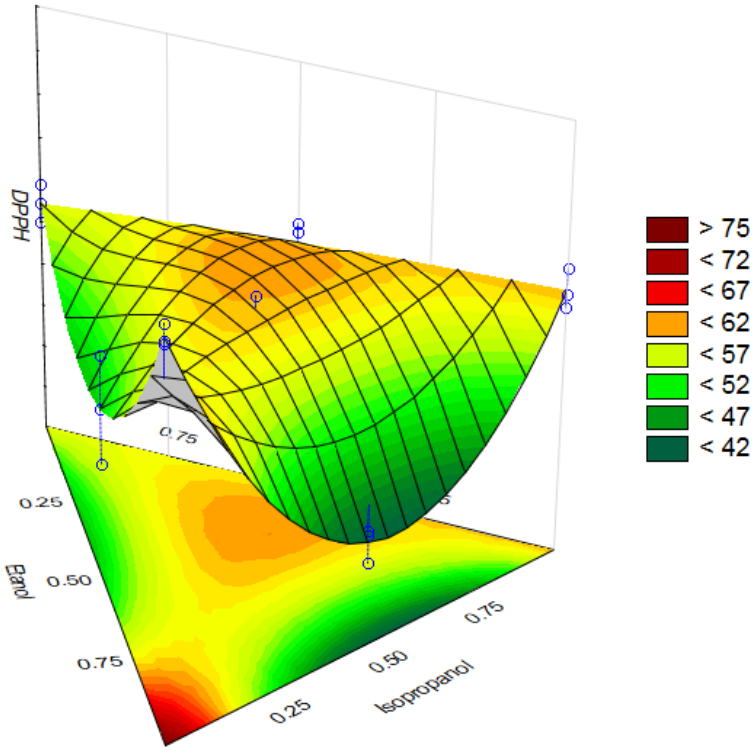
$$\text{Atividade antioxidante (ABTS)} = + 112,90*e + 99,70*i + 114,44*a - 180,71*e*i - 85,81*e*a + 72,78*i*a + 1810,68*e*i*a. \quad (7)$$

Atividade antioxidante (FRAP) = + 138,44 *e + 121,93 *i + 135,10 *a – 205,97 *e*i – 124,99 *e*a – 52,66 *i*a + 3671,74 *e*i*a. (8)

Sendo: *e etanol, *i isopropanol, *a acetato de etila, *e*i etanol + isopropanol, *e*a etanol + acetato de etila, *i*a isopropanol + acetato de etila e *e*i*a etanol + isopropanol + acetato de etila, com todas as variáveis expressas em termos de fração volumétrica.

O gráfico de superfície de resposta para a atividade antioxidante determinado pelo método DPPH é apresentado na Figura 19 em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. A melhor resposta para o ensaio DPPH é observada na região do solvente etanol puro.

Figura 19 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio DPPH, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do gengibre. (R^2= 0,9344)



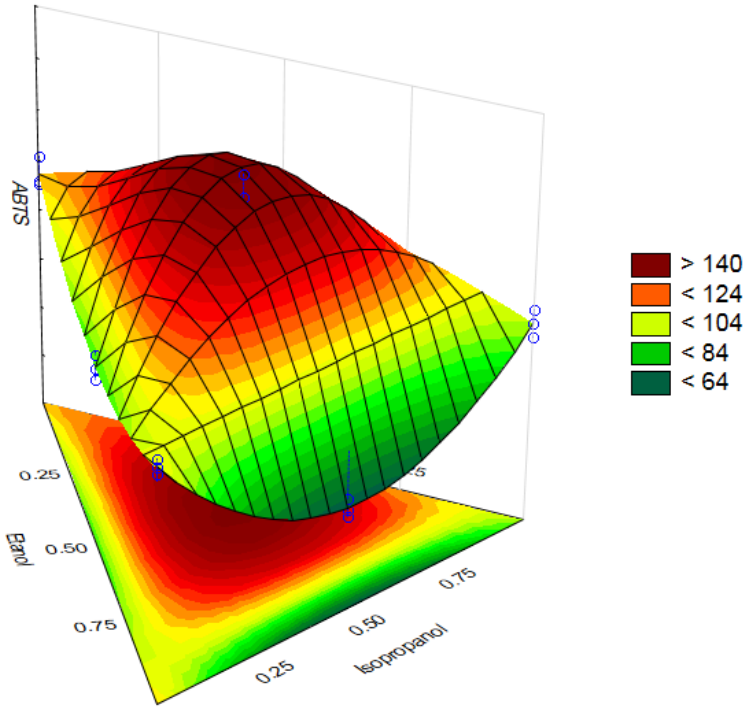
A partir dos valores para o parâmetro empírico de polaridade do acetato de etila (0,288), isopropanol (0,546) e etanol (0,654) (REICHARDT, 2003) é possível verificar que a polaridade do solvente extrator influenciou no resultado da atividade antioxidante pelo método DPPH. Para a mistura binária e:a a atividade antioxidante aumenta à medida que a proporção de acetato

de etila diminui na mistura, sendo superior a 70,3 µmol de Trolox g^{-1} para a proporção de 0,75:0,25 (v/v) e alcançando 76,2 µmol de Trolox g^{-1} para o etanol puro.

Para a mistura binária i:a o aumento da proporção de isopropanol exerce pouca influência sobre a atividade antioxidante. Para a mistura ternária e:i:a o ponto central (0,33:0,33:0,33; v/v/v) apresentou atividade antioxidante de 66,7 µmol de Trolox g^{-1}, com pouca variação para a região delimitada pelas frações de 0,10 a 0,30 de etanol, 0,25 a 0,50 de isopropanol e 0,30 a 0,55 de acetato de etila.

Em relação ao ensaio ABTS, o gráfico de superfície de resposta (Figura 20) em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila, apresentou como melhor resposta a região com proporção equivalente dos três solventes.

Figura 20- Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio ABTS, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados para a extração do gengibre. (R^2= 0,9745)



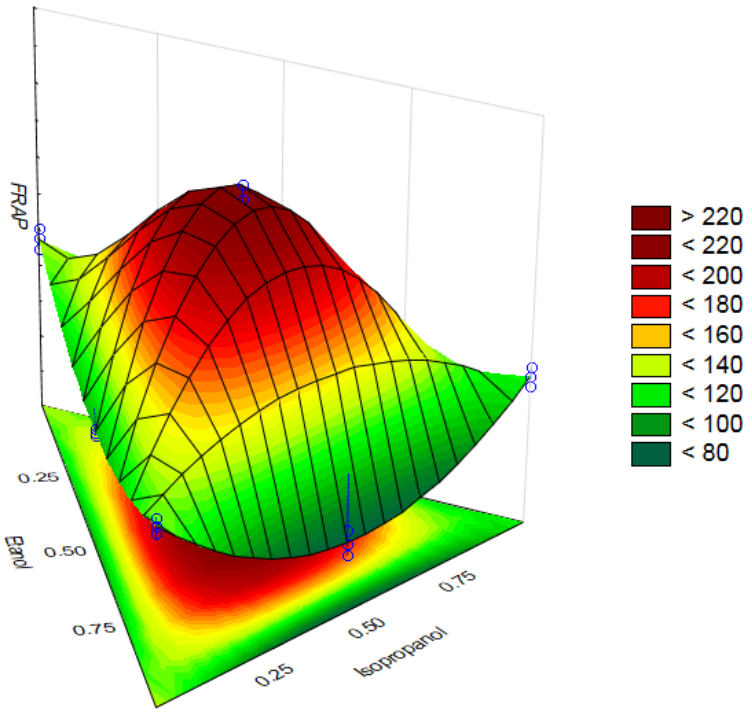
Para a mistura ternária a maior atividade antioxidante foi observada para a composição da mistura extratora variando de 0,29 a 0,53 para o acetato de etila, 0,21 a 0,47 para o isopropanol e 0,15 a 0,36 para o etanol, sendo obtido um maior valor para a composição 0,25:0,38:0,37 (v/v/v) resultando num valor de 157,23 µmol de Trolox g^{-1}.

Com o aumento da proporção de acetato de etila na mistura extratora ocorre um aumento da atividade antioxidante determinada pelo método ABTS que passa de 117,0 µmol de Trolox g^{-1} quando a proporção 0,25 (v/v) para 124,4 µmol de Trolox g^{-1} em 0,75 (v/v), passando por um máximo na proporção 0,60 (v/v).

Devido às características do ensaio ABTS, de avaliar compostos lipofílicos e hidrofílicos, e sendo a região de melhor reposta com polaridade intermediária (0,455, valor calculado a partir dos valores de polaridade da composição 0,25:0,38:0,37, v/v/v, conforme equação 1) é possível inferir que tanto a polaridade como a natureza dos solventes influenciaram a atividade antioxidante.

A superfície de resposta para o ensaio FRAP é mostrada na Figura 21 em função da proporção dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. A melhor resposta foi observada na região de proporção equivalente dos solventes.

Figura 21 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol $EQFeSO_4$ g^{-1} obtidos pelo ensaio FRAP, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do gengibre. (R^2= 0,9886)



Para a mistura ternária a maior atividade antioxidante foi observada para a composição da mistura extratora variando de 0,28 a 0,42 para o acetato de etila, 0,28 a 0,40 para o isopropanol e 0,25 a 0,38 para o etanol, sendo o ponto máximo a composição contendo 0,30:0,33:0,37 (v/v/v) resultando num valor de 225,25 µmol de Trolox g^{-1}.

Os dados obtidos para os extratos de gengibre mostraram concordância entre os métodos ABTS e FRAP, nos quais a melhor resposta foi observada na região de composição equivalente dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. Segundo Magalhães et al. (2008) o radical $ABTS^{\bullet+}$ é solúvel em água e em solventes orgânicos possibilitando a determinação da atividade antioxidante de compostos hidrofílicos e lipofílicos. Conforme observado, a composição ternária apresentou melhor resultado para este ensaio e, portanto, é possível concluir que utilizar solventes de diferentes polaridades pode proporcionar a extração de compostos de caráter hidrofílico e lipofílico, os quais podem estar relacionados à atividade antioxidante do gengibre. O ensaio de FRAP tem demonstrado ter uma boa correlação com compostos fenólicos (THAIPONG et al., 2006), indicando que os compostos presentes no gengibre como, por exemplo, o *6-gingerol* e *6-shogaol*, que possuem grupamentos fenólicos, podem estar atuando como compostos redutores.

Para a mistura binária e:i nas proporções 0,25 a 0,75 de etanol com a polaridade variando 0,573 a 0,627 foi observada a menor atividade antioxidante para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP, indicando que esta faixa de polaridade não deve ser utilizada na extração de compostos antioxidantes do gengibre.

Com o propósito de determinar a composição de solvente extrator que resulta na maximização da atividade antioxidante para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, foram utilizadas funções lineares de desejabilidade (s = 1 e t = 1), sendo empregados os valores: 39,9 (0), 45,7 (0,5) e 77,6 (1) µmol Trolox g^{-1} para o ensaio DPPH; 57,8 (0), 120,6 (0,5) e 163,4 (1) µmol Trolox g^{-1} para o ensaio ABTS; 71,8 (0), 210,2 (0,5) e 232,7 (1) µmol Trolox g^{-1} para o ensaio FRAP. Os valores entre parênteses indicam os valores de desejabilidade utilizados para cada média.

A composição obtida após a análise de desejabilidade foi 30 % de etanol, 33 % de isopropanol e 37% de acetato de etila, sendo obtido o valor de 0,83 para a desejabilidade. Para esta composição as respostas preditas foram 61,39, 156,91 µmol Trolox g^{-1} e 225,55 µmol $FeSO_4$ g^{-1} para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente.

Um teste confirmatório foi conduzido em triplicata com a extração sendo realizada com a composição do solvente extrator de 30 % de etanol, 33 % de isopropanol e 37% de acetato de etila (mesmas condições experimentais da otimização). As respostas encontradas foram 57,16, 150,78 µmol Trolox g^{-1} e 218,24 µmol $FeSO_4$ g^{-1} para os testes DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente. Esses resultados mostram concordância com os resultados previamente obtidos.

4.3.2 Extratos de açafrão

A Tabela 5 apresenta o efeito da composição dos solventes dos extratos de açafrão (A) nas respostas obtidas pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, a proporção de solventes utilizada em cada amostra, a atividade antioxidante (µmol EQT g^{-1}) calculado em base seca, para os testes de DPPH, ABTS e a capacidade redutora (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) calculado em base seca, para o teste FRAP.

Tabela 5 - Proporção dos solventes e atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Equivalente Trolox – µmol EQT g^{-1} e Equivalente sulfato ferroso - µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) referentes aos extratos de açafrão.

Extrato	Proporção solventes	DPPH (µmol EQT g^{-1})	ABTS (µmol EQT g^{-1})	FRAP (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1})
01A	e (1)	147,28 ± 5,17[1]	463,46 ± 12,98	233,71 ± 8,94
02A	i (1)	113,87 ± 3,91	629,51 ± 14,64	125,83 ± 0,85
03A	a (1)	156,80 ± 6,21	737,25 ± 12,49	83,84 ± 7,94
04A	e:i (1/2:1/2)	133,36 ± 9,23	668,37 ± 11,64	216,95 ± 8,02
05A	e:a (1/2:1/2)	230,42 ± 9,84	623,86 ± 8,84	102,25 ± 11,59
06A	i:a (1/2:1/2)	204,37 ± 9,13	492,24 ± 8,83	133,77 ± 10,96
07A	e:i:a (1/3:1/3:1/3)	196,99 ± 5,29	483,73 ± 9,42	101,19 ± 12,62

e = etanol; i = isopropanol; a = acetato de etila. [1] Desvio-padrão

As médias das respostas obtidas dos extratos de açafrão contendo os solventes puros, suas misturas binárias e ternária para o ensaio DPPH foram comparadas e, em geral, pode ser observado que a atividade antioxidante aumentou na seguinte ordem: solventes puros (139,31 ± 8,68 µmol EQT g^{-1}), misturas binárias (189,38 ± 16,29 µmol EQT g^{-1}) e mistura ternária (196,99 ± 5,29 µmol EQT g^{-1}). A melhor resposta foi verificada na composição de mistura binária e:a (extrato 05A) seguida da mistura i:a (extrato 06A), enquanto que o resultado mais baixo foi encontrado na composição com isopropanol puro (extrato 02A). Akinola et al. (2014) ao avaliarem a atividade antioxidante pelo método DPPH de rizomas de açafrão extraídos com metanol e obtiveram o resultado de 1079 µmol EQT g^{-1} de açafrão em base seca.

Em relação aos resultados encontrados para o ensaio ABTS, quando comparadas as médias das respostas, foi observado aumento na atividade antioxidante na seguinte ordem: mistura ternária (483,73 ± 9,42 µmol EQT g^{-1}), misturas binárias (594,82 ± 17,07 µmol EQT g^{-}

^{1}) e solventes puros (610,07 ± 23,21 µmol EQT g^{-1}). A melhor resposta foi observada para o solvente puro acetato de etila (extrato 03A) seguida da mistura binária e:i (extrato 04A), enquanto que o resultado mais baixo foi observado para o solvente puro etanol (extrato 01A). Tiveron et al. (2012) avaliaram a atividade antioxidante do extrato de rizomas de açafrão produzido no Brasil e obtido com etanol-água (8:2, v/v) e encontraram valores de 57,6 e 118, 6 µmol EQT g^{-1} de açafrão em base seca para os métodos de DPPH e ABTS. Para o método FRAP foi encontrado o valor de 169,1 µmol de $FeSO_4$ g^{-1}, em base seca.

Quanto ao ensaio de FRAP, ao comparar as médias das respostas, foi notado o aumento na seguinte ordem: mistura ternária (101,19 ± 12,62 µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}), solventes puros (147,79 ± 11,98 µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}) e misturas binárias (150,99 ± 17,85 µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}). A composição contendo etanol puro (extrato 01A) apresentou a melhor resposta seguida da mistura binária e:i (extrato 04A), enquanto que a resposta mais baixa foi observada para o solvente acetato de etila puro (extrato 03A). Tanvir et al. (2017) ao avaliarem a atividade antioxidante pelo método FRAP de duas variedades de açafrão cultivadas em duas regiões de Bangladesh e extraídas com etanol e encontraram valores de 19,7 a 42,0 µmol de Fe g^{-1} de açafrão em base seca. Em outro estudo que avaliou o efeito do solvente extrator sobre a atividade antioxidante de açafrão produzido no Paquistão, foi encontrado que a extração com etanol resultou nos maiores valores que foram: 170,8 µmol de EQT g^{-1} e 187,9 µmol de Fe^{2+} g^{-1} de extrato, respectivamente, para os métodos ABTS e FRAP (ASGHAR; SHAHID, 2016).

Os ensaios DPPH, ABTS e FRAP foram avaliados em função da composição dos solventes de extração do açafrão, para os quais foi determinada a superfície de resposta. Em todos os casos, os modelos linear, quadrático e especial cúbico foram testados. A falta de ajuste (*Lack of fit*) para estes modelos foi avaliada por meio da Análise de Variância (ANOVA) para o modelo obtido.

Os valores do coeficiente de correlação (R) verificados foram: 0,552, 0,450, 0,827 para o modelo linear; 0,986, 0,942 e 0,952 para o modelo quadrático; e para o modelo especial cúbico os valores de R foram 0,988, 0,995 e 0,989 para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente. Conforme observado, o último modelo descrito foi mais adequado para predizer o comportamento da mistura. O modelo especial cúbico foi altamente significativo ($p < 0,001$), com todos os termos sendo significativos ($p < 0,05$) e pode ser verificado nas equações 9, 10 e 11.

$$\text{Atividade antioxidante (DPPH)} = +147,28 *e + 113,87*i + 154,81*a + 11,17*e*i + 313,49*e*a + 276,12*i*a – 245,17*e*i*a. \quad (9)$$

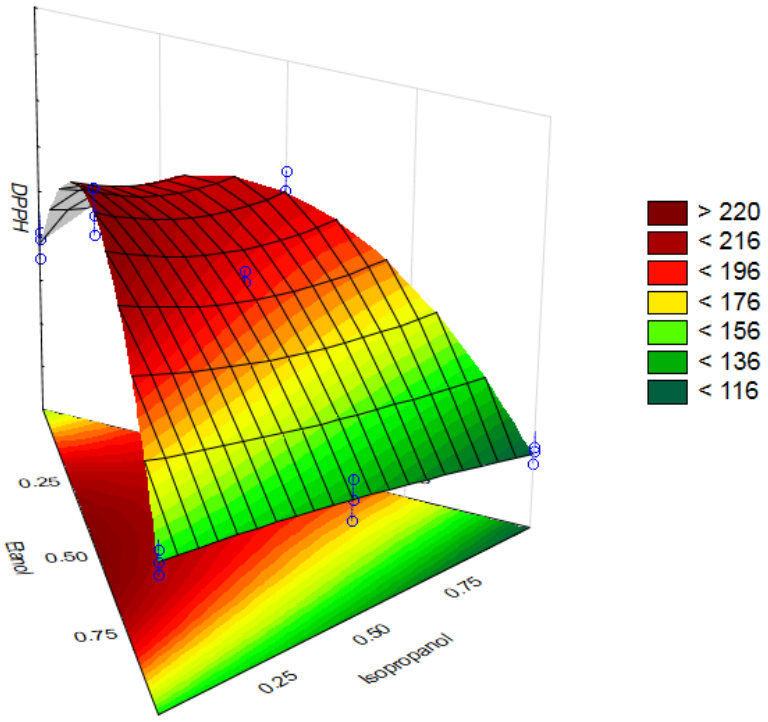
Atividade antioxidante (ABTS) = + 463,46 *e + 629,51 *i + 737,25 *a + 487,55 *e*i + 94,03 *e*a – 764,58 *i*a – 2862,39 *e*i*a. (10)

Atividade antioxidante (FRAP) = + 233,71 *e + 125,83 *i + 83,84 *a + 148,74 *e*i – 226,09 *e*a + 115,74 *i*a – 1373,54 *e*i*a. (11)

Sendo: *e etanol, *i isopropanol, *a acetato de etila, *e*i etanol + isopropanol, *e*a etanol + acetato de etila, *i*a isopropanol + acetato de etila e *e*i*a etanol + isopropanol + acetato de etila. Com todas as variáveis expressas em termos de fração volumétrica.

A superfície de resposta para o ensaio DPPH é apresentada na Figura 22 em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. Para a mistura binária e:a é possível verificar que a atividade antioxidante aumenta à medida que a proporção dos solventes se aproxima de 0,50:0,50 (v/v), sendo superior a 229,00 µmol de Trolox g^{-1} para a proporção 0,45:0,55 (v/v), alcançando o maior valor (229,42 µmol de Trolox g^{-1}) na proporção 0,50:0,50 (v/v). A mistura binária a:i apresentou atividade antioxidante maior na região de 0,50 a 0,60 para o acetato de etila e 0,40 a 0,50 para o isopropanol, tendo o valor máximo para a composição 0,57:0,43 (v/v), cujo o valor foi 204,88 µmol de Trolox g^{-1}. Para frações de isopropanol superiores a 0,55, ocorre a diminuição acentuada da atividade antioxidante.

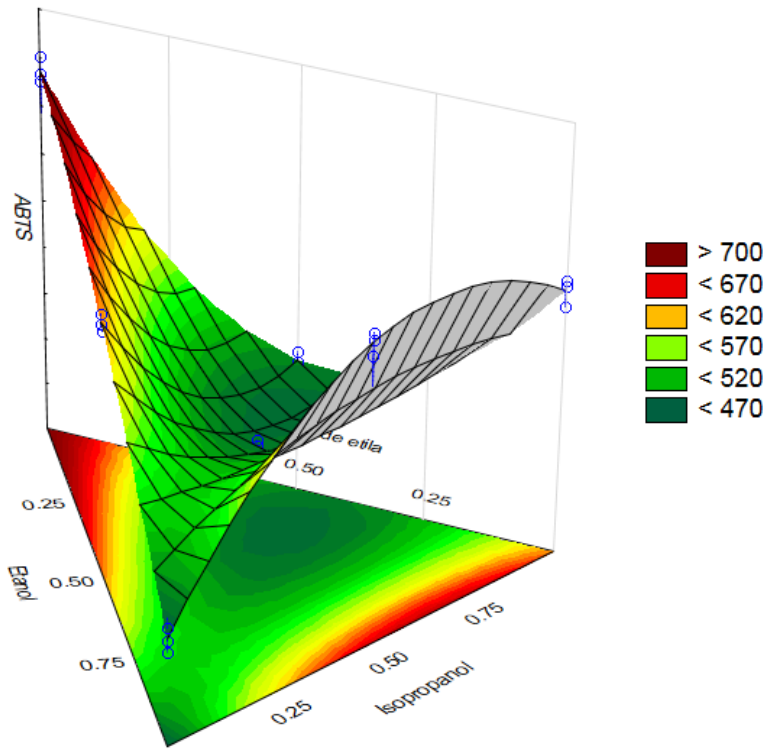
Figura 22 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio DPPH, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do açafrão. (R^2 = 0,9773)



Para a mistura ternária os maiores valores de atividade antioxidante foram observados para a composição variando de 0,36 a 0,57 para o acetato de etila, 0,00 a 0,06 para o isopropanol e 0,35 a 0,61 para o etanol, com o maior sendo obtido para 0,52 de acetato de etila, 0,45 de etanol e 0,03 de isopropanol.

A superfície de resposta para o ensaio ABTS em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila é apresentada na Figura 23. A melhor resposta foi verificada para a extração com acetato de etila puro seguida misturas binárias e:a, a:i e e:i.

Figura 23 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio ABTS, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do açafrão. (R^2= 0,991)

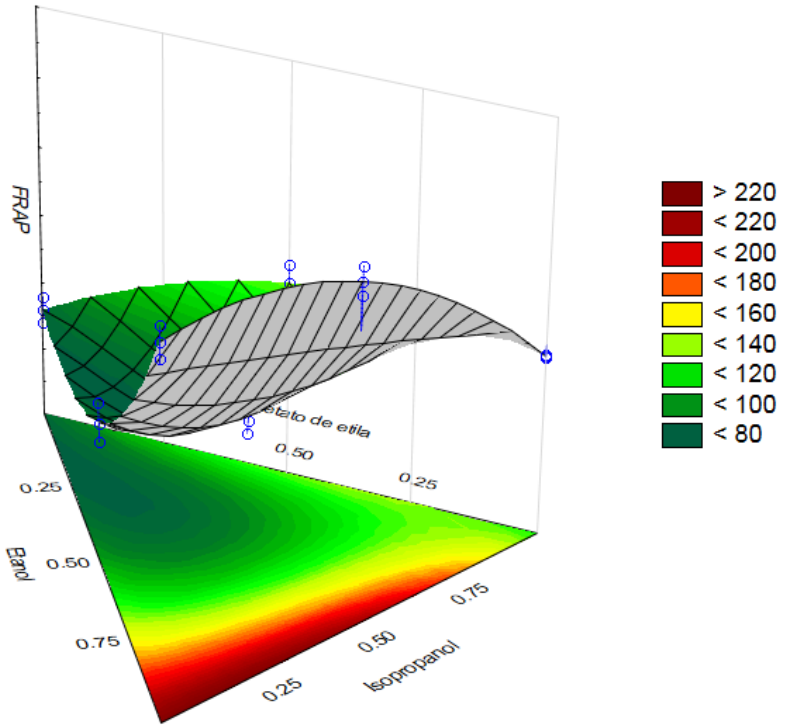


Para a mistura binária a:e a atividade antioxidante se torna maior com o aumento da fração de acetato de etila variando de 623,86 (0,5) a 737,25 (1) µmol de Trolox g^{-1}. É possível observar que a mistura binária a:i apresenta maior resposta quando a fração acetato de etila é superior a 0,85 (623,60 µmol de Trolox g^{-1}).

A análise da resposta para a mistura e:i indica que a fração de etanol entre 0,25 e 0,5 resultou nos maiores valores de atividade antioxidante obtidos para esta mistura binária (679,41 e 668,37 µmol de Trolox g^{-1}), com o maior valor sendo atingido para a composição 0,25:0,75 (v/v).

A superfície de resposta em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila, para o ensaio FRAP é apresentada nas Figura 24. As melhores respostas foram observadas para as misturas binárias e:i na região de 0,75 a 0,95, para a fração de etanol, sendo obtido o valor máximo para a composição 0,86:0,14 (v/v), que foi 236,52 µmol de Trolox g^{-1}. Para a extração contendo o solvente etanol puro foi obtido um valor próximo da melhor condição prevista para a mistura binária e:i, cujo valor foi 233,71 µmol de Trolox g^{-1}.

Figura 24 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol $EQFeSO_4$ g^{-1} obtidos pelo ensaio FRAP, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração do açafrão. (R^2= 0,9806)



Visando determinar a composição de solvente extrator que resulta na maximização da atividade antioxidante para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, foram utilizadas funções lineares de desejabilidade (s = 1 e t = 1), com os seguintes valores: 109,4 (0), 115,1 (0,5) e 240,8 (1) µmol Trolox g^{-1} para o ensaio DPPH; 450,8 (0), 740,9 (1) e 751,1 (1) µmol Trolox g^{-1} para o ensaio ABTS; 75,8 (0), 149,2 (0,5) e 242,6 (1) µmol Trolox g^{-1} para o ensaio FRAP. Os valores entre parênteses indicam os valores de desejabilidade utilizados para cada média.

A composição obtida após a análise da desejabilidade foi de 52 % de etanol e 48 % de isopropanol, sendo obtido o valor de 0,72 para a desejabilidade. Para esta composição as respostas preditas foram 133,91, 665,47 µmol Trolox g^{-1} e 218,71 µmol $FeSO_4$ g^{-1} para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente.

Um teste confirmatório foi conduzido em triplicata com a extração sendo realizada com a composição do solvente extrator de 52 % de etanol e 48 % de isopropanol, nas mesmas condições experimentais da otimização. As respostas encontradas foram 115,41, 519,60 µmol Trolox g^{-1} e 226,69 µmol $FeSO_4$ g^{-1} para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente.

O uso da mistura binária e:i é bastante adequado para a determinação da atividade antioxidante pelo ensaio FRAP, sendo também satisfatório para o ensaio ABTS, contudo, não é o mais indicado para o ensaio DPPH. Por outro lado, o uso de misturas de a:e e a:i são

adequadas tanto para os ensaios de DPPH e ABTS. De acordo com Furniss et al. (1989) os solventes etanol e isopropanol possuem melhor solubilidade em água, portanto, caráter polar mais forte, quando comparados ao solvente acetato de etila. Sendo assim, os resultados para os ensaios de FRAP e ABTS indicam a prevalência de extração de compostos de caráter hidrofílico.

Em um estudo realizado por Garcia et al. (2010), frações de folhas de *Mikania laevigata* Sch. Bip. extraídas com etanol, acetato de etila, diclorometano, acetona e clorofórmio, bem como suas misturas, foram avaliadas, por meio de um planejamento experimental simplex-centróide, quanto ao efeito dos solventes na extração de compostos naturais. O autor observou uma extração maior de compostos naturais nas misturas binárias quando comparado aos solventes puros, indicando um possível sinergismo entre as propriedades químicas de cada solvente.

4.3.3 Extratos de ora-pro-nobis

A Tabela 6 apresenta o efeito da composição dos solventes dos extratos de ora-pro-nobis (O) nas respostas obtidas pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, a proporção de solventes utilizada em cada amostra, a atividade antioxidante (µmol EQT g^{-1}) calculado em base seca, para os testes de DPPH, ABTS e a capacidade redutora (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) calculado em base seca, para o teste FRAP.

Tabela 6 - Proporção dos solventes e atividade antioxidante pelos ensaios DPPH, ABTS e FRAP (Equivalente Trolox – µmol EQT g^{-1} e Equivalente sulfato ferroso - µmol $EQFeSO_4$ g^{-1}) referentes aos extratos de ora-pro-nobis.

Extrato	Proporção solventes	DPPH (µmol EQT g^{-1})	ABTS (µmol EQT g^{-1})	FRAP (µmol $EQFeSO_4$ g^{-1})
01O	e (1)	9,35 ± 0,08[1]	18,41 ± 0,05	13,47 ± 0,69
02O	i (1)	8,47 ± 0,08	17,46 ± 0,60	14,44 ± 1,01
03O	a (1)	9,66 ± 0,24	17,86 ± 0,60	2,29 ± 0,14
04O	e:i (1/2:1/2)	8,42 ± 0,53	8,28 ± 0,46	10,43 ± 1,28
05O	e:a (1/2:1/2)	11,37 ± 0,54	11,31 ± 0,22	17,20 ± 1,02
06O	i:a (1/2:1/2)	9,37 ± 0,17	10,32 ± 0,77	11,31 ± 0,06
07O	e:i:a (1/3:1/3:1/3)	10,43 ± 0,12	9,09 ± 0,89	19,03 ± 0,24

e = etanol; i = isopropanol; a = acetato de etila. [1] Desvio-padrão

As médias das respostas obtidas pelo ensaio DPPH para os extratos de ora-pro-nobis contendo os solventes puros, suas misturas binárias e mistura ternária foram comparados, sendo observado um aumento na atividade antioxidante na seguinte ordem: composição contendo os solventes puros (9,16 ± 0,26 µmol EQT g^{-1}), misturas binárias (9,72 ± 0,77 µmol EQT g^{-1}) e mistura ternária (10,43 ± 0,12 µmol EQT g^{-1}). As melhores respostas foram verificadas na composição e:a (extrato 05O) seguida da composição e:i:a (extrato 07O). Enquanto que o resultado mais baixo foi verificado na composição e:i (extrato 04O).

Em relação ao ensaio ABTS, comparando a média das respostas obtidas, pode ser observado um aumento na atividade antioxidante na seguinte ordem: mistura ternária (9,09 ± 0,89 µmol EQT g^{-1}), mistura binária (9,97 ± 0,92 µmol EQT g^{-1}) e mistura contendo os solventes puros (17,91 ± 0,85 µmol EQT g^{-1}). A melhor resposta foi verificada na composição contendo o solvente puro etanol (extrato 01O), enquanto que, a resposta mais baixa foi observada na mistura e:i (extrato 04O).

Quanto ao ensaio FRAP, ao avaliar as médias das respostas obtidas, em geral, pode ser observado um aumento na capacidade redutora na seguinte ordem: composição contendo os solventes puros (10,06 ± 1,23 µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}), misturas binárias (12,98 ± 1,63 µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}) e mistura ternária (19,03 ± 0,24 µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}). O melhor resultado foi observado para a composição e:i:a (extrato 07O), enquanto que a resposta mais baixa pode ser verificada na composição contendo o solvente puro acetato de etila (extrato 03O).

A superfície de resposta foi determinada para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP em função da composição dos solventes utilizados na extração da ora-pro-nobis. Em todos os casos, os modelos linear, quadrático e especial cúbico foram testados. A falta de ajuste (*Lack of fit*) para estes modelos foi avaliada por meio da Análise de Variância (ANOVA) para o modelo obtido.

Os valores do coeficiente de correlação (R) verificados foram: 0,650, 0,114 e 0,535 para o modelo linear; 0,954, 0,985 e 0,947 para o modelo quadrático; e para o modelo especial cúbico os valores de R foram 0,966, 0,993 e 0,992, para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente. Conforme observado, o último modelo descrito foi mais adequado para predizer o comportamento da mistura. O modelo especial cúbico foi altamente significativo ($p < 0,001$) com todos os termos sendo significativos ($p < 0,05$) e pode ser verificado nas equações 12, 13 e 14.

Atividade antioxidante (DPPH) = + 9,35 *e + 8,47 *i + 9,66 *a – 1,96 *e*i + 7,48 *e*a + 1,20 *i*a + 14,06 *e*i*a. (12)

Atividade antioxidante (ABTS) = + 18,41 *e + 17,46 *i + 17,86 *a – 38,61 *e*i – 27,31 *e*a – 29,38 *i*a + 47,87 *e*i*a. (13)

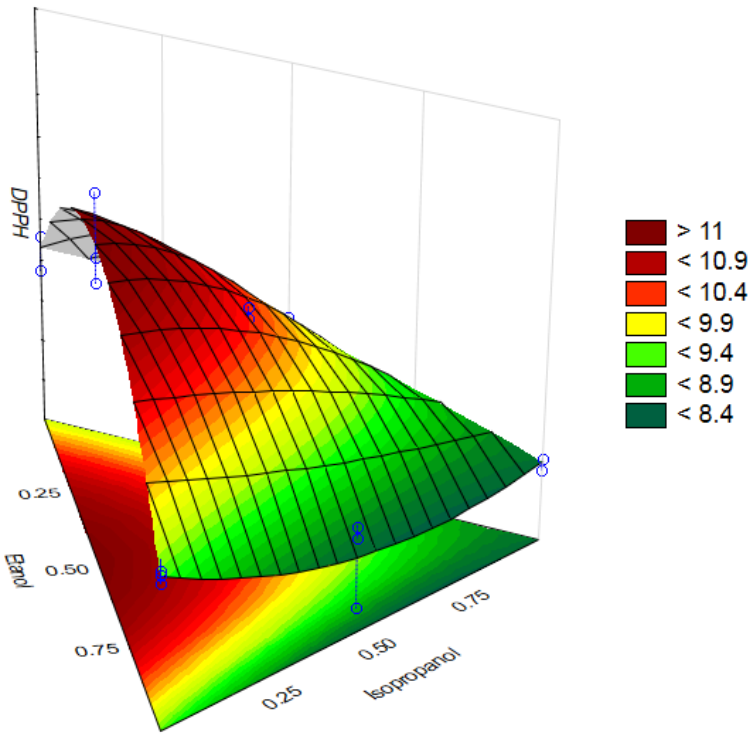
Atividade antioxidante (FRAP) = + 13,47 *e + 14,44 *i + 2,29 *a – 14,07 *e*i + 37,30 *e*a + 11,79 *i*a + 137,03 *e*i*a. (14)

Sendo: *e etanol, *i isopropanol, *a acetato de etila, *e*i etanol + isopropanol, *e*a etanol + acetato de etila, *i*a isopropanol + acetato de etila e *e*i*a etanol + isopropanol + acetato de etila, com todas as variáveis expressas em termos de fração volumétrica.

A superfície de resposta para o ensaio DPPH é apresentada na Figura 25 em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. A melhor resposta é observada na composição e:a próximo à região 0,50:0,50 (v/v), sendo o valor máximo obtido na mistura 0,48:0,52 (v/v), que foi de 11,38 µmol Trolox g^{-1}.

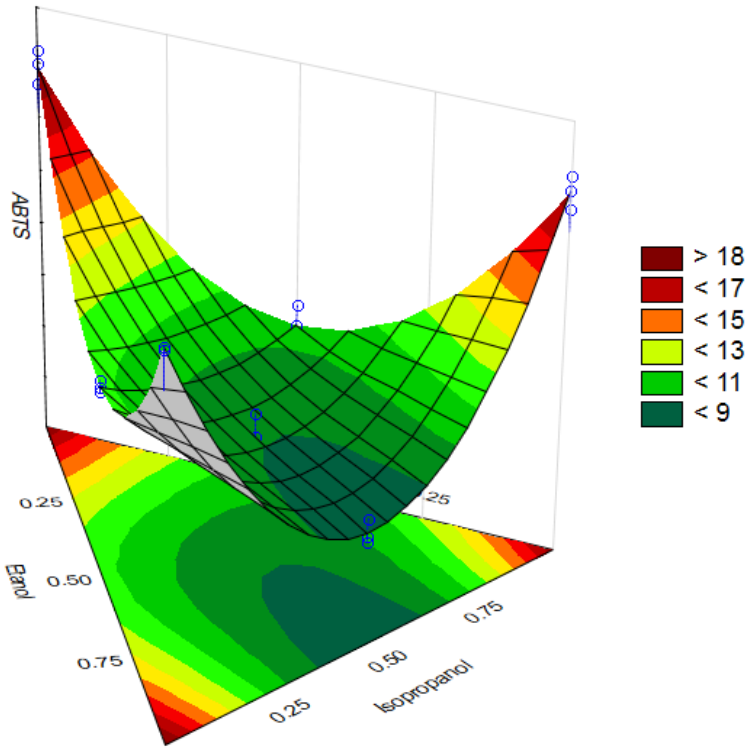
Para a mistura ternária e:i:a foram observados os melhores valores de atividade antioxidante na região de 0,39 a 0,64 de acetato de etila, 0,35 a 0,62 de etanol e 0,00 a 0,06 de isopropanol, sendo que a composição 0,49:0,02:0,49 (v/v/v) apresentou o valor máximo de atividade antioxidante (11,34 µmol Trolox g^{-1}).

Figura 25 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio DPPH, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração de ora-pro-nobis. (R^2= 0,9345)



A superfície de resposta para o ensaio ABTS em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila é apresentada na Figura 26. A melhor resposta é verificada para a extração com etanol, seguida da extração acetato de etila e isopropanol.

Figura 26 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQT g^{-1} obtidos pelo ensaio ABTS, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração de ora-pro-nobis. (R^2 = 0,987)

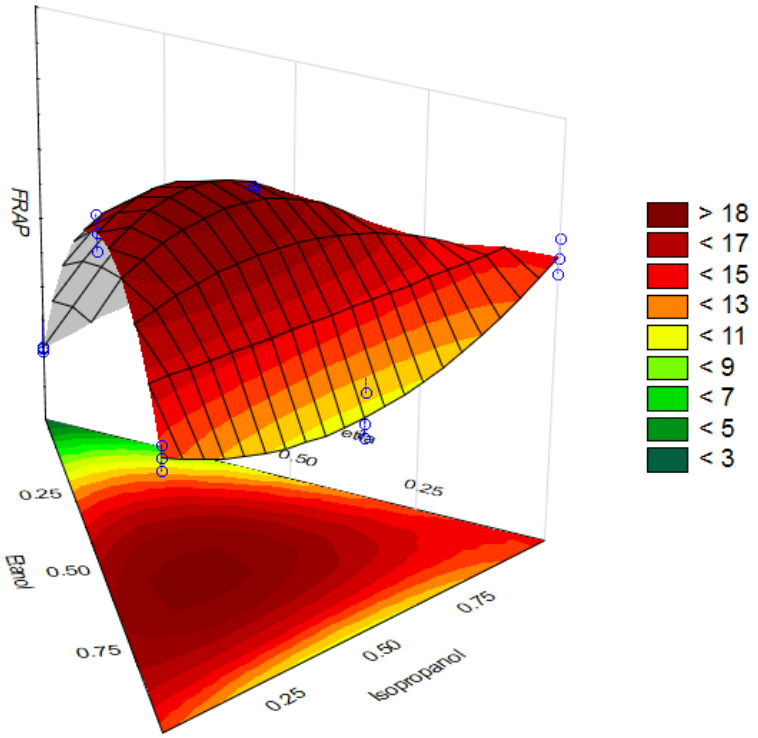


Pérez-Jiménez e Saura-Calixto (2006) estudaram o efeito do solvente na atividade antioxidante de uma solução ácido gálico:catequina (1M:1M), avaliada por diferentes métodos. Os autores encontraram diferenças significativas nos resultados para o método ABTS, o qual apresentou melhores respostas quando utilizado solventes mais polares. Portanto, é possível concluir que este método é adequado para avaliar compostos de caráter hidrofílico.

A superfície de resposta para o ensaio FRAP é apresentada na Figura 27, em função da proporção dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. A melhor resposta pode ser observada para a mistura e:i:a, sendo o valor máximo obtido (19,47 µmol Trolox g^{-1}) na composição 0,42:0,24:0,34 (v/v/v).

Para a composição binária e:a os melhores valores de atividade antioxidante foram observados a medida que a proporção do solvente etanol aumenta na mistura, alcançando o valor máximo na composição 0,65:0,35 (v/v), que foi de 18,04 µmol Trolox g^{-1}. Entretanto, para frações de etanol superiores a 0,80 foi observado a diminuição da resposta.

Figura 27 - Superfície de resposta do modelo especial cúbico dos valores preditos de µmol EQ$FeSO_4$ g^{-1}obtidos pelo ensaio FRAP, em função dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila utilizados na extração de ora-pro-nobis. (R^2= 0,9844)



A fim de estabelecer a composição de solvente extrator que forneça os melhores valores de atividade antioxidante para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, foram utilizadas funções lineares de desejabilidade (s = 1 e t = 1), sendo empregados os valores: 7,8, 8,9 e 11,9 µmol Trolox g^{-1} para o ensaio DPPH; 7,9, 17,2 e 18,4 µmol Trolox g^{-1} para o ensaio ABTS; 2,1, 6,7 e 19,3 µmol Trolox g^{-1} para o ensaio FRAP; sendo os valores de desejabilidade, respectivamente, 0, 0,5 e 1, para todos os ensaios.

A composição obtida após a análise de desejabilidade foi de 100 % de etanol, sendo obtido o valor de 0,76 para a desejabilidade. Para esta composição as respostas preditas foram 9,35, 18,41 µmol Trolox g^{-1} e 13,47 µmol $FeSO_4$ g^{-1} para os ensaios de DPPH, ABTS e FRAP, respectivamente.

De acordo com os dados obtidos pode ser verificado uma relação entre a predominância de melhores respostas e a utilização do solvente etanol. Dentre os solventes empregados na extração o etanol possui maior solubilidade em água (FURNISS et al., 1989), portanto é um solvente de caráter polar.

Souza et al. (2016) ao avaliar a atividade antioxidante do extrato metanólico da folhas de ora-pro-nobis pelo método DPPH, verificaram que a porcentagem de inibição foi 73,7 % em relação ao ácido ascórbico, para as concentrações de 10,0 mg mL^{-1} de extrato e 5,0 μg mL^{-1} de ácido ascórbico. Para os extratos de éter de petróleo e clorofórmio, na concentração de 10,0 mg mL^{-1}, as porcentagens de inibição em relação a solução de ácido ascórbico 5,0 μg mL^{-1} foram 24,6 e 5,3 %, respectivamente.

Considerando que a otimização em relação aos três ensaios indicou que a extração com etanol é mais adequada, compreende-se que os compostos que respondem pela atividade antioxidante para esta espécie são principalmente de caráter polar.

4.4 Estudo de estabilidade térmica dos extratos naturais em óleo de soja

4.4.1 Índice de acidez e peróxidos

Os valores de acidez e peróxidos foram obtidos pela média de 9 análises do óleo de soja (OS), óleo de soja com extrato de gengibre (OG) e óleo de soja com extrato de açafrão (OA), à temperatura ambiente (25 ºC) e após tratamento térmico (1h a 250 ºC) (Tabela 7). Os extratos vegetais empregados nestas análises foram aqueles obtidos a partir da composição de solventes determinada pela função de desejabilidade que foi utilizada para maximizar a atividade antioxidante dos ensaios estudados. Após a obtenção destes extratos, o solvente foi eliminado em evaporador rotativo, sendo redissolvidos em etanol devido ao baixo ponto de ebulição deste solvente, 78,2 ºC (PUBCHEM) e sua consequente evaporação durante o processo de fritura.

Tabela 7- Índice de acidez e peróxidos das amostras: OS – óleo de soja e etanol (branco), OG - óleo de soja com extrato de gengibre e OA – óleo de soja com extrato de açafrão. Resultados expressos em média ± desvio-padrão.

	Temperatura (ºC)	
Tratamentos	25	250
Índice de acidez (mg de KOH g^{-1})		
OS	0,070Aa ± 0,0017	0,84Ba ± 0,02
OG	0,067Ab ± 0,0010	0,58Bb ± 0,01
OA	0,067Ab ± 0,0015	0,24Bc ± 0,01
Índice de peróxidos (meq Kg^{-1})		
OS	3,30Aa ± 0,23	6,86Bb ± 0,42
OG	3,27Aa ± 0,42	6,06Ba ± 0,47
OA	3,00Aa ± 0,21	5,83Ba ± 0,26

Letras maiúsculas diferentes na mesma linha correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste t de Student. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

De acordo com os resultados foi observado um aumento no valor de acidez devido ao aquecimento do óleo de soja à 250 ºC. Este aumento ocorreu tanto para o óleo de soja sem adição dos extratos como para o óleo de soja contendo os extratos de gengibre e açafrão. A adição do extrato de açafrão resultou no menor valor do índice de acidez (0,24 mg de KOH g^{-1}), que foi significativamente menor ($p < 0,05$), em relação ao extrato de gengibre e ao óleo de soja sem adição de extratos. Os resultados indicam que o aumento da temperatura favoreceu a formação de ácidos graxos livres, concordando com o comportamento descrito para os óleos vegetais na literatura (FENNEMA et al., 2002).

As reações químicas que mais ocorrem em processos de fritura incluem reações de hidrólise, oxidação e polimerização (CHOE; MIN, 2007). A água proveniente do alimento é fonte primária para as reações de hidrólise durante a fritura. Com o aumento da temperatura ocorre a volatilização dos compostos formados do processo térmico, o que pode retardar as reações de hidrólise. No entanto, em temperaturas mais altas, produtos de degradação, como glicerol, podem acelerar o processo de hidrólise (ZHANG et al., 2012), apresentando como consequência um aumento no valor de acidez.

Embora o valor de acidez tenha aumentado para todos os tratamentos, as amostras de óleo contendo o extrato de gengibre (OG) e o extrato de açafrão (OA), após o processamento térmico, apresentaram valores de acidez inferiores (31,3 % e 72%, respectivamente) aos

observados para o controle (OS). Essa informação indica que os extratos naturais devem estar retardando o processo de formação de compostos de caráter ácido no óleo.

Em um estudo realizado por Rehman et al. (2003) os extratos de gengibre em diclorometano foram avaliados em relação à atividade antioxidante em óleo de semente de girassol refinado (25 ºC e 45 ºC) durante 6 meses de armazenamento. Transcorrido o tempo de armazenamento o óleo contendo 1600 e 2400 ppm de extrato de gengibre apresentou valores de ácidos graxos livres (0,083 e 0,080 %, respectivamente) menores que o controle (0,380 %). Além disso, o índice de iodo encontrado para as amostras de óleo contendo o extrato de gengibre (1600 e 2400 ppm) foi equivalente ao valor encontrado para as amostras com adição dos antioxidantes sintéticos BHA e BHT. Os processos de oxidação acelerada podem causar perda da insaturação dos ácidos graxos presentes no óleo, o qual pode ser verificado por mudanças no índice de iodo, que é uma medida do grau de insaturação de um lipídio e é definido como o número de gramas de iodo que reage com 100 g de lipídios (FENNEMA et al., 2002). Adicionalmente o índice de acidez é um indicativo de degradação do óleo por reações hidrolíticas e pode ser utilizado para indicar a acidez do óleo (FENNEMA et al., 2002).

Em outra pesquisa, realizada por Eshghi et al. (2014), os rizomas de açafrão foram avaliados quanto a eficiência antioxidante de diferentes concentrações de curcumina (120, 160 e 200 ppm) adicionadas ao óleo de soja a duas temperaturas (25 ºC e 55 ºC), durante 90 dias e acondicionadas na ausência e presença de luz. As amostras foram comparadas com os antioxidantes já empregados em alimentos, o terc-butil-hidroquinona (TBHQ) (120 ppm) e o α-tocoferol (200 ppm). O autor observou que o aumento na concentração de curcumina levou a uma significante diminuição nas taxas de oxidação, sendo que as três concentrações de curcumina apresentaram valores de acidez mais baixos do que os observados para o controle.

Em relação ao índice de peróxido foi observado um aumento significativo ($p < 0,05$) nas médias dos valores das amostras, submetidas ao aquecimento à 250 ºC, variando de 3,30 a 6,86 meq Kg^{-1} de amostra para OS, 3,27 a 6,06 meq Kg^{-1} de amostra para OG e 3,00 a 5,83 meq Kg^{-1} de amostra para OA.

A estabilidade oxidativa de óleos é refletida na formação de peróxidos e de produtos de oxidação secundária, os quais estão relacionados às reações de oxidação que ocorrem no óleo durante o processo de fritura. Os peróxidos são produtos de oxidação primária que fornecem informações superficiais devido à sua rápida formação e decomposição (FENNEMA et al., 2002). Desse modo, para uma análise abrangente da estabilidade oxidativa de um óleo é necessário a complementação dos resultados com outros métodos de análise, como o índice de acidez e a determinação do grau de insaturação.

Outra pesquisa (ESHGHI et al., 2014) avaliou o óleo de soja, após tratamento térmico (25 ºC e 55 ºC), com adição de diferentes concentrações de curcumina (120, 160 e 200 ppm). Os resultados indicaram que o aumento da concentração de curcumina acarretou na diminuição do índice de peróxido, cujo valor para o controle foi 17,98 meq Kg^{-1} de amostra e das amostras contendo diferentes concentrações de curcumina foi de 14,38, 13,61 e 11,84 meq Kg^{-1} de amostra para as concentrações 120, 160 e 200 ppm de curcumina, respectivamente.

A eficiência de extratos de gengibre frente a oxidação lipídica em óleo vegetal de soja tem sido verificada por outros autores. Jorge e Andreo (2013) avaliaram o efeito antioxidante do extrato etanólico de gengibre (2500 mg Kg^{-1}) em óleo de soja sob termoxidação (180 ºC). Os resultados mostraram que após 20 horas de aquecimento o óleo contendo extrato de gengibre apresentou um valor menor de índice de peróxido (4,71 meq Kg^{-1}) quando comparado ao controle (5,00 meq Kg^{-1}). Estes resultados vêm ao encontro da pesquisa realizada por Rehman et al. (2003), que avaliou o índice de peróxido de extratos de gengibre em diclorometano em óleo de semente de girassol aquecido a 185 ºC por 50 h. Ao término do experimento foi verificado que o extrato natural foi capaz de inibir a formação de peróxidos cujo valor foi de 0,7 meq Kg^{-1}, enquanto que o óleo de semente de girassol sem adição de antioxidantes o valor de peróxidos encontrado foi 20,5 meq Kg^{-1}.

O regulamento técnico para óleos e gorduras vegetais refinados emitido pela ANVISA dispõe que os valores de acidez não devem estar acima de 0,6 mg de base g^{-1} de óleo e o índice de peróxidos deve ser no máximo de 10 meq Kg^{-1} (ANVISA, 2005). Considerando que, na temperatura de 25 ºC todas as amostras avaliadas apresentaram resultados conforme especificado em legislação, conclui-se que o óleo de soja apresenta qualidade para consumo. Ademais, foi observado que após o aquecimento o óleo de soja contendo os extratos de gengibre e açafrão mantiveram o índice de acidez dentro dos limites em legislação.

A estabilidade térmica em óleo vegetal tem sido verificada em outros materiais vegetais. Um estudo feito por Miranda (2015) avaliou a estabilidade físico-química de óleo alimentar com a adição de extratos etanólicos de carqueja (500 mg Kg^{-1} e 1000 mg Kg^{-1}). As amostras foram submetidas a três ciclos de aquecimento (9 horas cada) a 180 ºC e, também, armazenadas à temperatura ambiente durante 30 dias. O óleo foi analisado em relação à sua acidez, índice de peróxidos, índice de p-anisidina, absorvância no UV, índice de refração, cor e densidade. Os resultados mostraram maior acentuação dos parâmetros físico-químicos no óleo sem extrato de carqueja (33,3 % de teor de ácidos graxos livres e 45% do índice de peróxidos), sendo a suplementação com carqueja (1000 mg Kg^{-1}) mais estável à oxidação (16,6 % de teor de ácidos graxos livres e 28,4 % do índice de peróxidos).

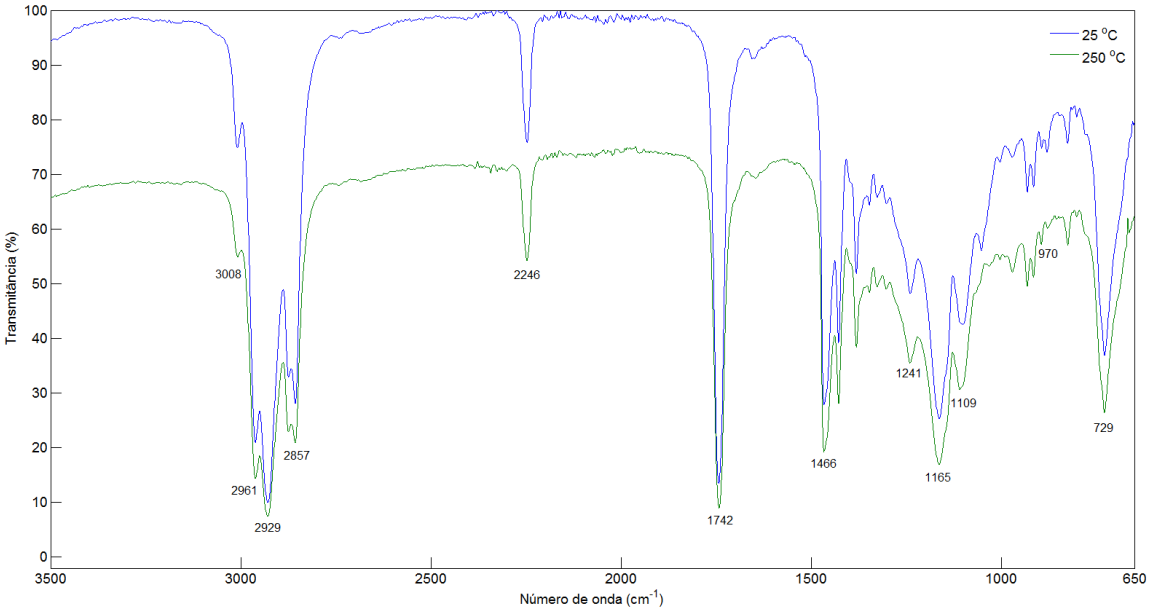
4.4.2 Grau de insaturação

A porcentagem de insaturação expressa como porcentagem em massa de ácido linoleico foi obtida para as amostras contendo óleo de soja (OS), óleo de soja com extrato de gengibre (OG) e óleo de soja com extrato de açafrão (OA). Nesta análise, utilizou-se a *n*-valeronitrila como padrão interno. O espectro no infravermelho para óleo de soja com extrato de gengibre e *n*-valeronitrila (Figura 28) apresenta um pico em 3008 cm^{-1}, que corresponde ao estiramento =C-H de duplas ligações *cis* e que foi utilizado para a quantificação do grau de insaturação. Na região de 2961 cm^{-1} ocorre o estiramento assimétrico dos grupos metila (C-H). As bandas em 2929 e 2857 cm^{-1} estão relacionadas, respectivamente, com os estiramentos assimétrico e simétrico dos grupos metilênicos (C-H) (GUILLÉN; CABO, 1998).

A região de 2246 cm^{-1} corresponde ao estiramento C≡N da n-valeronitrila que foi utilizada como padrão interno (Moreno et al, 1999), a qual não interfere nas bandas de absorção das amostras. Em 1742 cm^{-1} ocorre uma banda intensa que está associada ao estiramento C=O, de carbonila de éster *(*de la MATA et al., 2012).

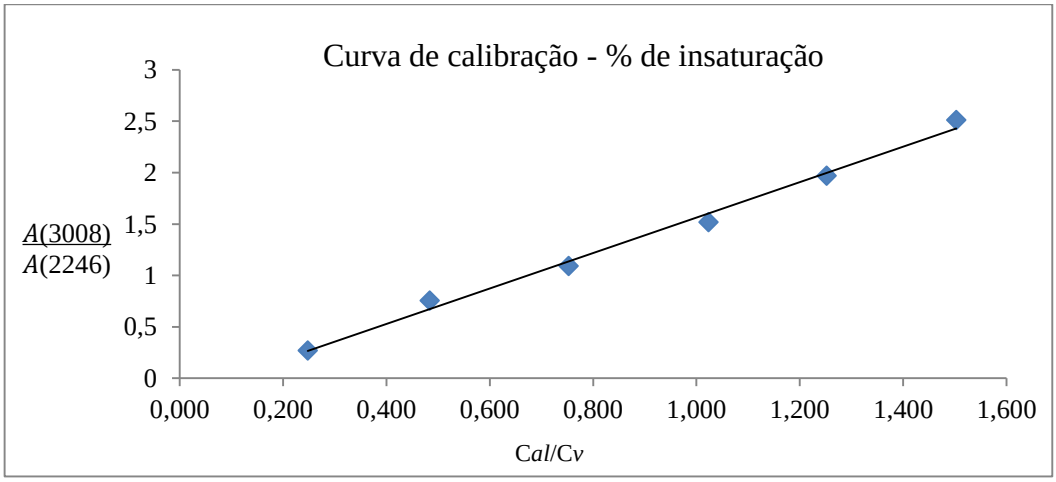
Em 1466 cm^{-1} ocorre a banda relacionada à deformação angular simétrica de CH_2. As bandas na região de 1241 a 1100 cm^{-1} estão relacionadas com estiramentos da ligação C-O. Em 1241 e 1165 cm^{1} ocorre a sobreposição com a banda de deformação dos grupos metilênicos (GUILLÉN; CABO, 1998). Na região de 970 cm^{-1} há a deformação fora do plano (C-H) de hidrogênios olefinícos das duplas ligações *trans*. Em 729 cm^{-1} ocorre uma deformação equivalente, mas que está relacionada a ligações *cis* (GUILLÉN; CABO, 1998).

Figura 28 - Espectros representativos no infravermelho do óleo de soja com o extrato de gengibre, a 25 e 250 ºC.



Uma curva de calibração contendo as misturas dos padrões *n*-valeronitrila/ácido linoleico foi construída utilizando o quociente [A(3008)/A(2246)] (sendo A a absorbância na região especificada), pela concentração da mistura adicionada (C*al*/C*v*), a qual C*al* é a concentração de ácido linoleico e C*v* a concentração de *n*-valeronitrila, ambos em % m/m (Figura 23). A equação obtida da regressão linear foi: A(3008)/A(2246) = (1,7228 x C*al*/C*v*) – 0,1591, cujo valor de R foi 0,9965.

Figura 29 - Curva de calibração utilizando o ácido linoleico como substância padrão.



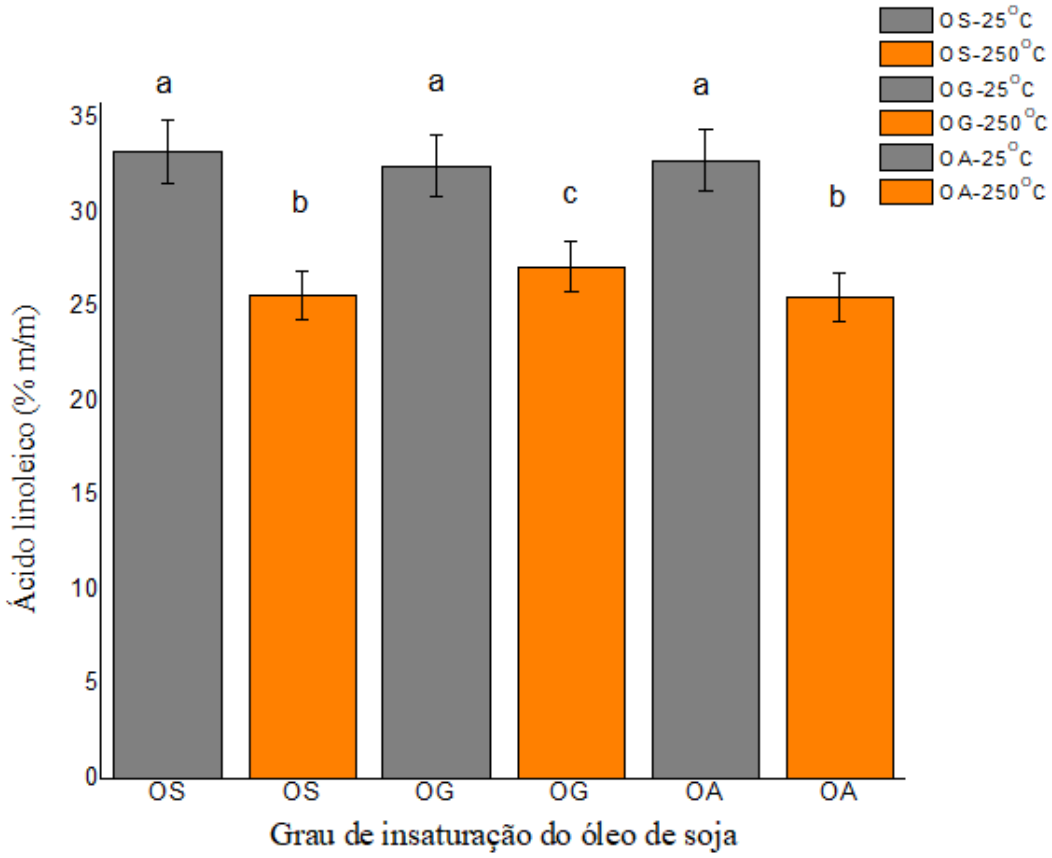
Os resultados observados na Figura 24 mostram o decaimento do grau de insaturação (porcentagem de ácido linoleico m/m) com o aumento da temperatura, apresentando os seguintes valores: 33,26 ± 1,15 % para a amostra OS; 32,46 ± 1,03 % para a amostra OG; e 32,75 ± 0,66 para a amostra OA, todos para a temperatura ambiente (25 ºC); e 25,48 ± 1,19 %; 27,14 ± 0,91 %; e 25,43 ± 0,96 % para as amostras OS, OG e OA, respectivamente, todos para a temperatura de 250 ºC.

O grau de insaturação do óleo de soja contendo o extrato de gengibre e aquecido a 250 ºC foi significativamente maior ($p < 0,05$) que os valores observados para o controle e para o óleo de soja contendo o extrato de açafrão.

O grau de insaturação de um óleo vegetal está relacionado à sua composição de ácidos graxos, os quais apresentam interferência do processo de aquecimento. O óleo de soja possui em sua composição ácidos graxos poli-insaturados, tais como o ácido linoleico (MARTIN, 2008), que, uma vez submetido ao processo de fritura, pode sofrer reações de oxidação e formar uma variedade de compostos como aldeídos, alcanos, alcenos, dentre outros (BREWER, 2011). A degradação do óleo ocasiona o consumo dos ácidos graxos poli-insaturados, apresentando como consequência a diminuição do grau de insaturação.

A mistura resultante da melhor resposta quanto a atividade antioxidante do açafrão indicou resultados interessantes sobre sua utilização como inibidor de reações oxidativas. Todavia, quando adicionado ao óleo de soja e submetido ao aquecimento, o extrato natural de açafrão apresentou um comportamento diferente, não sendo observado diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias avaliadas do OA em comparação ao controle (OS).

Figura 30 – Grau de insaturação do óleo de soja (OS), óleo de soja com extrato de gengibre (OG) e óleo de soja com extrato de açafrão (OA), avaliado nas temperaturas ambiente (25 °C) e 250 °C. Os resultados foram expressos em % m/m de ácido linoleico.



*a,b e c: colunas identificadas com a mesma letra não apresentam diferença pelo teste de Tukey ($p > 0,05$).

4.5 Comparação do efeito antioxidante entre as plantas estudadas

As respostas obtidas do planejamento experimental, referentes aos extratos de gengibre, açafrão e ora-pro-nobis, mostraram que o emprego de solventes com diferentes polaridades no processo extrativo influencia na obtenção de compostos com atividade antioxidante. O gengibre apresentou alta atividade antioxidante na composição ternária e:i:a (0,30:0,33:0,37), a qual apresenta um valor de polaridade intermediária (0,461). Para os rizomas de açafrão foi observado uma melhor resposta de atividade antioxidante, na composição binária e:i (0,52:0,48), apresentando um valor de polaridade (0,602) mais próximo dos solventes de caráter polar. A ora-pro-nobis apresentou a melhor resposta de atividade antioxidante na composição contendo o solvente etanol puro (0,654) que possui o caráter mais polar dentre os solventes empregados.

Comparando os valores de atividade antioxidante para o gengibre, açafrão e ora-pro-nobis, avaliados pelos ensaios de DPPH, ABTS e FRAP, foi observado uma expressiva atividade antioxidante dos rizomas de açafrão (115,41, 519,60 µmol Trolox g^{-1} e 226,69 µmol $FeSO_4$ g^{-1}) quando comparada aos valores obtidos para o gengibre (57,16, 150,78 µmol Trolox g^{-1} e 218,24 µmol $FeSO_4$ g^{-1}) e para a ora-pro-nobis (9,35, 18,41 µmol Trolox g^{-1} e 13,47 µmol $FeSO_4$ g^{-1}).

Conforme pode ser observado os extratos de ora-pro-nobis apresentaram baixa atividade antioxidante quando avaliados pelos ensaios empregados neste estudo e, portanto, não foram considerados para o estudo de estabilidade termoxidativa.

A adição dos extratos de açafrão ao óleo de soja favoreceu a manutenção da qualidade deste alimento após o processo de aquecimento. O efeito antioxidante dos rizomas de açafrão no óleo de soja foi verificado nos resultados obtidos para os índices de acidez e peróxido, sendo 72 % e 20,5 % respectivamente menores em relação à diferença entre as temperaturas de 25 e 250 °C, quando comparado ao óleo de soja comercial, indicando sua possível utilização como um composto natural antioxidante.

Quanto ao gengibre, a aplicação dos extratos ao óleo de soja promoveu um efeito protetor que foi observado nas análises de índice de acidez e peróxido cujos valores foram 31,3 % e 21,6 % menores (respectivamente) em relação à diferença entre as temperaturas de 25 e 250 °C, quando comparados ao óleo comercial. Além disso, a adição dos extratos de gengibre diminuiu a degradação de compostos insaturados apresentando um grau de insaturação 31,62 % menor que o óleo de soja comercial, quando avaliada a diferença entre as temperaturas de 25 e 250 °C. Os resultados mostraram que o emprego dos extratos de gengibre e açafrão ao óleo soja promoveu um efeito protetor frente as reações oxidativas que ocorrem no processo de fritura.

4.6 Composição mineral

O conteúdo mineral de uma planta é uma informação relevante pois proporciona dados que podem ser refletidos nos efeitos clínicos de sua ingestão. Segundo Hassan et al. (2016) o valor medicinal das plantas pode ser atribuído à presença de compostos que produzem ações fisiológicas e a caracterização físico-química pode aumentar o entendimento sobre os mecanismos de ação, a eficácia e a segurança dos materiais vegetais.

Os principais elementos minerais presentes nos rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis foram quantitativamente analisados por espectrometria de absorção atômica e

os resultados podem ser verificados na Tabela 8. Os dados revelaram que a concentração de K foi a mais alta, sendo 519,32 e 1225,95 mg 100 g^{-1} para os rizomas de gengibre, açafrão, respectivamente, e foi também expressiva (3263,21 mg 100 g^{-1}) para as folhas de ora-pro-nobis. Esses resultados são interessantes, uma vez que estudos clínicos e epidemiológicos têm mostrado que dietas contendo alta concentração de potássio podem diminuir a pressão sanguínea (INTERSALT, 1986; KHAW; ROSE, 1982), além de reduzir a mortalidade por doenças cardiovasculares (KHAW; BARRET-CONNOR, 1987) e prevenir ou tornar mais lenta a progressão de doenças renais (TOBIAN et al., 1984).

Tabela 8 – Principais minerais extraídos dos rizomas de gengibre, açafrão e folhas de ora-pro-nobis (mg 100g^{-1} de base seca). Resultados expressos em média ± desvio-padrão.

Composto mineral	Gengibre (mg 100 g^{-1})	Açafrão (mg 100 g^{-1})	Ora-pro-nobis (mg 100 g^{-1})
P	20,61 ± 1,41	236,65 ± 19,47	541,82 ± 18,66
K	519,32 ± 25,46	1225,95 ± 17,68	3263,21 ± 42,43
Ca	69,65 ± 1,27	119,35 ± 7,07	3417,14 ± 63,64
Mg	46,02 ± 6,66	220,39 ± 2,40	659,57 ± 11,61
Mn	0,82 ± 0,14	14,66 ± 2,19	2,72 ± 0,21
Zn	0,58 ± 0,12	2,09 ± 0,40	4,10 ± 0,14
Fe	0,58 ± 0,06	20,12 ± 0,49	14,42 ± 0,35

Em relação aos resultados obtidos para os rizomas de gengibre, foram observados, após o K, bons resultados para o Ca, Mg e P, seguidos de resultados baixos para os elementos Mn e Zn. De forma semelhante, Tanweer e colaboradores (2014) estudaram a composição mineral de rizomas de gengibre fresco e observaram os seguintes resultados: K (410,91), Mg (45,02), P (32,56), Ca (15,76), Mn (0,70), Cu (0,58), Fe (0,54) e Zn (0,33), todos expressos em mg 100 g^{-1}. Os resultados obtidos pelo autor apresentam concordância com o conteúdo mineral encontrado neste trabalho.

Quanto aos rizomas de açafrão os compostos K, P e Mg apresentaram os melhores resultados (1225,95, 236,65 e 220,39 mg 100 g^{-1}, respectivamente), seguidos dos compostos Ca, Fe, Mn e Zn (119,35, 20,12, 14,66, e 2,09 mg 100 g^{-1}, respectivamente). Hassan et al. (2016) avaliaram a quantidade de minerais na *Curcuma Longa* empregando um método de tratamento com ácido perclórico e ácido clorídrico. As análises foram realizadas em espectofotômetro de absorção atômica utilizando soluções padronizadas (1000 mg L^{-1}) de todos os metais avaliados

(Ca, Ni, Fe, Zn, Cu, Cr, Mg e Mn). Os resultados mostraram a presença dos compostos Mg (49,4 mg L^{-1}) e Ca (35,425 mg L^{-1}) em maior concentração, seguidos dos demais compostos Fe (1,27 mg L^{-1}), Cr (1,188 mg L^{-1}), Mn (1,078 mg L^{-1}), Zn (1,008 mg L^{-1}), Cu (0,109 mg L^{-1}) e Ni (0,096 mg L^{-1}).

De acordo com os resultados obtidos e aqueles encontrados na literatura para o açafrão é possível observar a presença em maior concentração de K, P, Mg e Ca. Estes compostos são identificados como benéficos para o funcionamento do corpo, como por exemplo, a função do Mg como um cofator de diversas reações enzimáticas e sua importância em várias funções fisiológicas intracelulares (JAHNEN-DECHENT; KETTELER, 2012).

As folhas de ora-pro-nobis também foram avaliadas quanto à composição mineral. De acordo com os resultados essa planta apresenta propriedades interessantes em termos de componentes nutricionais, tais como Ca, K, Mg e P, os quais apresentam funções importantes no organismo. O composto Ca (3417,14 mg 100 g^{-1}) e Fe (14,42 mg 100 g^{-1}) apresentaram valores semelhantes aos encontrados por Takeiti et al. (2009), que foram 3420 e 14,2 mg 100 g^{-1}, respectivamente. Para os compostos Mg, Mn e Zn os valores encontrados por Takeiti et al. (2009) foram maiores, sendo 1900, 46,4 e 26,0 mg 100 g^{-1}, respectivamente. Já para os compostos K e P, este estudo apresentou porcentagens maiores (3263,21 e 541,82 mg 100 g^{-1}, respectivamente) em relação aos resultados de Takeiti et al. (2009) (1632 e 156 mg 100 g^{-1}, respectivamente). O autor avaliou a composição mineral de folhas frescas de *P. aculeata* utilizando a espectroscopia de absorção atômica com chama.

5 CONCLUSÃO

A partir da avaliação das respostas obtidas da extração de rizomas de gengibre e açafrão e das folhas de ora-pro-nobis frente aos ensaios DPPH, ABTS e FRAP, é possível observar que a polaridade e a natureza do solvente extrator estão estreitamente ligadas à obtenção de compostos com atividade antioxidante.

Os resultados obtidos para os extratos de gengibre mostram uma prevalência dos melhores resultados para a mistura ternária (e:i:a) sendo o ponto máximo a composição contendo 0,30:0,33:0,37 (v/v/v), respectivamente. Ainda, a mistura binária e:i nas proporções 0,25 a 0,75 de etanol apresentou os menores valores de atividade antioxidante indicando que esta faixa de composição não deve ser utilizada na extração de compostos antioxidantes do gengibre.

Em relação aos extratos de açafrão, após avaliação da desejabilidade, foi observado que a composição 52 % de etanol e 48 % de isopropanol forneceu os melhores resultados preditos de atividade antioxidante para os ensaios DPPH, ABTS e FRAP.

Quanto aos extratos de ora-pro-nobis foi identificado a prevalência dos melhores resultados para o solvente etanol considerando simultaneamente os ensaios DPPH, ABTS e FRAP, para o qual é possível inferir que os compostos responsáveis pela atividade antioxidante são predominantemente polares.

Avaliando cada ensaio empregado pode ser notado diferentes respostas para os diferentes ensaios. Para os extratos de gengibre, os ensaios ABTS e FRAP apresentaram respostas concordantes, sendo a melhor resposta observada na região de composição equivalente dos solventes etanol, isopropanol e acetato de etila. Quanto aos extratos de açafrão, os ensaios de FRAP e ABTS apresentaram concordância em relação a avaliação da mistura binária e:i e os ensaios DPPH e ABTS foram adequados para a avaliação das misturas a:e e e:i. Ainda, foi observado para os extratos de ora-pro-nobis os melhores valores de atividade antioxidante para a composição e:i:a para os ensaios DPPH e FRAP.

As respostas indicam que cada planta possui características específicas para avaliação da atividade antioxidante, sendo importante a otimização do solvente extrator para determinar a condição de extração que resulte nas melhores respostas para cada ensaio de atividade antioxidante.

Dessa forma, é possível concluir que a condução de experimentos empregando um planejamento experimental pode levar à maximização dos resultados e direcionamento das análises. Como neste trabalho diferentes plantas foram avaliadas, observou-se que a

generalização de extração não poderia ser aplicada para todas as plantas, mostrando que os materiais vegetais possuem compostos distintos e necessitam de sistemas extratores diferentes.

A composição mineral de todas as plantas avaliadas mostrou altas concentrações de K, sendo a mais expressiva nas folhas de ora-pro-nobis (3263,21 mg 100 g^{-1} de base seca). O gengibre apresentou elevada concentração de K, Ca e Mg, enquanto que o açafrão apresentou os compostos K, P e Mg em maior concentração. Estes resultados indicam que os rizomas de gengibre e açafrão e as folhas de ora-pro-nobis apresentam um valor nutricional interessante.

A adição dos extratos de gengibre e açafrão ao óleo de soja, submetido ao aquecimento à 250 ^{o}C, indicou que o extrato de açafrão foi eficiente para manter o índice de acidez em níveis baixos e consequentemente diminuir a hidrólise dos triacilgliceróis. Com relação ao índice de peróxido, os extratos de açafrão e gengibre apresentaram comportamento equivalente, diminuindo este índice em relação ao óleo de soja comercial. O extrato de gengibre diminuiu a degradação dos ácidos graxos insaturados, em relação ao óleo de soja comercial e ao óleo de soja contendo o extrato de açafrão.

Das espécies de plantas estudadas, aquela que apresentou a maior atividade antioxidante foi o rizoma de açafrão, seguido do gengibre e da ora-pro-nobis. Esses resultados foram verificados após adição dos extratos ao óleo de soja aquecido e indicaram um possível emprego desses extratos naturais como antioxidantes em alimentos.

REFERÊNCIAS

ABBASPOUR, N.; HURREL, R.; KELISHADI, R. Review on iron and its importance for human health. **Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences,** v. 19, n. 2, p. 164–174, fev. 2014.

ABRIANA, A.; JOHANNES, E. Turmeric Extract As An Antioxidant In Repeatedly Used Cooking Oil. **International Journal of Scientific & Technology Research**, v. 3, n. 12, p. 347-350, dez. 2014

ADJEPONG, M. et al. Quantification of fatty acid and mineral levels of selected seeds, nuts, and oils in Ghana. **Journal of Food Composition and Analysis,** v. 59, p. 43-49, jun. 2017.

AKINOLA, A.; AHMAD, S.; MAZIAH, M. Total Antioxidant Capacity, Total Phenolic Compounds and the Effects of Solvent Concentration on Flavonoid Content in *Curcuma longa* and *Curcuma xanthorhhiza* Rhizomes. **Medicinal & Aromatic Plants**, v. 3, n. 2, p. 1-4, 2014.

ALI, B. H. et al. Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe): A review of recent research**. Food and Chemical Toxicology.** v. 46, n. 2, p. 409–420, fev. 2008.

ALMEIDA, M. M. B.; LOPES, M. F. G.; NOGUEIRA, C. M. D. Determinação de nutrientes minerais em plantas medicinais. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 94-97, jan./abr. 2002.

AMAROWICZ, R. Tannins: the new antioxidants? **European of Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, v. 109, n. 6, p. 549-551, jun. 2007.

ANDREO, D. **Efeito antioxidante do extrato de Gengibre (*Gengiber officinale*) em óleo de soja submetido ao aquecimento**. 94 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", São José do Rio Preto, 2007.

ANGOSTINI-COSTA, T. S. et al. Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 234-238, mar. 2012.

ANVISA. RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal.** Brasília, DF, set 2005.

AOAC Official methods of analysis. Method 965.33: Peroxide value of oils and fats. In: **Oils and Fats**. 16. ed. 1995. cap. 41, p. 9.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**: Teoria e prática. Viçosa: UFV, 2004. 416 p.

ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. Biological activities of *Curcuma Longa* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.96, n. 5, p. 723-728, jul. 2001.

ASGHAR, A.; SHAHID, M. Comparative study of conventional solvent and supercritical fluid extracts of turmeric using high performance liquid chromatography. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53, n. 3, nov. 2016.

ASNAASHARI, S. et al. In-vitro Bioactivity and Phytochemical Screening of Extracts from Rhizomes of *Eremostachys azerbaijanica* rech. f. Growing in Iran**. Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 16, n. 1, p. 306–314, inverno 2017.

ATOUI, A. K. et al. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v.89, n. 1, p.27-36, jan. 2005.

AUGUSTA, I.M.; NASCIMENTO, K.O. Avaliação do teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de ora-pro-nobis (*Pereskiaaculeata Mill.*). **Higiene Alimentar**, v.27, n. 218/219, Mar./Abr. 2013.

BARANKEVICZ, G. B. **Poder antioxidante da cúrcuma (*Curcuma longa* L.) nos parâmetros neuroquímicos em ratos induzidos à depressão.** 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

BARAT, R. et al. The role of potassium, magnesium and calcium in the enhanced biological phosphorus removal treatment plants. **Environmental Technology**, v. 26, n. 9, p. 983-992, set. 2005.

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

BETO, J. A. The Role of Calcium in Human Aging. **Clinical Nutrition Reserach**, v. 4, n. 1, p. 1–8, jan. 2015.

BHARDWAJ, S.; PASSI, S. J.; MISRA, A. Overview of trans fatty acids: biochemistry and health effects**. Diabetes and Metababolic Syndrome**, v. 5, n. 3, p. 161-164, jul./set. 2011.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method. **Food Science and Technology**, v.30, n. 6, p. 609-615, set. 1997.

BOROSKI, M. et al. **Antioxidantes:** princípios e métodos analíticos. Curitiba: Editora Appris, 2015.

BALAN, P. et al. Synergistic and additive antimicrobial activities of curcumin, manuka honey and whey proteins. **Journal of Food Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 647-654, out. 2016.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUBELIER, M. E.; BERSET, C. Use os a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 10, n. 4, p. 221-247, jul. 2011.

BRIGHENTI, F. et al. Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. **The British Journal of Nutrition**, v. 93, n. 5, p. 619–625, mai. 2005.

BRÜHL, LUDGER. Fatty acid alterations in oils and fats during heating and frying. **European journal of lipid science and technology**, Weinheim, v. 116, n. 6, p. 707- 715, jun. 2014.

BUTT, M. S.; SULTAN, M. T. Ginger and its Health Claims: Molecular Aspects. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 5, p. 383-393, abr. 2011.

BÜYÜKTUNCEL, E.; PORGALI, E.; ÇOLAK, C. Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods. **Food and Nutrition Sciences**, v. 5, p. 1660-1667, ago. 2014.

CHAND, K. et al. A review on antioxidant potential of bioactive heterocycle benzofuran: Natural and synthetic derivatives. **Pharmacological Reports**, v. 69, n. 2, p. 281–295, abr. 2017.

CHATTOPHADHYAY, I. et al. Turmeric and Curcumin: Biological actions and medicinal applications. **Current Science**, v. 87, n. 1, p. 44-53, jul. 2004.

CHATZIKONSTANTINOU, M. et al. Comparative analyses and evaluation of the cosmeceutical potential of selected *Chlorella* strains. **Journal of Applied Phycology**, v.29, n. 1, p. 179–188, fev. 2017.

CHEN, B.; McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Minor Components in Food Oils: A Critical Review of their Roles on Lipid Oxidation Chemistry in Bulk Oils and Emulsions. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 51, n. 10, p. 901-916, dez. 2011.

CHEN, I. N. et al. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Zingiberaceae Plants in Taiwan. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 15–20, mar. 2008.

CHIARA, V.L. et al. Ácidos graxos *trans*: doenças cardiovasculares e saúde materno-infantil. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 3, p. 341-349, jan. 2002.

CHOE, E.; MIN, D. B. Chemistry of Deep-Fat Frying Oils. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 5, p. 77-86, jun. 2007.

CHOI, H. Y. Antioxidant Activity of Curcuma Longa L., Novel Foodstuff. **Molecular and Celular Toxicoloxy**, v. 5, n. 3, 237-242, 2009.

CHRISTIE, W. W. Preparation of lipid extracts from tissues. **Advances in Lipid Methodology – Two**, p. 195-213. 1993.

CONSTANTIN, M.; ALEXANDRU, I. The role of sodium in the body. **Balneo-Research Journal**, v. 2, n. 1, 2011.

DAL BELLO, L. H. A.; VIEIRA, A. F. C. Tutorial for mixture-process experiments with an industrial application. **Pesquisa Operacional**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 3 , p. 543-564, set./dez. 2011.

DAS, U. N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. **Biotechnology Journal**, v.1, n. 4, p. 420-39, abr. 2006.

DAVIS-BRUNO, K.; TASSINARI, M. S. Essential fatty acid suplementation of DHA and ARA and effects on neurodevelopment across animal species: a review of literature. **Birth Defects Research Part B, Developmental and Reproductive Toxicololgy**, v. 92, n. 3, p. 240–250, jun. 2011.

De la MATA, P. et al. Olive oil assessment in edible oil blends by means of ATR-FTIR and chemometrics. **Food Control**, v. 23, p. 449-455, 2012.

DICIAULA, M. C. et al. Optimization of solvent mixtures for extraction from bark of *Schinus terebinthifolius* by a statistical mixture-design technique and development of a UV-Vis spectrophotometric method for analysis of total polyphenols in the extract. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n.1, p. 158-163, 2014.

DUTKIEWICZ, M. Classification of Organic Solvents based on Correlation between Dielectric β Parameter and Empirical Solvent Polarity Parameter $\boldsymbol{E}^{N}_{T}$. **Journal of Chemical Society**, v. 86, n. 12, p. 2237-2241, 1990.

DYALL, S. C. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 7, n. 52, abr. 2015.

ENGELSEN, S. B. Explorative spectrometric evaluations of frying oil deterioration. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.74, p. 1495-1508, dez. 1997.

ELPO, E. R. S.; NEGRELLE, R. R. B. *Zingiber officinale* Roscoe: Aspectos botânicos e ecológicos. **Visão Acadêmica,** Curitiba, v. 5, n. 1, p. 27-32, jan./jun. 2004.

ESHGHI, N. et al. Evaluating the potential of natural curcumin for oxidative stability of soybean oil. **Natural Product Research**, v. 28, n. 17, p. 1375–1378, mar. 2014.

FENNEMA, O. R. et al. **Food Lipids**: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology (Editado por AKOH, C. C.; MIN, D. B.). 2. ed. New York: Marcel Dekker Inc. 2002.

FERNANDES, R. P. P. et al. Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. **Journal Food Science Technology**, v. 53, n. 1, p. 451–460, jan. 2016.

FLOEGEL, A. et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, nov. 2011.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497-509, mai. 1957.

FREIRE, P. C. M.; MANCINI-FILHO, J.; FERREIRA, T. A. P. C. Principais alterações físico-químicas em óleos e gorduras submetidos ao processo de fritura por imersão: regulamentação e efeitos na saúde. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 26, n.3, p. 353-368, mai./jun. 2013.

FUENTES, P. H. A. **Avaliação da qualidade de óleos de soja, canola, milho e girassol durante o armazenamento**. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

FURNISS, B. S. et al. **Vogel's textbook of practical organic chemistry**. 5. ed., New York: Longman Scientific and Technical, 1989.

GÂLEA, C. et al. Determination of mineral element content of *Pelargonium roseum* plant by ICP-MS. **Macedonian pharmaceutical bulletin**, v. 61, n. 1, p. 27 – 34, 2015.

GARCIA, L. M. Z. et al. Statistical mixture design — Principal component determination of synergic solvent interactions for natural product extractions. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 103, n. 1, p. 1–7, ago. 2010.

GARCIA-SALAS, P. et al. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. **Molecules**, v. 15, n. 2, p. 8813-8826, dez. 2010.

GHASEMZADEH, A.; JAAFAR, H. Z. E.; RAHMAT, A. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). **Molecules**, v. 15, p. 4324-4333, jun. 2010.

GIL, M. I. et al. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4976–4982, ago. 2002.

GODÍNEZ, J. R. et al. Optimization of Physical Conditions for the Aqueous Extraction of Antioxidant Compounds from Ginger (*Zingiber officinale*) Applying a Box-Behnken Design. **Plants Foods for Human Nutrition**, v. 72, n. 1, p. 34–40, mar. 2017.

GRICE, H.P. Enhanced tumour development by butylated hydroxyanisole (BHA) from the prospective of effect on forestomach and oesophageal squamous epithelium. **Food and Chemical Toxicology**, v. 26, p. 717–723, set. 1988.

GROMADZKA, J.; WARDENCKI, W. Trends in Edible Vegetable Oils Analysis. Part A. Determination of Different Components of Edible Oils – a Review. **Polish Journal of Food Nutrition Science**, v. 61, n. 1, p. 33-43, 2011.

GUILLÉN, M. D.; CABO, N. Relationships between the Composition of Edible Oils and Lard andthe Ratio of the Absorbance of Specific Bands of Their FourierTransform Infrared Spectra. Role of Some Bands of the Fingerprint Region. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 1788-1793, 1998.

GUO, C. et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. **Nutrition Research**, v. 23, n. 12, p. 1719–1726, dez. 2003.

HACKE, A. C. M. et al. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. 2206–2217, set. 2016.

HAGERMAN, A. E. et al. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 1887-1892, abr. 1998.

HAMAGUCHI, T.; ONO, K.; YAMADA, M. Review: Curcumin and Alzheimer's Disease. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, v. 16, n. 5, p. 285-297, out. 2010.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v. 22, n. 6, p. 475-476, jul. 1973.

HASSAN, W. et al. Gas chromatography coupled with mass spectrometric characterizarion of *Curcuma longa*: protection against pathogenic microbes and lipid peroxidation in rat's tissue homogenate. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Scienes**, v. 29, n. 2, p. 615-621, mar. 2016.

HUANG, A. H. C. Oil bodies and oleosins in seeds. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular BioIogy**, v. 43, p. 177-200, 1992.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** v. 1: Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020, 2008.

INTERSALT, Cooperative Research Group. Intersalt: an international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. **British Medical Journal**, v. 297, n. 6644, p. 319-328, jul. 1986.

JAHNEN-DECHENT, W.; KETTELER, M. Magnesium basics. **Clinical Kidney Journal**, v. 5, n.1, p. 3-14, fev. 2012.

JAHROMI, M.A.F.; MOEIN, M. R.; ETEMADFARD, H. Phytochemical screening and in vitro evaluation of free radical scavenging activity of *Dionysia revoluta* L. **Trends in Pharmaceutical Sciences** , v. 1, p.31–38, jan. 2015.

JAISHANKAR, M. et al. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 7, n. 2, p. 60–72, jun. 2014.

JIMÉNEZ-AGUILAR, D. M.; GRUSAK, M. A. Minerals, vitamin C, phenolics, flavonoids and antioxidant activity of *Amaranthus* leafy vegetables. **Journal of food composition and analysis**, v. 58, p. 33-39, mai. 2017.

JORGE, N.; ANDREO, D. Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*) in soybean oil under thermoxidation. **Nutrition and Food Science**, v. 43, n. 1, p. 49-54, 2013.

KARIMIAN, M. S. et al. Curcumin as a natural regulator of monocyte chemo attractant protein-1. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 33, p. 55-63, fev. 2017.

KARUPAIAH, T.; SUNDRAM, K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. **Nutrition and Metabolism**, v. 4, p. 16, jul. 2007.

KATES, M. **Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology**: Techniques of Lipidology - Isolation, Analysis and Identification of Lipids. London: Elsevier Applied Science, vol. 3, part. 2, chapter 3, Lipid Extraction Procedures, p. 347-353, 1972.

KHAW, K.T.; ROSE, G. Population study of blood pressure and associated factors in St Lucia, West Indies. **International Journal of Epidemiology**, v. 11, v. 4, p. 372–377, dez. 1982.

KHAW, K. T.; BARRET-CONNOR, E. Dietary potassiumm and stroke-associated mortality. A 12-year prospective population study. **The New England Journal of Medicine**, v. 316, n. 5, p. 235–240, jan. 1987.

KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. Cyclic diarylheptanoids from rhizomes of *Zingiber officinale*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 1, p. 273-277, set. 1996.

KIM, I.; CHOE, E. Effects of red ginseng extract added to dough on the lipid oxidation of frying oil and fried dough during frying and storage. **Food and Science and biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 67-71, 2003.

KONG, F., SINGH, R. P. Advances in instrumental methods to determine food quality deterioration. In: KILCAST, D.; SUBRAMANIAM, P. **Food and Beverage Stability and Shelf Life,** 1. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2011, cap. 12, p. 381-404.

KRIS-ETHERTON, M. *Trans* fatty acids and coronary heart disease risk: report of the expert panel on *trans* fatty acids and coronary heart disease. **The America Journal Clinical Nutrition**, v. 62, n. 3, p. 655-708, set. 1995.

LEE, J. et al. Spinach (*Spinacia oleracea*) Powder as a Natural Food-Grade Antioxidant in Deep-Fat-Fried Products. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50,n. 20, p. 5664-5669, set. 2002.

LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69–75, jan. 2002.

LI, A-N. et al. Resources and biological activities of natural polyphenols. **Nutrients**, v. 6, n. 12, p. 6020-6047, dez. 2014.

LIMA, A. et al. Gengibre (*Zingiber Officinale* Roscoe), propriedades bioativas e seu possível efeito no diabetes Tipo 2: estudo de revisão. **Revista Saúde em Foco**, v. 1, n. 2, p. 15-25, ago./dez. 2014.

LIMA, D. da C. A. **Estudo comparativo da atividade antioxidante de plantas medicinais da Caatinga utilizadas como anti-inflamatório**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

LLOKI-ASSANGA, S. B. et al. Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of *Bucida*

buceras L. and *Phoradendron californicum*. **BioMed Central Researches Notes**, v. 8, n. 1, set. 2015.

LONG, Y. et al. Simultaneous determination of three curcuminoids in *Curcuma longa* L. by high performance liquid chromatography coupled with electrochemical detection. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 4, n. 5, p. 325–330, out. 2014.

LONNI, A. A. S. G. et al. Statistical mixture design selective extraction of compounds with antioxidant activity and total polyphenol content from *Trichilia catigua*. **Analytica Chimica Acta**, v. 719, 57-60, mar. 2012.

LU, D. L. et al. Influence of side chain structure changes on antioxidant potency of the [6]-gingerol related compounds. **Food Chemistry**, v. 165, p. 191–197, dez. 2014.

MAGALHÃES, L. M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica chimica Acta**, 613, n. 1, p. 1–19, abr. 2008.

MALEKI, M., ARIARII, P., FALLAH, H. Effects of Celery Extracts on the Oxidative Stability of Canola Oil Under Thermal Condition. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 40, n. 3, p. 531-540, jun. 2016.

MALHOTRA, S.; SINGH, A. P. Medicinal properties of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). **Natural Product Radiance**, v. 2, n. 6, p. 296-301, dez. 2003.

MARIUTTI, L. R. B. et al. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. **Brazilian archieves Biology and Technology**, Curitiba, v. 51, n.6, p. 1225-1232, nov./dez. 2008.

MARTIN, C. A. et al. Fatty acid contents of Brazilian soybean oils with emphasis on *trans* fatty acids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 19, n.1, p. 117-122, 2008.

MARTINEVSKI, C. S. et al. Utilização de Bertalha (*Anredera Cordifolia* (TEN.) Steenis) e Ora-pro-nobis (*Pereskia Aculeata* Mill.) na elaboração de pães. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 24, n. 3, p. 1-6, jul./set. 2013.

MASUDA, T. et al. Chemical studies on antioxidant mechanism of curcumin:analysis of oxidative coupling products from curcumin and linoleate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 5, p. 2539-2547, mai. 2001.

MAYA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes**. Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 53, n. 1/2, p. 27-35. 1993.

MERÇON, F. O que é uma gordura *trans*. **Química Nova na Escola**, v. 32, n. 2, mai. 2010.

MERGEDUS, A. et al. Variaton of mineral composition in different parts of taro (Colocasia esculenta) corms. **Food Chemistry**, v. 170, p. 37-46, mar. 2015.

MILLER, R. O. Nitric-Perchloric acid wet digestion in an open vessel. In: **Handbook of Reference Methods for Plant Analysis** (Editado por Yash P. Kalra), Boca Raton: CRC Press, 1998. Cap. 6. p. 287

MIRANDA, A. R. F. **Avaliação da estabilidade físico-química de óleo alimentar suplementado com extrato de carqueja**. 66 f. Dissertação (Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar) - Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche Instituto Politécnico de Leiria, Leiria-Portugal, 2015.

MORENO, M. C. M. M. et al. Determination of unsaturation grade and *trans* isomers generated during thermal oxidation of edible oils and fats by FTIR. **Journal of Molecular Structure**, v. 482/483, p. 551-556, mai. 1999.

MOZURAITYTE, R. et al. Oxidative Stability and Shelf Life of Fish Oil. In: **Oxidative Stability and Shelf Life of Foods Containing Oils and Fats** (Editado por HU, M.; JACOBSEN, C.). Academic Press e AOCS Press, 2016. P. 209-231.

MURPHY, D. J. Storage lipid bodies in plants and other organisms. **Progress in lipid research**, v. 29, n. 4, p. 299 -324, 1990.

NAWAR, W. W. Lipids. In: **Food Chemistry** (Editado por Owen R. Fennema). 3. ed. New York: Marcel Dekker Inc., 1996. p. 225–319.

NETO, B. B.; SCRAMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria.** 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010.

NICÍFOROVIC, N. et al. Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 11, p. 3125-3130, nov. 2010.

NOR, F. M.; et al. Antioxidative Properties of Curcuma longa Leaf Extract in Accelerated Oxidation and Deep Frying Studies. **Journal of the American Oil Chemistis'Society**, v. 86, n. 2, p. 141–147, fev. 2009.

PADLEY, F B.; GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, J. L. Occurrence and characteristics of oils and fats. In: GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, J. L.; PADLEY, F. B. **The Lipid Handbook**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1994. p. 47–223.

PANEQUE, P. et al. Metal content in southern Spain wines and their classification according to origin and ageing. **Microchemical Journal**, v. 94, n. 2, p. 175-179, mar. 2010.

PAVAN, R. **Avaliação dos teores de ácidos graxos trans em margarinas e cremes vegetais após resolução RDC 360 (ANVISA).** 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos – Área de Bromatologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PAWAR, N. **Study of pungent compound in *Zingiber officinale* Roscoe:** Study of antioxidant compound 6-gingerol in *Zingiber officinale* Roscoe. Lap Lambert Academic Publishing, p.132, out. 2011.

PEERENBOOM, H.; KECK, E. The significance of magnesium in medicine: Biological function, homeostasis, ingestion and excretion. **Munchener Medizinische Wochenschrift**, v. 122, n. 39, p. 1325-1327, set. 1980.

PEGG, R. B. **Handobook of food analytical chemistry**. Editora: John Wiley e Sons, 2001. P. 452.

PEREIRA, C.; LI, D.; SINCLAIR, A. J. The α-linolenic acid contente of green vegetables commonly available in Autralia. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, v. 71, n. 4, p. 223-228, jul. 2001.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, p. 791–800, fev. 2006.

PÉREZ-PALACIO, T. et al. Comparison of different methods for total lipid quantification in meat and meat products. **Food Chemistry**, v. 110, n. 4, p. 1025-1029, out. 2008.

PEUCHANT, E. et al. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 293 – 298, abr. 2004.

PINTO, N. C. C. et al. Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 63–69, jan. 2013.

PINTO, N. C. C.; SCIO, E. The Biological Activities and Chemical Composition of Pereskia Species (Cactaceae)-A Review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 189–195, 2014.

PINTO, N. C. C. et al. *Pereskia aculeata*: A plant food with antinociceptive activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 12, p. 1780–1785, 2015

PRASAD, S.; TYAGI A. K. Ginger and its constituents: role in prevention and treatment of gastrointestinal cancer. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2015, p. 11, 2015.

PRZYGODZKA, M. et al. Comparison of methods for evaluation of the antioxidant capacity and phenolic compounds in common spices. **Food Science and Technology**, v. 58, p. 321-326, 2014.

PUBCHEM – OPEN CHEMISTRY DATABASE. **Ethanol**. Disponível em: < https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/ethanol#section=Top> . Acesso em: 27 set. 2017.

PUCHAU, B. et al. Dietary total antioxidant capacity is negatively associated with some metabolic syndrome features in healthy young adults. **Nutrition**, v. 26, n. 5, p. 534–541, mai. 2009.

PULLA, R. A.; LOKESH, B.R. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 111, n. 1-2, p. 117-124, abr. 1992.

RACZYK M.; RUDZIŃSKA, M. Analysis of plant lipids. In: **Plant Lipids Science, Technology, Nutritional Value and Benefits to Human Health** (Editado por GRAŹYNA, B.; DOROTA, Ź.). Kerala: Research Signpost, 2015. p. 221-238.

RAHMATOLLAH, R.; MAHBOBEH, R. Mineral contents of some plants used in Iran. **Pharmacognosy Research**, v. 2, n. 4, p. 267–270, jul./ago. 2010.

RAMADAN, M.F., MOERSEL, J.T. Screening of the antiradical action of vegetable oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 8, p. 838-842, dez. 2006.

RAVIDRAN, P. N.; BABU, K. N.; SIVARAMAN, K. **Turmeric: the genus Curcurma**. Boca Raton: CRC Press, mar. 2007. 504 p.

RAZA, S.A. et al. Effect of synthetic antioxidant on shelf life of locally manufactured butter known as Makhan in Pakistan. **Biharean Biologist**, Oradea, v. 3, n. 2, p. 161-162, 2009.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n.9/10, p. 1231–1237, mai. 1999.

REHMAN, Z. U.; SALARYIA, A. M.; HABIB, F. Antioxidant activity of ginger extract in sunflower oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 624-629, out. 2003.

REICHARDT, C. **Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry.** 3. ed. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolics compounds. **Plants in Trends Science**, v. 2, n. 4, p. 152-159, abr. 1997.

ROSSI, L. et al. Benefits from dietary polyphenols for brain aging and Alzheimer's disease. **Neurochemical Research**, Nova York, v. 33, n. 12, p. 2390-2400, dez. 2008.

ROTH, G.N.; CHANDRA, A.; NAIR, M.G. Natural bioactivities of *Curcuma longa* constituents. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 4, p. 542–545, abr. 1998.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica:** Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Comunicado Técnico 125, Embrapa - Fortaleza, CE, 2006.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia científica:** Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre $ABTS^{\bullet+}$. Comunicado Técnico 128, Embrapa - Fortaleza, CE, 2007.

RUBY, A. J. et al. Anti-tumour and antioxidant activity of natural curcuminoids. **Cancer Letters**, v. 94, n. 1, p. 79-83, jul. 1995.

SANIBAL, E. A. A.; MANCINI FILHO, J. Perfil de ácidos graxos trans de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 27-31, jan./mar. 2004.

SASAKI, M. **Lipídios, carboidratos e proteínas de sementes leguminosas do cerrado.**

75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SELAMOGLU, Z. et al. In-vitro Antioxidant Activities of the Ethanolic Extracts of Some Contained-Allantoin Plants. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 16, p. 92-98, inverno 2017.

SEMWAL, R. B. et al. Gingerols and shogaols: Important nutraceutical principles from ginger. **Phytochemistry**, v. 117, p. 554-568, set. 2015.

SHALABY, E. A.; SHANAB, S. M. M. Comparison of DPPH and ABTS assays for determinating antioxidant potential of water and methanol extracts of *Spirulina platensis*. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 42, n. 5, p. 556-564, set. 2013.

SHARIF, M. F.; BENETT, M. T. The effect of different methods and solvents on the extraction of polyphenols in ginger (*Zingiber officinale*). **Jurnal Teknologi**, v. 78, n. 11-2, p. 49-54, nov. 2016.

SHEN, L.; LIU, L.; JI, H. F. Regulative effects of curcumin spice administration on gut microbiota and its pharmacological implications. **Food & Nutrition Research**, v. 61, p. 1-4, jul. 2017.

SHIRIN, A. P. R.; JAMUNA, P. Chemical composition and antioxidant properties of ginger root (*Zingiber officinale*). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 24, p. 2674-2679, dez. 2010.

SIES, H. Strategies of antioxidant defense. **European Journal of Biochemistry**, v. 215, n. 2, p. 213–219, jul. 1993.

SNYDER, L. R. Classification of the solvent properties of common liquids. **Journal of Chromatography**, v. 92, n. 2, p. 223-230, mai. 1974.

SNYDER, L. R. **Principle of Adsoption Chromatography**. New York: Marcel Dekker, 1968.

SOARES, P. K.; BRUNS, R. E.; SCARMINIO, I. S. Statistical mixture design investigation of fractionated and total extracts from *Erythrina speciosa* Andrews leaves. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 4, p. 644-652, fev. 2009.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Química Orgânica**. 8. ed. Rio de Janeiro: Livro Técnicos e Científicos, Editora Ltda., 2006. v.1.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.2, mar./abr. 2007.

SOUZA, L. F. et al. *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Science**, v. 17, n. 9, p. 1478, set. 2016.

SOUSA, R. M. F. et al. Atividade antioxidante de extratos de folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) usando métodos espectrofotométricos e voltamétricos *in vitro*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 3, p. 448-457, jun. 2014.

SOWNDHARARAJAN, K.; KANG, S. C. Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of *Bauhinia vahlii* Wight & Arn. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20, n. 4, p. 319–325, out. 2013.

TABARSA, M. et al. Rheological behavior and antioxidant activity of a highly acidic gum from Althaea officinalis flower. **Food Hydrocolloids**, v. 69, p. 432 – 439, aug. 2017.

TAKEITI, C.Y. et al. Nutritive evaluation of non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Muller). **International Journal of Food Science and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 148–160, mai. 2009.

TANVIR, E. M. et al. Antioxidant Properties of Popular Turmeric (*Curcuma longa*) Varieties from Bangladesh. **Journal of Food Quality**, v. 2017, p. 8, mai. 2017.

TANWEER, S.; SHAHZAD, A.; AHMED, W. Compositional and mineral profiling of *Zingiber Officinale*. **Pakistan Journal of Food Sciences**, v. 24, n. 1, p. 21- 26. 2014.

TAPSELL, L.C. et al. Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. **The Medical Journal of Australia**, v. 185, n. 4, p. 4–24, ago. 2006.

TEOFILOVIC, B. et al. Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 100, p. 176-182, jun. 2017.

THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 6-7, p. 669–675, 2006.

TILAK, J. C. et al. Antioxidant availability of turmeric in relation to its medicinal and culinary uses. **Phytotherapy Research**, London, v. 18, n. 10, p. 798-804, out. 2004.

TIVERON, A. P. et al. Antioxidant Activity of Brazilian Vegetables and Its Relation with Phenolic Composition. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 8943-8957, jul. 2012.

TOBIAN, L. et al. Potassium protection against lesions of the renal tubules, arteries, and glomeruli and nephron loss in salt-loaded hypertensive Dahl S rats. **Hypertension**, v. 6, n. 2, p. 170-176, mar./abr. 1984.

UCHIDA, K. Role of reactive aldehyde in cardiovascular diseases. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, n. 12, p. 1685–1696, jun. 2000.

VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L.; KUSTER, R. M. Flavonoid extraction from Alpinia zerumbet (Pers.) Burtt et Smith leaves using different techniques and solvents. **Eclética Química**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 19-24, 2009.

XU, D-P. et al. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: extraction, assessment and resources. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, jan. 2017.

YAMASAKI, K. et al. Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 42, n. 8, p. 1663–1665, ago. 1994.

YANG, L. et al. Determination of Mineral Elements of Some Coarse Grains by Microwave Digestion with Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. **E-Journal of Chemistry**, v. 9, n. 1, p. 93-98, 2012.

YÚFERA, E. P. **Química Agrícola III**, Alimentos. Madrid: Aehambra, 1979. 683 p.

ZHANG, L-L.; LIN, Y-M. Tannins from *Canarium album* with potent antioxidant activity. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9, n. 5, p. 407–415, mai. 2008.

ZHANG, Q. et al. Chemical alterations taken place during deep-fat frying based on certain reaction products: A review. **Chemistry and Physics of Lipids**, v. 165, n. 6, p. 662-681, jul. 2012.

WALTER, M; MARCHESAN, E. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 54, n. 1, p. 371-377, mar./abr. 2011.

WANG, S. P. et al. Biological Properties of 6-Gingerol: A Brief Review. **Natural Product Communications**, v. 9, n. 7, p. 1027-1030, jul. 2014.

WANG, W.H.; WANG, Z.M. Studies of commonly used traditional medicine-ginger. **China Journal of Chinese Materia Medica**, v. 30, n. 20, p. 1569–1573, out. 2005.

WITSCHI, H. P. Enhanced tumour development by butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastro-intestinal tract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 24, n. 10-11, p. 1127–1130, out./nov. 1986.

WU, T.L; LARSEN, K. Zingiberaceae. **Flora of China**, v.24, p. 322– 377, 2000.