

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
COORDENAÇÃO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA  
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**TAILA FERNANDA VOLPATO DE OLIVEIRA**

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO  
AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa*)**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

**APUCARANA**

**2017**

**TAILA FERNANDA VOLPATO DE OLIVEIRA**

**CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO  
AÇAFRÃO-DA-TERRA (*Curcuma longa*)**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito à obtenção  
do título de Licenciada em Química, pela  
Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná - Câmpus Apucarana.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Lilian Tatiani  
Dusman Tonin

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Graciana  
Freitas Palioto

**APUCARANA**

**2017**



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná**  
Câmpus Apucarana  
COLIQ – Coordenação do Curso  
Superior de Licenciatura em Química



---

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **Características Químicas e Microbiológicas do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*)**

por

Taila Fernanda Volpato de Oliveira

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado aos vinte e quatro dias do mês de novembro do ano de 2017, às 14 horas, como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Química, do Curso Superior de Licenciatura em Química da UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. A candidata foi arguida pela banca examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a banca examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Dra. Lillian Tatiani Dusman Tonin – ORIENTADORA

---

Dr. Elton Guntendorfer Bonafé – EXAMINADOR

---

Dr. Rafael Oliveira Defendi – EXAMINADOR

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso”.

## RESUMO

OLIVEIRA, Taila F. V. Características químicas e microbiológicas do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*). 2017. 62f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2017.

Com o intuito de se utilizar as plantas medicinais de forma segura, eficaz e com qualidade, o Ministério da Saúde publicou a lista do RENISUS para que pesquisas com as mesmas sejam realizadas e fortalecidas. E dentre os setenta e um nomes de plantas de interesse, encontra-se a *Curcuma longa*, também conhecida como açafrão-da-terra, a qual foi utilizada nesse trabalho. Os objetivos foram analisar os teores de compostos bioativos e a capacidade antioxidante dos rizomas do açafrão a partir de seus extratos e sua atividade antimicrobiana. Os rizomas foram desidratados nas temperaturas de 40, 60 e 80°C. Os extratos foram preparados utilizando 1,0 g dos rizomas com 100 mL dos solventes: EtOH/H<sub>2</sub>O (70:30), EtOH/H<sub>2</sub>O (95:5), MeOH/H<sub>2</sub>O (70:30) e MeOH/H<sub>2</sub>O (95:5). Analisando os dados, o açafrão se apresentou como uma fonte baixa de vitamina C, sendo  $1,70 \pm 0,07$  mg 100 g<sup>-1</sup>,  $1,59 \pm 0,04$  mg 100 g<sup>-1</sup> e  $1,85 \pm 0,04$  mg 100 g<sup>-1</sup> para as temperaturas de 40, 60 e 80°C respectivamente. Para os fenóis totais, determinados utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, observou-se os maiores valores para o solvente EtOH 70% a 40°C e MeOH 95% a 60°C, não apresentando diferença significativa entre si, sendo  $1158,33 \pm 83,88$  e  $1318,67 \pm 74,03$  mg EAG 100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. Houve uma diminuição dos teores de fenóis quando se aumentou a temperatura de secagem para 80°C. Os teores de antocianinas, flavonoides totais e amarelos, assim como a capacidade antioxidante (métodos DPPH e ABTS) dos rizomas desidratados do açafrão foram determinados. Com exceção das antocianinas e dos fenóis, os quais se degradaram conforme o aumento da temperatura de secagem, os demais compostos se mostraram estáveis. Verificaram-se valores elevados para os flavonoides totais, sendo os extratos EtOH 70% e MeOH 95% a 40°C e EtOH 95% a 80°C os mais eficientes na extração destes compostos. Para os flavonoides amarelos, todas as temperaturas apresentaram valores altos, quando comparados com outros estudos, e que não diferiram significativamente entre si. A atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH foi realizada nas concentrações de 10.000 e 1.000 µg mL<sup>-1</sup>. Para a concentração maior todos os extratos apresentaram potencial de inibição do radical com mais de 80% em um tempo inferior a 5 minutos, mostrando-se alto e podendo ser comparado com os valores do padrão ácido ascórbico. Para a concentração menor, as porcentagens de inibição apresentaram valores entre 28-45% no tempo de 30 minutos, sendo os extratos mais ativos o MeOH 95% das secagens a 40 e 80°C. Pelo método ABTS, as condições que apresentaram os melhores potenciais de inibição do radical foram os extratos MeOH 95% nas temperaturas de 40 e 80°C, com 80% e 75% de inibição respectivamente. A atividade antimicrobiana se mostrou muito eficiente para *S. aureus*, atingindo uma CBM de 60.000 µg mL<sup>-1</sup>, com os extratos EtOH 70% e EtOH 95% na temperatura de 80°C, enquanto para a *E. coli*, a CBM foi de 120.000 µg mL<sup>-1</sup> com o extrato EtOH 95% a 60°C. Pela análise dos resultados, as melhores condições para o açafrão-da-terra é uma secagem a 40 ou 80°C e extração com MeOH 95%.

Palavras-chave: *Curcuma longa*. RENISUS. Secagem. Antioxidante. Antimicrobiano.

## ABSTRACT

OLIVEIRA, Taila F. V. Chemical and microbiological characteristics of turmeric (*Curcuma longa*). 2017. 62f. Graduation Work (Licenciatura in Chemistry), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2017.

In order to use medicinal plants in a safe, efficient and quality way, the Ministry of Health has published the list of RENISUS. The aim of it is that research with these species are carried out and strengthened. Among the seventy-one names of plants in the list, the interest of this study is *Curcuma longa*, also known as turmeric. The objectives were to analyze the contents of bioactive compounds and the antioxidant capacity of turmeric rhizomes from their antimicrobial activity. The rhizomes were dehydrated at temperatures of 40, 60 and 80°C. The extracts were prepared using 1.0 g of the rhizomes with 100 mL of the solvents: ethanol / water (70:30), ethanol / water (95:5), methanol / water (70:30) and methanol / water (95:5). Analyzing the data, turmeric presented as a low source of ascorbic acid, being  $1.70 \pm 0.07$  mg  $100$  g<sup>-1</sup>,  $1.59 \pm 0.04$  mg  $100$  g<sup>-1</sup> and  $1.85 \pm 0.04$  mg  $100$  g<sup>-1</sup> for the temperatures of 40, 60 and 80°C respectively. For the total phenols determined using the Folin-Ciocalteu reagent, the highest values for the solvent were EtOH 70% at 40°C and MeOH 95% at 60°C, showing no significant difference between them, being  $1158.33 \pm 83.88$  and  $1318.67 \pm 74.03$  mg EAG  $100$  g<sup>-1</sup>, respectively. There was a decrease in phenol contents when the drying temperature was increased to 80°C. The anthocyanins, total and yellow flavonoids, as well as the antioxidant capacity (DPPH and ABTS methods) of turmeric dehydrated rhizomes were determined. With the exception of anthocyanins and phenols, which degraded as the drying temperature increased, the remaining compounds were stable. High values were observed for total flavonoids, with extracts being EtOH 70% and MeOH 95% at 40°C and EtOH 95% at 80°C in less than five minutes, being the most efficient in the extraction of these compounds. For yellow flavonoids, all temperatures presented high values, when compared with other studies, and did not differ significantly between them. The antioxidant activity by the DPPH free radical sequestration method was performed at concentrations of 10.000 and 1.000  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>. For the highest concentration, all the extracts had a potential of inhibition of the radical with more than 80%, being high and being able to be compared with the ascorbic acid standard values. For the lower concentration, the percentages of inhibition presented values between 28-45% in the time of 30 minutes, the extracts being more active the MeOH 95% of the dryings at 40 and 80°C. By the ABTS method, the conditions that presented the best radical inhibition potentials were MeOH 95% extracts at temperatures of 40 and 80°C, with 80% and 75% of inhibition respectively. The antimicrobial activity was very efficient for *S. aureus*, reaching a CBM of 60.000  $\mu$ g mL<sup>-1</sup>, with the extracts EtOH 70% and EtOH 95% at the temperature of 80°C, while for *E. coli*, CBM was 120.000  $\mu$ g mL<sup>-1</sup> with EtOH 95% extract at 60°C. By analyzing the results, the best conditions for turmeric are drying at 40 or 80°C and extraction with MeOH 95%.

Keywords: *Curcuma longa*. RENISUS. Drying. Antioxidant. Antimicrobial.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Secagem dos rizomas de açafrão-da-terra a diferentes temperaturas....	38
Tabela 2 – Teor de antocianinas e flavonoides amarelos encontrados de acordo com a temperatura de secagem dos rizomas de açafrão-da-terra.....	39
Tabela 3 – Teor de AA em mg 100 g <sup>-1</sup> de açafrão nas diferentes temperaturas de secagem.....	40
Tabela 4 – Resultados dos fenóis totais em mg EAG 100 g <sup>-1</sup> amostra para os diferentes extratos de açafrão.....	41
Tabela 5 – Valor de flavonoides totais presentes nos extratos de açafrão seco em mg de rutina 100 g <sup>-1</sup> açafrão.....	43
Tabela 6 – Porcentagem de inibição do radical DPPH dos padrões BHT e Ácido Ascórbico.....	44
Tabela 7 – Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de açafrão de concentração 10.000 µg mL <sup>-1</sup> após 30 minutos de reação.....	45
Tabela 8 – Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de açafrão de concentração 1.000 µg mL <sup>-1</sup> após 30 minutos de reação.....	45
Tabela 9 – Percentual de inibição do radical ABTS dos diferentes extratos de açafrão de concentração 10.000 µg mL <sup>-1</sup> .....	48
Tabela 10 – Concentração Bactericida Mínima para os extratos.....	50

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Açafrão-da-terra ( <i>Curcuma longa</i> ).....	15
Figura 2 – Rizomas frescos de açafrão-da-terra.....	16
Figura 3 – Óleo extraído do açafrão-da-terra.....	16
Figura 4 – Curcumina.....	17
Figura 5 – Cátion flavila: estrutura química geral das antocianinas.....	20
Figura 6 – Redução do DCFI pelo AA.....	22
Figura 7 – Antioxidantes sintéticos comumente utilizados na indústria.....	24
Figura 8 – Reação entre o radical de DPPH• e um antioxidante para formar DPPH reduzido.....	25
Figura 9 – Estabilização do radical ABTS• <sup>+</sup> por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	26
Figura 10 – Estrutura química dos pigmentos curcumínicos da <i>Curcuma longa</i> ....	27
Figura 11 – Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos.....	41
Figura 12 – Curva padrão de rutina para determinação de flavonoides totais.....	42
Figura 13 – Parede celular de bactérias.....	51

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	10
2.1 OBJETIVO GERAL .....	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	10
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	11
3.1 PLANTAS MEDICINAIS .....	11
3.2 RENISUS .....	12
3.3 AÇAFRÃO-DA-TERRA.....	15
3.4 SÉCAGEM DE ALIMENTOS.....	18
3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	19
3.5.1 Antocianinas.....	19
3.5.2 Ácido Ascórbico.....	21
3.5.3 Compostos Fenólicos.....	22
3.6 ANTIOXIDANTES .....	23
3.6.1.1 Método de sequestro do radical livre DPPH.....	25
3.6.1.2 Método de sequestro do radical ABTS.....	26
3.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA <i>Curcuma longa</i> .....	26
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	29
4.1 MATERIAIS .....	29
4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS .....	29
4.3 PREPARO DOS EXTRATOS.....	29
4.4 COMPOSTOS BIOATIVOS.....	30
4.4.1 Antocianinas.....	30
4.4.2 Ácido Ascórbico.....	30
4.4.2.1 Preparação do DCFI.....	30
4.4.2.2 Preparação da solução padrão de ácido ascórbico.....	31
4.4.2.3 Determinação do DCFI padrão.....	31
4.4.2.4 Teste de ácido ascórbico nos extratos de açafrão-da-terra.....	31
4.4.3 Fenóis Totais.....	32
4.4.3.1 Curva de calibração.....	32
4.4.4 Flavonoides Totais .....	33
4.4.4.1 Preparação do reagente etanol-cloreto de alumínio 5%.....	33
4.4.4.2 Determinação da absorbância dos extratos de açafrão-da-terra.....	33
4.4.4.3 Curva de calibração.....	33
4.4.5 Flavonoides Amarelos .....	34
4.5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	34
4.5.1 Método do Sequestro do Radical Livre DPPH.....	34
4.5.2 Método do Sequestro do Radical ABTS .....	35
4.6 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA .....	36
4.6.1 Preparo do Inóculo Bacteriano .....	36
4.6.2 Técnica da Macrodiluição em Tubos .....	36
4.6.3 Concentração Bactericida Mínima (CBM) .....	36
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	37
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	38
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	52
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	53



## 1 INTRODUÇÃO

Para muitas comunidades e grupos étnicos, a utilização de plantas para prevenção, tratamento e cura de doenças, ainda é o único recurso medicinal disponível (MACIEL et al., 2002). A Organização Mundial de Saúde divulgou, no começo da década de 90, que 65 a 80% das pessoas de países em desenvolvimento faziam o uso dessas plantas para fins medicinais, sendo esta a forma ímpar de acesso aos cuidados fundamentais de saúde (AKERELE, 1993)

Atualmente, plantas medicinais são vendidas em feiras de rua, mercados populares, farmácias e lojas de produtos naturais. Em regiões mais pobres e em muitas residências das grandes cidades brasileiras, encontram-se essas plantas cultivadas no próprio quintal de casa. A preparação do medicamento feito a partir das plantas não segue os padrões de fabricação dos comércios com rotulagem industrializada. De modo geral, sabe-se que essas preparações não possuem qualquer garantia de qualidade (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2005).

A mídia vem apelando cada vez mais ao uso de produtos naturais, dizendo serem seguros, já que são utilizados há séculos, prometendo mais saúde e bem-estar às pessoas. No Brasil, as plantas são empregadas praticamente sem nenhuma comprovação de eficácia e segurança, sendo utilizadas sem preocupação. Porém, o que as pessoas não se atentam é à toxicidade dessas plantas que podem trazer sérios problemas de saúde. Efeitos adversos desses medicamentos naturais, adulterações que podem vir a ocorrer, toxidez e a interação com outras drogas são algumas das consequências do uso indiscriminado das plantas medicinais (VEIGA JÚNIOR; PINTO, 2005).

Devido a essas circunstâncias, em Fevereiro de 2009, o Ministério da Saúde divulgou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS). A seleção das plantas de interesse foi realizada por pesquisadores de universidades e da Farmacopeia Brasileira, por técnicos da ANVISA, representantes de serviços públicos e técnicos do Departamento de Assistência Farmacêutica (DAF). Partiram de uma lista com 237 espécies de plantas, as quais já eram conhecidas e utilizadas nos serviços de saúde dos estados e municípios e assim, separaram 100 espécies de acordo com as categorias do Código Internacional de Doenças (CID-10) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Por fim, e de acordo com o diretor do Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos, José Miguel do Nascimento Júnior (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009):

“Chegamos a 71 espécies depois de fazer um levantamento nos municípios que utilizavam plantas medicinais e fitoterápicos. Também priorizamos a inclusão de plantas nativas, que possam ser cultivadas em pelo menos uma das regiões do país e que possam atender às doenças mais comuns nos brasileiros.”

O objetivo dessa lista com 71 nomes de plantas medicinais é orientar estudos e pesquisas que possam trazer mais informações acerca de cada espécie, proporcionando o uso destas pela população de forma mais segura e mais eficaz para o tratamento de determinada doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

Com base nessas informações, foi selecionada uma das plantas medicinais da lista do RENISUS, a *Curcuma longa*, conhecida popularmente como açafrão-da-terra, para estudar suas propriedades químicas e microbiológicas, a fim de contribuir para seu uso em potencial e com maior segurança.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a secagem do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) em diferentes temperaturas, e analisar como este processo afeta no seu potencial antioxidante e no teor dos compostos bioativos. Buscar o melhor solvente extrator dos compostos antioxidantes do açafrão-da-terra desidratado e testar a atividade antimicrobiana de seus extratos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Realizar a secagem dos rizomas de açafrão-da-terra em estufa de circulação de ar a 40, 60 e 80°C;
- II. Preparar extratos a partir da maceração dos rizomas com diferentes solventes;
- III. Determinar o teor dos compostos bioativos dos rizomas: fenólicos totais, antocianinas, ácido ascórbico, flavonoides totais e flavonoides amarelos;
- IV. Determinar a capacidade antioxidante, dos diferentes extratos preparados, pelos métodos DPPH e ABTS;
- V. Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos pelo método concentração bactericida mínima (CBM), para as cepas CENT 0310 *Escherichia coli* e CENT 0313 *Staphylococcus aureus*.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 PLANTAS MEDICINAIS

Utilizadas por vários povos e das mais variadas maneiras, as plantas medicinais possuem seu uso datado desde os primórdios da civilização (FIRMO et al., 2011). Naquela época, as mulheres, por serem responsáveis por cuidar da saúde das pessoas de sua família, recorriam às plantas como um meio terapêutico (BADKE et al., 2012). Pode-se dizer que esse é um hábito que sempre existiu na história da humanidade e que corresponde a um dos recursos mais antigos utilizados pelo homem na prevenção, tratamento e cura de doenças (MORAES; SANTANA, 2001).

De acordo com a ANVISA (2009),

“Plantas medicinais são aquelas capazes de aliviar ou curar enfermidades e têm tradição de uso como remédio em uma população ou comunidade. Para usá-las, é preciso conhecer a planta e saber onde colhê-la e como prepará-la”.

Quando as plantas medicinais são submetidas a um processo de industrialização a fim de se obter um medicamento, este recebe o nome de fitoterápico e, o tratamento à base de fitoterápicos é chamado de fitoterapia.

Nos dias atuais, cerca de 80% da população ainda faz uso das plantas medicinais no tratamento de alguma doença e aplicam o saber popular, passado de geração em geração, para utilizar e empregar estes produtos naturais. No meio científico, estas são informações preocupantes, pois, na realidade, poucos são os conhecimentos acerca da confiabilidade e garantia do uso da maioria das plantas medicinais (FIRMO et al., 2011).

Segundo a ANVISA (2009):

“O processo de industrialização evita contaminações por microrganismos, agrotóxicos e substâncias estranhas, além de padronizar a quantidade e a forma certa que deve ser usada, permitindo uma maior segurança de uso”.

Sendo assim, estudos envolvendo químicos, farmacólogos, etnobotânicos e agrônomos são essenciais para que informações sobre as espécies vegetais, suas

ações, seus efeitos colaterais e tóxicos, suas interações com outros medicamentos e sua forma de produção sejam inseridos no conhecimento popular trazendo mais segurança e eficácia no uso desses novos medicamentos (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2005).

### 3.2 RENISUS

Apesar do crescimento dos laboratórios farmacêuticos e dos medicamentos sintéticos, as plantas medicinais continuam sendo usadas como forma alternativa no tratamento de doenças em várias partes do mundo. Devido a esse fato, grupos farmacêuticos começaram a aprimorar medicamentos fitoterápicos e a produzi-los em grande escala (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Estes produtos naturais possuem um papel de extrema importância na medicina moderna: fornecem medicamentos importantes, os quais seriam dificilmente obtidos por síntese química; fornecem compostos que podem ser modificados tornando-os mais eficazes ou com menor toxicidade e; os produtos naturais podem servir de modelo para a obtenção de remédios com atividades terapêuticas semelhantes a dos compostos originais (ROBBERS et al., 1996).

No Brasil, a partir da década de 1980, após a criação do Sistema Único de Saúde (SUS), temas relacionados à saúde e voltados para a medicina tradicional passaram a ser abordados. Tempo depois, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no SUS, determinada pela Portaria do Ministério da Saúde (MS) nº 971, de 03 de maio de 2006 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006), foi criada com o intuito de expandir as opções de tratamento de doenças aos usuários do SUS, incluindo as plantas medicinais, garantindo o acesso a fitoterápicos e a serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficiência e qualidade (RODRIGUES et al., 2006). Em 2007, instituiu-se o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que visava garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, incentivando a utilização sustentável da biodiversidade, o crescimento da cadeia produtiva e da indústria nacional. Além disso, o programa pretendia promover e reconhecer as técnicas populares e tradicionais de uso de plantas medicinais, fitoterápicos e remédios caseiros (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007). Desse modo, em fevereiro de

2009, o Ministério da Saúde publicou a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), na qual estão presentes 71 espécies vegetais (Quadro 1) utilizadas pela sabedoria popular e que foram confirmadas cientificamente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

**Quadro 1 — Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS).**

Espécies Vegetais			
1	<i>Achillea millefolium</i>	37	<i>Lippia sidoides</i>
2	<i>Allium sativum</i>	38	<i>Malva sylvestris</i>
3	<i>Aloe spp*</i> ( <i>A. vera</i> ou <i>A. barbadensis</i> )	39	<i>Maytenus spp*</i> ( <i>M. aquifolium</i> ou <i>M. ilicifolia</i> )
4	<i>Alpinia spp*</i> ( <i>A. zerumbet</i> ou <i>A. speciosa</i> )	40	<i>Mentha pulegium</i>
5	<i>Anacardium occidentale</i>	41	<i>Mentha spp*</i> ( <i>M. crispa</i> , <i>M. piperita</i> ou <i>M. villosa</i> )
6	<i>Ananas comosus</i>	42	<i>Mikania spp*</i> ( <i>M. glomerata</i> ou <i>M. laevigata</i> )
7	<i>Apuleia ferrea</i> = <i>Caesalpinia ferrea</i> *	43	<i>Momordica charantia</i>
8	<i>Arrabidaea chica</i>	44	<i>Morus sp*</i>
9	<i>Artemisia absinthium</i>	45	<i>Ocimum gratissimum</i>
10	<i>Baccharis trimera</i>	46	<i>Orbignya speciosa</i>
11	<i>Bauhinia spp*</i> ( <i>B. affinis</i> , <i>B. forficata</i> ou <i>B. variegata</i> )	47	<i>Passiflora spp*</i> ( <i>P. alata</i> , <i>P. edulis</i> ou <i>P. incarnata</i> )
12	<i>Bidens pilosa</i>	48	<i>Persea spp*</i> ( <i>P. gratissima</i> ou <i>P. americana</i> )
13	<i>Calendula officinalis</i>	49	<i>Petroselinum sativum</i>
14	<i>Carapa guianensis</i>	50	<i>Phyllanthus spp*</i> ( <i>P. amarus</i> , <i>P. niruri</i> , <i>P. tenellus</i> e <i>P. urinaria</i> )
15	<i>Casearia sylvestris</i>	51	<i>Plantago major</i>
16	<i>Chamomilla recutita</i> = <i>Matricaria chamomilla</i> = <i>Matricaria recutita</i>	52	<i>Plectranthus barbatus</i> = <i>Coleus barbatus</i>
17	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	53	<i>Polygonum spp*</i> ( <i>P. acre</i> ou <i>P. hydropiperoides</i> )
18	<i>Copaifera spp*</i>	54	<i>Portulaca pilosa</i>
19	<i>Cordia spp*</i> ( <i>C. curassavica</i> ou <i>C. verbenacea</i> )*	55	<i>Psidium guajava</i>
20	<i>Costus spp*</i> ( <i>C. scaber</i> ou <i>C. spicatus</i> )	56	<i>Punica granatum</i>
21	<i>Croton spp</i> ( <i>C. cajucara</i> ou <i>C. zehntneri</i> )	57	<i>Rhamnus purshiana</i>
22	<i>Curcuma longa</i>	58	<i>Ruta graveolens</i>

Espécies Vegetais			
23	<i>Cynara scolymus</i>	59	<i>Salix alba</i>
24	<i>Dalbergia subcymosa</i>	60	<i>Schinus terebinthifolius</i> = <i>Schinus aroeira</i>
25	<i>Eleutherine plicata</i>	61	<i>Solanum paniculatum</i>
26	<i>Equisetum arvense</i>	62	<i>Solidago microglossa</i>
27	<i>Erythrina mulungu</i>	63	<i>Stryphnodendron adstringens</i> = <i>Stryphnodendron barbatimam</i>
28	<i>Eucalyptus globulus</i>	64	<i>Syzygium spp*</i> ( <i>S. jambolanum</i> ou <i>S. cumini</i> )
29	<i>Eugenia uniflora</i> ou <i>Myrtus brasiliiana*</i>	65	<i>Tabebuia avellanedeae</i>
30	<i>Foeniculum vulgare</i>	66	<i>Tagetes minuta</i>
31	<i>Glycine max</i>	67	<i>Trifolium pratense</i>
32	<i>Harpagophytum procumbens</i>	68	<i>Uncaria tomentosa</i>
33	<i>Jatropha gossypifolia</i>	69	<i>Vernonia condensata</i>
34	<i>Justicia pectoralis</i>	70	<i>Vernonia spp*</i> ( <i>V. ruficoma</i> ou <i>V. polyanthes</i> )
35	<i>Kalanchoe pinnata</i> = <i>Bryophyllum calycinum*</i>	71	<i>Zingiber officinale</i>
36	<i>Lamium álbum</i>		
* definir a(s) espécie(s) com cultivo, estudos e indicação de uso.			

Fonte: Ministério da Saúde, (2009).

Várias plantas medicinais apresentam substâncias que podem desencadear reações adversas, devido a seus próprios componentes ou mesmo pela presença de contaminantes ou adulterantes nas preparações fitoterápicas, o que exige um rigoroso controle de qualidade a começar do cultivo, coleta da planta, extração de seus componentes, até a elaboração do medicamento final. Em razão disso, é que as autoridades regulatórias se preocupam com a normatização dos medicamentos fitoterápicos permitindo que aspectos relevantes, como a eficácia e a segurança do uso destes medicamentos sejam avaliados (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

### 3.3 AÇAFRÃO-DA-TERRA

A *Curcuma longa*, planta originária do sudeste da Ásia e pertencente à família Zingiberaceae, é conhecida, de acordo com a região brasileira, como cúrcuma, açafrão-da-terra, açafrão ou açafrão-da-Índia (MAIA et al.,1995). Utilizada universalmente como especiaria culinária na forma de pó apresenta aroma e sabor picante e cor amarelo à laranja intenso (FEDES; GONÇALVES, 2014) (Figura 1).



**Figura 1 – Açafrão-da-terra (*Curcuma longa*).**

Além de ser comercializado na forma de pó, o açafrão também é vendido como rizomas frescos (Figura 2), podendo ser utilizado como matéria-prima para o desenvolvimento de outros produtos. Devido as suas características funcionais como corante natural e atividade antioxidante, os rizomas frescos são muito usados em indústrias do ramo farmacêutico e alimentício, sendo neste geralmente utilizado como conservante e corante de mostardas e queijos (KOTWAL, 2011). Podem ainda ser vendidos como rizomas secos, os quais serão utilizados na fabricação de produtos como açafrão-da-terra em pó, óleo e oleoresina.





**Figura 2 – Rizomas frescos de açafrão-da-terra.**

Quando comercializada em forma de pó, a cúrcuma passa a ser utilizada principalmente no mercado de varejo fazendo parte da culinária como tempero ou corante de cor amarela, no preparo de medicamentos e também pelas indústrias de alimentos, servindo como corante e aromatizante em produtos como caldo de galinha, sopas, temperos e cereais. Na forma de óleo (Figura 3), a cúrcuma é aplicada em alguns produtos de confeitaria e em águas gaseificadas e, como oleoresina, obtida por extração com solventes, é uma forma de comercialização da cúrcuma que contém corantes, óleo volátil e lipídios (TOBON, 2015).



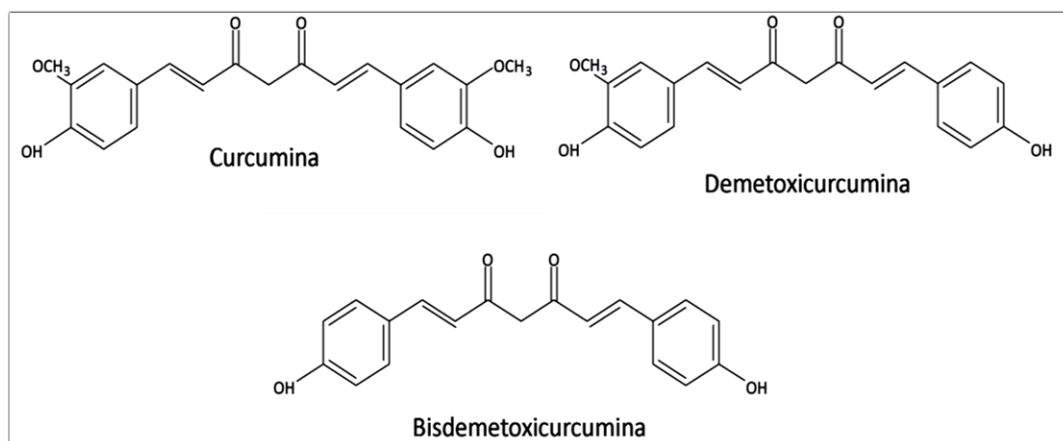
**Figura 3 – Óleo extraído do açafrão-da-terra.**

Somando as suas propriedades como corante, aromatizante, medicamento e conservante, a cúrcuma ainda apresenta outras funcionalidades medicinais como: anti-inflamatória, antibacteriana, anti-imunodeficiência viral humana e efeitos antioxidantes (ARAÚJO; LEON, 2001). Em menor quantidade, tem um relevante uso como cicatrizante, nematicida, antidiarreico e diurético (CORREA, 1926; THE MERCK, 1976; BUNYAPRAPHATSAR, 1990).

Nos laboratórios, também é utilizada como um indicador de pH (MORITA; ASSUMPÇÃO, 1981) e, mais recentemente, Barra e Vanetti (1992) citam o controle microbiano que desempenha quando empregada em alimentos industrializados.

Os rizomas de cúrcuma são classificados de acordo com o teor do corante curcumina e dos óleos essenciais presentes. A curcumina se faz presente nos rizomas em concentração variável de 2,8 a 8% (GOVINDARAJAN, 1980). De acordo com Govindarajan (1980) e Takahashi, (1987), curcumina é o nome dado ao conjunto de três compostos: curcumina (1,7-bis-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona); demetoxicurcumina, (1-(4-hidroxifenil)-7-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona); bisdemetoxi-curcumina (1,7-bis-(4-hidroxifenil)-hepta-1,6-dien-3,5-diona) (Figura 4). Nos rizomas de cúrcuma, esses três compostos estão presentes em proporções variáveis e, por exibirem um espectro de absorção numa amplitude de 420 a 425 nm, tornou-se habitual expressar o responsável pela coloração da cúrcuma, simplesmente por curcumina (RUSIG; MARTINS, 1992).

Os óleos estão presentes em concentrações entre 2,5 – 5,0% (GOVINDARAJAN, 1980), e são constituídos, segundo Rusig e Martins (1992), por cerca de 59% de tumerona, d-hidrotumerona e de cetonas aromáticas (zingibereno (25%), d-a-felandrena (1%), d-sabineno (0,6%), cineol (1%) e borneol (0,5%). Ainda há relatos de que existem outros compostos como: b-cariofileno (0,2%), b-farneseno (0,2%), ar-curcumeno (1,4%), b-curcumeno (2,5%), b-sesquifelandreno (2,4%), b-bisabolol (0,3%), ar-turmerol (0,9%), curcufenol (0,6%), a-atlantona e traços (<0,5%) de a- felandrena, p-cimeno, limoneno, 1,8-cineol, canfor, b-elemeno e germacrona (ZWAVING; BOS, 1992).



**Figura 4 – Curcumina.**  
**Fonte: Ravindran et al. (2007).**

Por estudos realizados por Tonnensen e Karlsen (1985), foi verificada a instabilidade da curcumina em pH maior que 7,0 e, por resultados de pesquisas de Rusig e Martins (1992), foi constatado que a faixa de pH entre 4,0 e 7,0 ofereceu maior estabilidade à curcumina e que em pH acima de 7,0, a velocidade de degradação foi consideravelmente maior. Ainda no trabalho de Rusig e Martins (1992), foram feitos testes com a temperatura e verificaram que até 100°C não houve degradação significativa de curcumina, porém, a 125°C, a degradação foi de 15,25%. Dentre os fatores testados, a luz foi a que mais influenciou na degradação da curcumina, atingindo o valor de 30% de perda de pigmento.

### 3.4 SECAGEM DE ALIMENTOS

A principal causa da deterioração de um alimento, por microrganismos, é a quantidade de água nele contida. Não só a decomposição, mas também alterações por reações químicas e enzimáticas são outros prejuízos causados por esse fator.

Tanto vegetais como carnes podem ter sua água retirada ao sol ou por meio de técnicas artificiais que fazem o uso de estufas, secadores de diferentes tipos e liofilizadores. Tais técnicas servem para a redução do conteúdo de água, fator de extrema importância na conservação de alimentos (CELESTINO, 2010). A secagem é o processo por meio do qual um líquido é retirado de um material. Ela apresenta vantagens por aumentar a vida útil, ter baixo custo, e facilitar a armazenagem e o transporte dos produtos (CELESTINO, 2010).

Apesar das vantagens, um grande número de transformações químicas ocorre durante a operação de secagem juntamente com as transformações físicas. De acordo com Celestino (2010), isso prejudica a qualidade do produto desidratado quando se tratam de valor nutricional, cor, sabor, aroma e textura. Reações de escurecimento enzimático e não enzimático, reações de oxidação de lipídios e de vitaminas e degradação de pigmentos, são algumas das desvantagens apresentadas pela técnica (LABUZA, 1984).

A análise da qualidade do produto final é útil como resposta às condições de secagem, sendo que, temperaturas altas e longos tempos de secagem são as principais condições responsáveis pelas perdas em termos nutricionais.

### 3.5 COMPOSTOS BIOATIVOS

Presentes em frutas e hortaliças, considerados extranutricionais e de forte atividade biológica, os compostos bioativos vêm sendo cada dia mais estudados por seus efeitos benéficos que protegem o organismo do envelhecimento e melhora a qualidade de vida.

De acordo com a ANVISA (2013):

“Substâncias bioativas são os nutrientes e não nutrientes que possuem ação metabólica ou fisiológica específica. As substâncias bioativas compreendem, entre outras, os carotenóides, os fitoesteróis, os flavonóides, os fosfolipídeos, os organossulfurados e os polifenóis. Para que uma dessas substâncias possa ser utilizada nesta categoria de produtos, é necessário que sejam encontradas naturalmente em partes comestíveis de alimentos.”

Os compostos bioativos variam em suas estruturas químicas e em suas funções biológicas. Entretanto, eles apresentam algumas semelhanças: fazem parte dos alimentos do reino vegetal, são compostos orgânicos normalmente de baixo peso molecular, são dispensáveis e não são produzidos pelo organismo humano e exibem atividade protetora na saúde quando presentes na dieta em quantidade expressiva. Do ponto de vista biológico, os compostos bioativos exercem diversas funções, como antioxidante, moduladores de enzimas de destoxificação, estimuladores do sistema imune, redutores da agregação plaquetária, moduladores do metabolismo hormonal, redutores da pressão sanguínea, e antibacteriano e antiviral (CARRATU; SANZINI, 2005).

Por haver um grande número, essas substâncias bioativas podem ser subdivididas em grupos com milhares de compostos diferentes. Algumas pertencem a certa espécie ou gênero de plantas, outras são reunidas por um complexo critério classificatório (CARRATU; SANZINI, 2005).

#### 3.5.1 Antocianinas

As antocianinas são pigmentos vegetais, responsáveis pela coloração de uma grande variedade de frutas, flores, folhas, legumes e hortaliças, que podem variar do vermelho ao azul. Trata-se de compostos fenólicos, os quais pertencem à família dos flavonoides (amplo grupo de pigmentos naturais). Como característica,

possuem uma estrutura policíclica de quinze carbonos, chamado cátion flavila, ou flavílio, (2-fenilbenzopirílio), o qual é composto por dois anéis aromáticos ligados por uma unidade de três carbonos e condensados por um oxigênio (LÓPEZ et al., 2000) (Figura 5).

As antocianinas são solúveis em água e em altas temperaturas se tornam fortemente instáveis, ocorrendo sua degradação. Estudos revelaram uma relação logarítmica entre a degradação das antocianinas e o aumento aritmético da temperatura. Para maior retenção desses pigmentos, procedimentos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido aconselhados (MARKAKIS, 1982).

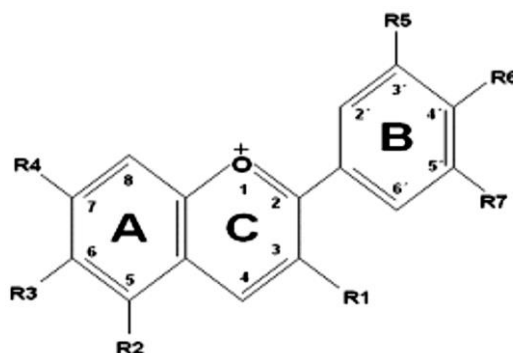


Figura 5 – Cátion flavila: estrutura química geral das antocianinas.  
Fonte: (LÓPEZ et al., 2000).

Estudos realizados com pigmentos isolados na região UV-Vis, mostraram que todos os flavonoides apresentam alta absorbância na faixa de 250 a 270 nm (região UV) e, particularmente as antocianinas, exibem uma intensa absorção na faixa de 520 a 560 nm (região visível). Isto tem indicado que, a absorção UV pode ser atribuída ao anel A, enquanto que a absorção visível deve-se ao pirano e ao anel B (BROUILLARD, 1983; BROUILLARD et al., 1991) (Figura 5).

Na dieta humana, as antocianinas, por apresentarem um alto poder antioxidante e anti-inflamatório, estão sendo adicionadas a produtos alimentícios (LI et al., 2012). A partir de pesquisas, esses compostos são considerados aliados na prevenção ou retardamento de doenças do coração, doenças neurodegenerativas, diabetes, câncer, entre outras (WANG; STONER, 2008).

### 3.5.2 Ácido Ascórbico

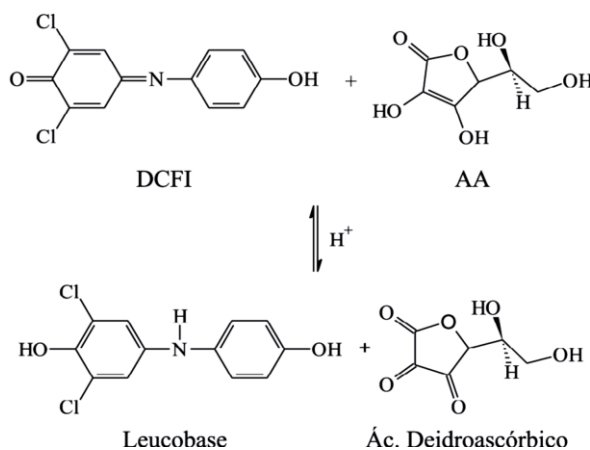
O ácido ascórbico (AA), conhecido como vitamina C, é largamente utilizado em indústrias alimentícias pela sua ação antioxidante (CHAMBERS et al., 1996). É um composto essencial à saúde, que desempenha papel fundamental no desenvolvimento e reconstituição de músculos, pele, dentes e ossos, na produção de hormônios, na constituição do colágeno, no controle da temperatura corporal e no metabolismo em geral (GAMA et al., 2002).

Há uma classificação das fontes de AA, que são separadas de acordo com a quantidade em mg de AA presente em 100g do produto: fontes elevadas contêm de 100 a 300 mg 100 g<sup>-1</sup> (morango, goiaba e abacaxi); fonte média contêm de 50 a 100 mg 100 g<sup>-1</sup> (laranja, limão e papaia), e fontes baixas contêm de 25 a 50 mg 100 g<sup>-1</sup> (lima, pêra e manga) (GAMA et al., 2002).

O ácido ascórbico é um dos nutrientes de maior sensibilidade às condições de processamento e de armazenagem, e a sua degradação está atribuída a fatores como: pH, luz, temperatura e conteúdo de umidade (GAMA et al., 2002).

Na desidratação de um alimento, a perda de ácido ascórbico é afetada principalmente pela aplicação de altas temperaturas. A partir do estudo de Zanoni et al. (1999), foi verificada que a taxa de degradação da vitamina C durante a secagem de tomate na temperatura de 80 a 110°C foi dependente tanto da temperatura quando do conteúdo de umidade, não tendo sido detectada vitamina C nas amostras com 50% de umidade e temperatura de 110°C. Quanto menor a temperatura, maior a influência da umidade. Uma possível explicação é que, quanto menor a umidade do produto, maior a sua viscosidade e conseqüentemente menor mobilidade molecular e de oxigênio, diminuindo as taxas de reação (JAYARAMAN; DAS GUPTA, 1992).

Para a determinação de AA, o 2,6- diclorofenolindofenol (DCFI), conhecido como reativo de Tillmans é o reagente mais popular utilizado na titulação direta de ácido ascórbico. O DCFI é um indicador bem colorido (azul) que é reduzido pelo ácido ascórbico, dando formação a uma leucobase de coloração rósea e ao ácido deidroascórbico (LIMA et al., 2007) (Figura 6).



**Figura 6 – Redução do DCFI pelo AA.**  
**FONTE: LIMA et al., (2007).**

### 3.5.3 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos estão largamente espalhados por todo reino vegetal sendo produzidos a partir do metabolismo secundário das plantas, os quais são primordiais para o seu crescimento e reprodução. As principais fontes desses compostos são frutas como limão, laranja, tangerina, cereja, uva, ameixa, pêra, maçã e mamão. Além disso, alimentos como tomate, alho, repolho roxo, cebola, brócolis e pimenta verde são exemplos de outras fontes de compostos fenólicos (PIMENTEL et al., 2005).

Quimicamente, compostos fenólicos são substâncias que possuem anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (LEE et al., 2005). Por possuírem estruturas variáveis, são considerados compostos multifuncionais, existindo cerca de cinco mil compostos fenólicos, dentre eles, os flavonoides, fenóis, taninos, tocoferóis, ácidos fenólicos, cumarinas, ligninas e taninos (SHAHIDI; NACZK, 1995).

Devido as suas propriedades redutoras e estruturas químicas, os compostos fenólicos são classificados como interruptores de radicais livres, exibindo uma alta atividade antioxidante (SHAHIDI et al., 1992). Quando incorporados na alimentação humana, os compostos fenólicos com sua atividade antioxidante não só conservam a qualidade do alimento como também reduzem a oxidação lipídica em tecidos vegetais e animais, diminuindo o risco de desenvolvimento de doenças como câncer e arteriosclerose (NAMIKI, 1990; RAMARATHNAM et al., 1995).

A quantificação espectroscópica de compostos fenólicos é efetuada, geralmente, por meio da técnica que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu. Este reagente é uma mistura dos ácidos fosfotungstúico e fosfomolibdúico, em que o molibdênio está no estado de oxidação +6 (coloração amarela no complexo  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), porém, em presença de alguns agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados complexos tungstênio azul e molibdênio azul (ou molibdênio – tungstênio azuis)  $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$ , nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre +5 (V) e +6 (VII) e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não precisam ter natureza fenólica (NACZK; SHAHIDI, 2004; OLIVEIRA et al., 2009).

### 3.6 ANTIOXIDANTES

Doenças degenerativas relacionadas ao envelhecimento, como câncer, catarata, doenças cardiovasculares, enfraquecimento do sistema imune e disfunções cerebrais, vêm sendo cada vez mais associadas à ação dos radicais livres e outros oxidantes (BARREIROS et al., 2006).

A oxidação, no organismo humano, é parte importante para a obtenção de energia. Desse modo, os radicais livres são gerados de forma espontânea, ou devido a alguma disfunção biológica. Porém, por apresentarem um elétron desemparelhado centrado nos átomos de oxigênio (ERO's – Espécies Reativas de Oxigênio) ou nitrogênio (ERN's – Espécies Reativas de Nitrogênio), também apresentam efeitos prejudiciais (VISIOLI et al., 2000).

As espécies reativas de oxigênio são divididas em duas classes: os radicalares e os não-radicalares. O grupo dos radicalares é composto pelo radical hidroxila ( $\cdot\text{OH}$ ), ânion radical superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), a hidroperoxila ( $\text{ROO}\cdot$ ) e a alcóxila ( $\text{RO}\cdot$ ); e os não-radicalares são constituídos pelo oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso (HALLIWELL, 1999; CADET et al., 1999).

As espécies reativas de nitrogênio são, por exemplo, o óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ), o óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), o ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), os nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ) e nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) e os peroxinitritos ( $\text{ONOO}\cdot$ ) (HALLIWELL, 1999; CADET et al., 1999).

Na produção de radicais livres ocorre um controle destes por outras substâncias, denominadas antioxidantes, que são compostos que retardam ou inibem a oxidação do substrato quando presentes em baixas concentrações,

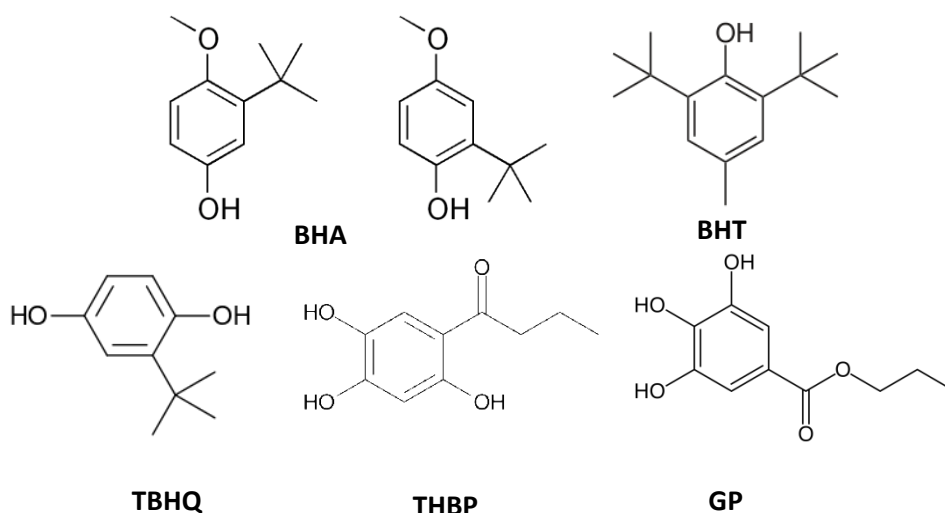


comparadas ao substrato oxidável (BARREIROS et al., 2006; VALKO et al., 2004; EL-AGAMEY, 2004; OMONI; ALUKO, 2005).

Os antioxidantes podem ter origem endógena (superóxido dismutase) ou exógena ((tocoferóis ou vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), polifenóis, selênio e carotenoides) (VALKO et al., 2004; EL-AGAMEY, 2004; OMONI; ALUKO, 2005; HASLAM, 1996).

Quando a disponibilidade de antioxidantes se torna pequena, podem ocorrer lesões oxidativas no organismo. Os compostos antioxidantes têm a capacidade de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem alvos biológicos nas células (BARREIROS et al., 2006).

Em indústrias alimentícias, os antioxidantes mais utilizados são o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxi-tolueno (BHT), terc-butil-hidroxi-quinona (TBHQ), tri-hidroxi-butil-fenona (THBP) e galato de propila (GP) (Figura 7). Pesquisas realizadas têm mostrado que, por serem compostos sintéticos estes antioxidantes vêm apresentando alguns efeitos tóxicos, e devido a esses problemas, a procura por antioxidantes de origem natural está aumentando (HASLAM, 1996; SOARES, 2002).



**Figura 7 – Antioxidantes sintéticos comumente utilizados na indústria.**

Uma das possíveis classes de antioxidantes de ocorrência natural é a de compostos fenólicos devido as suas propriedades redutoras e estrutura química, as quais desempenham funções importantes na etapa inicial e ao longo do processo oxidativo (HASLAM, 1996; SOARES, 2002; CHUN et al., 2005).

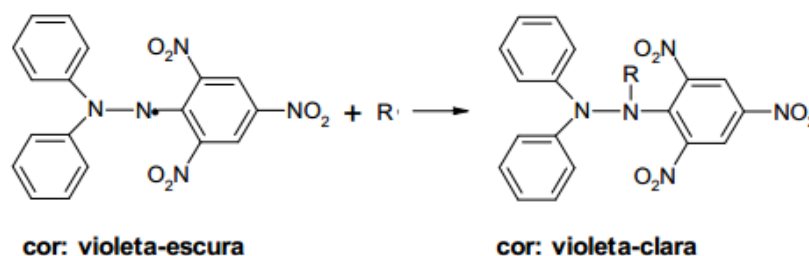
### 3.6.1 Métodos de Análise de Atividade Antioxidante

Para a análise da atividade antioxidante em compostos orgânicos, os métodos comumente utilizados são o método de sequestro de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2'-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (SCHAICH; XIE, 2015).

#### 3.6.1.1 Método de sequestro do radical livre DPPH

Este é um dos métodos mais utilizados para determinar a atividade antioxidante de produtos naturais e compostos individuais, que consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2- difenil-1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura que absorve dentro do intervalo de 515-520 nm (BRAND-WILLIAMS et al, 1995; ROGINSKY; LISSI, 2005). É um radical estável que reage com compostos doadores de hidrogênio (antioxidantes (AH) ou uma espécie radicalar (R•)) sendo reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela (Figura 8), com conseqüente diminuição da absorção. Com os resultados obtidos, a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou a porcentagem de DPPH• restante no meio reacional é determinada (BRAND-WILLIAMS et al, 1995; SÁNCHEZ-MORENO, 1998).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) está relacionada à quantidade do radical DPPH consumido pelo antioxidante. Quanto maior o consumo do radical DPPH por uma amostra, maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).



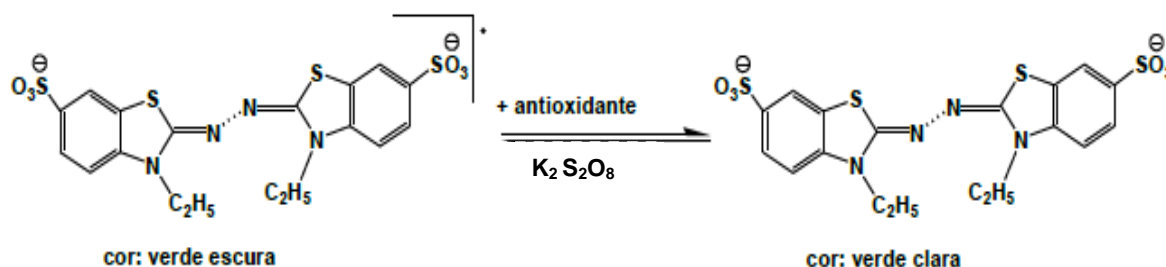
**Figura 8 - Reação entre o radical de DPPH• e um antioxidante para formar DPPH reduzido.**

Fonte: RUFINO et al., (2007)

### 3.6.1.2 Método de sequestro do radical ABTS

Outra técnica muito usada para avaliar a atividade antioxidante é o teste com o radical ABTS, o qual está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion  $ABTS^{\bullet+}$  (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) (KUSKOSKI et al., 2005) (Figura 9), provocando uma diminuição na absorbância. Trata-se de uma técnica simples que pode ser reproduzida em qualquer laboratório (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

O radical  $ABTS^{\bullet+}$  é gerado a partir do ácido 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico. É um composto cromóforo, estável quimicamente apresentando alta solubilidade aquosa e um máximo de absorbância no comprimento de onda de 734nm (MILLER et al., 1993; ANTOLOVICH et al., 2002).



**Figura 9 - Estabilização do radical  $ABTS^{\bullet+}$  por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.**

Fonte: CAMPOS; LISSI (1997).

### 3.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Curcuma longa*

A procura por antimicrobianos à base de espécies vegetais vem se mostrando cada vez mais expressiva com o objetivo de solucionar problemas de resistência microbiana a antibióticos empregados nos dias de hoje (HAIDA et al., 2007).

Utilizadas para melhorar ou alterar o sabor dos alimentos, as especiarias possuem metabólitos secundários, como os óleos essenciais, que funcionam como protetores das plantas contra microrganismos (BAKKALI et al., 2008).

Em relação ao açafrão-da-terra, pesquisas microbiológicas realizadas mostraram uma grande inibição no crescimento *in vitro* de bactérias, como *Staphylococcus aureus* (GUL et al., 2004). De acordo com Singh et al. (2002) e Tønnesen e Karlsen (1987), uma fraca atividade antibacteriana foi verificada para o açafrão-da-terra em relação ao *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. epidermidis* e *Salmonella typhimurium*.

Kim et al. (2003) relataram que os extratos da cúrcuma apresentaram atividade antifúngica *in vitro* para algumas cepas de *Trichophyton* e para *Botrytis*, *Erysiphe*, *Phytophthora*, *Puccinia*, *Pyricularia* e *Rhizoctonia*. O óleo essencial apresentou atividade antimicrobiana contra diferentes sorovares de *Salmonella* (Franco et al., 2007; Péret-Almeida et al., 2008; Rattanachaiakunsopon; Phumkhachorn, 2010). No trabalho de Lawhavinit et al. (2010), os rizomas secos de cúrcuma foram extraídos com etanol e hexano e ambos mostraram atividades inibitórias contra treze bactérias patogênicas isoladas do camarão e do frango: *Vibrio harveyi*, *V. cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staph. epidermidis*, *Staph. intermidis*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus* and *Edwardsiella tarda*.

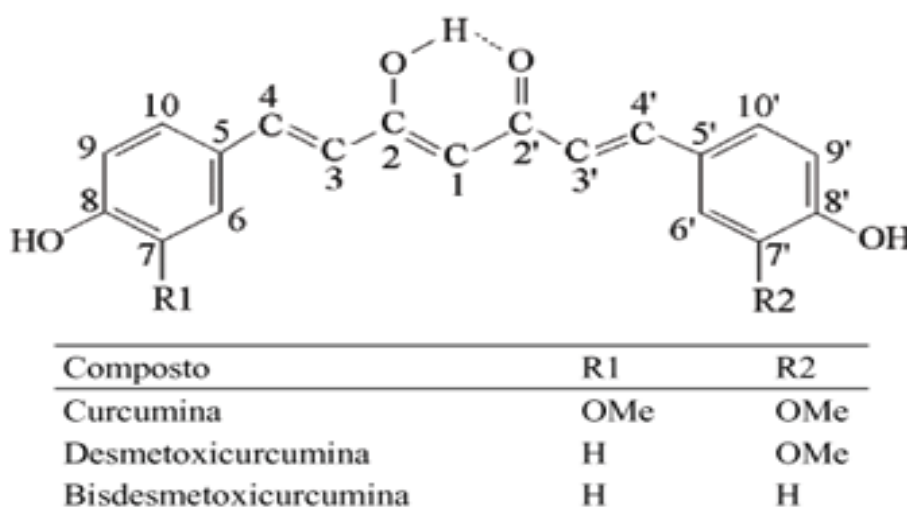


Figura 10 – Estrutura química dos pigmentos curcuminoides da *Curcuma longa*.  
Fonte: Péret-Almeida et al., (2008).

Tomando como referência estes estudos, pode-se afirmar alguma atividade antimicrobiana da cúrcuma. Essa propriedade tem sido associada aos pigmentos curcuminoides (Péret-Almeida et al., 2008) (Figura 10). A cúrcuma em pó contém, além dos pigmentos, os óleos essenciais, os quais também apresentam atividade

antimicrobiana (NEGI et al., 1999). Os resultados dos estudos realizados por Péret-Almeida et al. (2008) mostraram um grande potencial antimicrobiano para o óleo essencial da cúrcuma. São vários componentes no óleo que podem ser os responsáveis por essa atividade como os fenóis, terpenos, aldeídos e cetonas (BRAGA et al., 2003; MATA et al., 2004). Porém, mais pesquisas são necessárias para a identificação de quais seriam os verdadeiros compostos responsáveis pela atividade biocida ou bioestática no óleo essencial da cúrcuma e as prováveis interações (Péret-Almeida et al., 2008).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS

O açafão-da-terra foi adquirido em um sítio do município de Maringá. Reagentes tais como: etanol, metanol, ácido oxálico, 2,6-diclorofenolindofenol, Folin-Ciocalteu, cloreto de alumínio, ácido clorídrico, rutina, 2,2-difenil-a-picrilhidrazil (DPPH), butil hidroxi tolueno e 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico foram utilizados.

As linhagens bacterianas empregadas foram CENT 0310 *Escherichia coli* e CENT 0313 *Staphylococcus aureus*, gentilmente cedidas pelo Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). O cultivo das linhagens foi realizado em caldo Brain Heart Infusion (Himedia) e para o teste da Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi usado o Plate Count Agar (PCA) (Himedia).

### 4.2 PREPARO DAS AMOSTRAS

Um quilo e duzentos gramas de rizomas de açafão-da-terra foram divididos em três porções de pesos iguais, lavados e cortados em fatias finas para serem secos em estufa com circulação de ar nas temperaturas de 40, 60 e 80°C. Após a secagem, os rizomas foram triturados em liquidificador doméstico para formação de pó e armazenados sob refrigeração ao abrigo da luz, para análises posteriores.

### 4.3 PREPARO DOS EXTRATOS

Os estudos foram dirigidos com os rizomas secos de açafão-da-terra. Os extratos dos mesmos foram preparados com etanol:água 70:30, etanol:água 95:5, metanol:água 70:30 e metanol:água 95:5 (v:v), utilizando-se 100 mL do solvente extrator com 1,0 g do pó do rizoma em agitação magnética ao abrigo da luz. Após quatro horas de agitação, os extratos foram filtrados com papel filtro para um balão volumétrico de 100,0 mL tendo seus volumes ajustados com os solventes

apropriados e armazenados sobre refrigeração em frasco âmbar, para posterior análise. Os extratos foram preparados em duplicata.

#### 4.4 COMPOSTOS BIOATIVOS

##### 4.4.1 Antocianinas

A determinação das antocianinas totais foi realizada segundo a metodologia de Francis (1982). Para a extração das antocianinas, pesou-se 1,00 g do pó de açafreão-da-terra sendo a ele adicionados 30 mL da solução extratora: etanol 95% e HCl 1,5 M (85:15), seguido de agitação magnética por dois minutos. Sem filtrar, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, sendo o volume completado com a solução extratora, seguido por armazenamento em frasco de vidro envolto em papel alumínio e refrigeração por 16 horas.

O extrato foi filtrado em um béquer e mantido envolto em papel alumínio. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro Agile Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 535 nm e os resultados foram expressos em mg por 100g de rizoma. Os cálculos foram realizados segundo a equação (1).

$$\text{Antocianinas totais} = \frac{\text{Fator de diluição} \cdot \text{Absorbância}}{98,2} \quad (1)$$

##### 4.4.2 Ácido Ascórbico

O teor de ácido ascórbico foi baseado na metodologia descrita por Horwitz (2000) e modificado por Benassi e Antunes (1988) com alterações.

###### 4.4.2.1 Preparação do DCFI

Foram pesados 100 mg de 2,6-diclorofenolindofenol e diluídos em 50 mL de água destilada fervente. Em seguida, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 1L e completado com água destilada juntamente com 210 mg de bicarbonato de sódio. A solução foi armazenada em frasco âmbar sob refrigeração.

#### 4.4.2.2 Preparação da solução padrão de ácido ascórbico

Foram diluídos 15 mg de ácido ascórbico P.A. com ácido oxálico 2% (m/v) em um balão volumétrico de 50 mL.

#### 4.4.2.3 Determinação do DCFI padrão

A um balão volumétrico de 50 mL, foram adicionados 2 mL da solução padrão de ácido ascórbico e o volume foi completado com ácido oxálico 2% (m/v). Desta diluição, tomou-se uma alíquota de 10 mL a qual foi transferida para um erlenmeyer e titulada com DCFI 0,01% até a obtenção de uma coloração rósea clara.

#### 4.4.2.4 Teste de ácido ascórbico nos extratos de açafão-da-terra

Para a determinação do teor de ácido ascórbico do açafão, 1,0 g de pó dos rizomas foi transferido para um béquer juntamente com 100 mL de ácido oxálico a 2%. Após 15 minutos sob agitação magnética, a mistura foi filtrada em um balão volumétrico de 100 mL, e o volume do balão completado com ácido oxálico 2%. Do balão foi retirada uma alíquota de 2,0 mL e esta transferida para um erlenmeyer contendo 50 mL de ácido oxálico 2% sendo, a seguir, realizada a titulação com 0,01% de 2,6-diclorofenolindofenol até obter-se uma coloração rósea clara.

Os cálculos foram realizados de acordo com a equação (2) e (3), onde "C" é a quantidade de Ácido Ascórbico (mg) presente em 100 g de amostra, "p" é o volume (mL) gasto de indicador DCFI que reage com 10 mL de uma solução padrão de AA cuja concentração é "c" (mg mL<sup>-1</sup>). "V" é o volume (mL) de indicador DCFI utilizado na titulação da amostra e "m" é a quantidade de amostra (g) utilizada na extração.

$$C = \frac{100 \cdot V \cdot f}{m} \quad (2)$$

$$f = \frac{10 \cdot c}{p} \quad (3)$$



#### 4.4.3 Fenóis Totais

Os fenóis totais dos quatro extratos preparados, Etanol (EtOH) 70%, EtOH 95%, metanol (MeOH) 70% e MeOH 95%, foram determinados usando o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia descrita por Swain e Hills (1959).

Foram adicionados 0,5 mL do extrato, 8,0 mL de água e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu a um tubo de ensaio envolto em papel alumínio. Agitou-se, utilizando o agitador de tubos tipo vortex e, após 3 minutos, foi adicionado 1,0 mL de uma solução aquosa de carbonato de sódio 4%, mais uma vez agitando o tubo com o auxílio do agitador de tubos tipo vortex. Para cada extrato, foram feitas 3 replicatas.

Um controle foi conduzido nas mesmas condições, substituindo a amostra por 0,5 mL de etanol. Devido à coloração amarela dos extratos, foi conduzido um branco para cada extrato substituindo o reagente Folin – Ciocalteu por 0,5 mL de etanol.

Após uma hora mantendo os tubos no escuro, as leituras foram realizadas a 760 nm em espectrofotômetro Agile Technologies, modelo Cary 60 UV-vis.

##### 4.4.3.1 Curva de calibração

Para a quantificação dos fenóis totais, foi construída uma curva de calibração com uma solução aquosa de ácido gálico.

Os pontos utilizados na confecção da curva foram preparados em balões volumétricos de 10 mL, sendo diluídos a partir de uma solução estoque de ácido gálico de concentração  $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . As concentrações escolhidas foram de 100, 80, 60, 40, 20 e  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . O mesmo procedimento realizado com os extratos foi aplicado aos pontos da curva de calibração.

Os resultados foram expressos em mg EAG  $100 \text{ g}^{-1}$  de rizoma, onde EAG representa o equivalente em ácido gálico.

#### 4.4.4 Flavonoides Totais

Os flavonoides totais foram determinados segundo a metodologia proposta por Woisky e Salatino (1998).

##### 4.4.4.1 Preparação do reagente etanol-cloreto de alumínio 5%

Foram pesados 2,5 g de cloreto de alumínio e este foi dissolvido em balão volumétrico de 50 mL utilizando etanol.

##### 4.4.4.2 Determinação da absorbância dos extratos de açafão-da-terra

Os extratos de açafão-da-terra, com concentração  $10.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$  foram diluídos 100 vezes e, em seguida, individualmente, foram pipetados 2,0 mL de cada em tubos de ensaio, totalizando 3 replicatas para cada extrato.

Após a adição do extrato, adicionaram-se 2,0 mL de etanol e 1,0 mL de reagente etanol-cloreto de alumínio 5% seguido de agitação do tubo.

Preparou-se um controle utilizando 4,0 mL de etanol e 1,0 mL de reagente etanol-cloreto de alumínio 5%. Devido à coloração amarela dos extratos, foi conduzido um branco para cada extrato substituindo o reagente etanol-cloreto de alumínio 5% por 1,0 mL de etanol.

As leituras foram realizadas após 30 minutos a 425 nm em espectrofotômetro Agile Technologies, modelo Cary 60 UV-vis.

##### 4.4.4.3 Curva de calibração

Para a quantificação dos flavonóides totais, foi construída uma curva de calibração com uma solução metanólica de rutina.

Os pontos a serem utilizados na confecção da curva foram preparados em balões volumétricos de 10 mL, sendo diluídos a partir de 50 mL de uma solução estoque de rutina de concentração  $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . As concentrações escolhidas foram de 200, 150, 100, 75, 50, 30 e  $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ . O mesmo procedimento realizado com os extratos foi aplicado aos pontos da curva de calibração, substituindo o etanol por metanol HPLC.

Os resultados foram expressos em mg de rutina por grama de extrato.

#### 4.4.5 Flavonoides Amarelos

Para a determinação dos flavonoides amarelos foi utilizada a metodologia de Francis (1982), a mesma usada para a determinação das antocianinas anteriormente explicada.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro Agile Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 374 nm e os resultados foram expressos em mg por 100g de rizoma.

Os cálculos para determinação dos flavonoides amarelos foram realizados de acordo com a equação (4), onde (FD) representa o fator de diluição e (A) a absorbância determinada.

$$\text{Flavonoides} = \frac{\text{FD} \cdot A}{76,6} \quad (4)$$

#### 4.5. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

##### 4.5.1 Método do Sequestro do Radical Livre DPPH

Para determinação da atividade antioxidante dos quatro extratos foi utilizada 100 mL de uma solução 60  $\mu\text{M}$  de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em metanol (MeOH HPLC).

Em uma cubeta adicionou-se 2,0 mL da solução do radical DPPH e 1,0 mL de extrato. Um controle foi conduzido nas mesmas condições, substituindo o extrato por 1,0 mL de metanol. Devido à coloração amarela dos extratos, foi conduzido um branco para cada extrato substituindo o radical DPPH por 2,0 mL de metanol.

A seguir foram realizadas as leituras a cada um minuto em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 517 nm, durante meia hora (BRAND-WILLIAMS et al., 1995, MILIAUSKAS et al., 2004).

A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a equação (5), na qual ( $A_c$ ) representa a

absorbância do branco – controle, ( $A_b$ ) a absorbância do branco de cada extrato e ( $A_a$ ) representa a absorbância do extrato.

$$AA\% = \frac{A_c - (A_a - A_b)}{A_c} \quad (5)$$

#### 4.5.2 Método do Sequestro do Radical ABTS

A atividade antioxidante dos quatro extratos foi determinada segundo a metodologia de Rufino et al. (2007), adaptada de Larrauri et al. (1997).

O radical ABTS foi preparado a partir da reação entre 5,0 mL da solução estoque de ABTS (192,0 mg de ABTS em 50,0 mL de água destilada) e  $88 \mu\text{g.mL}^{-1}$  da solução de persulfato de potássio (378,4 mg de persulfato de potássio em 10,0 mL de água). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente, por 16 horas. A seguir a mistura foi diluída até obter uma absorbância entre 0,8 – 0,9 a 734 nm.

Em uma cubeta adicionou-se 3,0 mL da solução do radical ABTS e  $33,0 \mu\text{L}$  de extrato. Um controle foi conduzido nas mesmas condições, contendo apenas 3,0 mL do radical ABTS. Devido à coloração amarela dos extratos, foi conduzido um branco para cada extrato substituindo o radical ABTS por 3,0 mL de etanol.

A seguir foram realizadas as leituras a cada um minuto em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 734 nm, durante quinze minutos. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a equação (6), na qual ( $A_c$ ) representa a absorbância do controle e ( $A_a$ ) representa a absorbância do extrato.

$$AA\% = \frac{A_c - A_a}{A_c} \quad (6)$$

## 4.6 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

### 4.6.1 Preparo do Inóculo Bacteriano

Os inóculos bacterianos foram preparados com auxílio de uma alça de inoculação, em caldo Brain Heart Infusion. Em seguida, foram incubados a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 24 horas, para a obtenção de uma turbidez correspondente a 0,5 da escala McFarland, ou seja,  $10^8$  unidades formadoras de colônia (UFC)  $\text{mL}^{-1}$ .

### 4.6.2 Técnica da Macrodiluição em Tubos

Foram preparadas dez diluições seriadas do antimicrobiano em escalas decrescentes de concentrações para cada extrato de cúrcuma (600.000, 540.000, 480.000, 420.000, 360.000, 300.000, 240.000, 180.000, 120.000 e 60.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Em seguida, foram adicionados 100  $\mu\text{L}$  do cultivo bacteriano em cada tubo. Foi adicionada água estéril em cada tubo, tendo um volume final de 2 mL por tubo. Os tubos foram então colocados em estufa a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 24 horas. Para cada extrato e linhagem, os experimentos foram realizados em duplicata.

### 4.6.3 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Como a coloração dos extratos impedia a verificação da turbidez, ou seja, o crescimento das linhagens, após o período de incubação, alíquotas de 100  $\mu\text{L}$  de cada tubo foram transferidas para placas de Petri com ágar PCA, incubadas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , por mais 24 horas, para verificar a CBM.

A CBM foi determinada na menor concentração dos extratos onde não houve crescimento bacteriano.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados foram obtidos através da média das repetições  $\pm$  desvio padrão e foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ), com comparações múltiplas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software GraphPad InStat, Versão 3.02 (1998).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A secagem dos rizomas de açafirão-da-terra foi realizada nas temperaturas de 40, 60 e 80°C. A Tabela 1 indica os valores obtidos para a secagem destes em suas determinadas temperaturas.

**Tabela 1 - Secagem dos rizomas de açafirão-da-terra a diferentes temperaturas.**

Temperatura (°C)	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Rendimento (%)	Tempo de secagem (horas)
40	400,00	94,30	23,58	23
60	400,00	65,74	16,44	13
80	400,00	47,15	11,79	5

**Fonte: Autoria própria.**

Por apresentarem-se sensíveis à temperatura, a maioria dos compostos bioativos degrada-se, tornando relevante a análise de como a secagem em diferentes temperaturas afeta estas substâncias.

Conforme os dados obtidos, para a menor temperatura de secagem, foi possível obter um rendimento de 23% e para a maior temperatura, 11%, num tempo de 23h e de 5h de secagem respectivamente.

### Antocianinas e Flavonoides amarelos

O açafirão-da-terra teve seu teor de antocianinas e flavonoides amarelos avaliado em três temperaturas de secagem diferentes: 40°, 60° e 80°C. Na Tabela 2 abaixo, encontram-se os resultados obtidos.

De acordo com os dados da tabela, observa-se que, as temperaturas de secagem de 40° e 60°C apresentaram os maiores valores de antocianinas, não havendo diferença significativa nos seus valores. Com o aumento da temperatura de secagem para 80°C, observa-se uma diminuição no teor de antocianinas para o açafirão-da-terra. O aumento da temperatura levou a maiores perdas de antocianinas, o que se deve à alta instabilidade deste pigmento que se degrada a temperaturas elevadas.

**Tabela 2 – Teor de antocianinas e flavonoides amarelos encontrados de acordo com a temperatura de secagem dos rizomas de açafrão-da-terra.**

Temperatura (°C)	Antocianinas (mg 100 g <sup>-1</sup> )	Flavonoides amarelos (mg 100 g <sup>-1</sup> )
40	4,89 ± 0,13 <sup>a</sup>	247,62 ± 6,77 <sup>a</sup>
60	5,52 ± 0,29 <sup>a</sup>	246,24 ± 5,22 <sup>a</sup>
80	3,71 ± 0,20 <sup>b</sup>	237,03 ± 6,33 <sup>a</sup>

**Fonte: Autoria própria.**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

a, b....Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

No trabalho de Severo et al. (2009) para o mirtilo, o valor encontrado de antocianinas foi de 716 mg antocianinas por 100 g de mirtilo. Desta maneira, pode-se dizer que o açafrão apresentou valores baixos de antocianinas. O mesmo ocorre para o gengibre (CAMARGO, 2016), pertencente à mesma família do açafrão, que apresentou os valores de 10,90±0,13 mg 100 g<sup>-1</sup>, 6,96±0,30 mg 100 g<sup>-1</sup> e 7,31±0,23 mg 100 g<sup>-1</sup> para as temperaturas de 40, 60 e 80°C respectivamente.

Para flavonoides amarelos, observa-se através dos valores obtidos que o aumento da temperatura de secagem não influenciou na quantidade destes compostos.

Comparando os valores de flavonoides amarelos encontrados para o açafrão com o estudo realizado por Silva et al. (2014) com frutas tropicais (acerola (98,05 ± 0,19 mg 100 g<sup>-1</sup>), caju (44,91 ± 4,43 mg 100 g<sup>-1</sup>) e mamão papaia (97,30 ± 0,96 mg 100 g<sup>-1</sup>)), o teor de flavonoides amarelos para o açafrão apresenta-se alto. E, quando comparado ao gengibre (CAMARGO, 2016), que também possui valores altos comparado com o estudo anteriormente citado, sendo 200,15±0,82 mg 100 g<sup>-1</sup>, 144,53±0,06 mg 100 g<sup>-1</sup> e 153,43±0,14 mg 100 g<sup>-1</sup> para as temperaturas de secagem de 40,60 e 80°C respectivamente, o teor encontrado no açafrão ainda é maior.

### Ácido ascórbico

Os dados da análise do ácido ascórbico realizada com o açafrão-da-terra estão apresentados na Tabela 3. Os valores foram calculados de mg de AA por 100 g de açafrão em cada uma das temperaturas de secagem: 40°, 60° e 80°C.



Por esta análise, verifica-se que o teor de AA no açafão-da-terra está de acordo com o que está relatado na literatura, pois houve modificação significativa no teor de AA com o aumento de temperatura de 40 para 60°C.

**Tabela 3 – Teor de AA em mg 100 g<sup>-1</sup> de açafão nas diferentes temperaturas de secagem.**

40°C	60°C	80°C
1,70 ± 0,07 <sup>a, b</sup>	1,59 ± 0,04 <sup>b</sup>	1,85 ± 0,04 <sup>a</sup>

**Fonte: Autoria própria.**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

a, b....Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

De acordo com Ordóñez et al. (2007) e Celestino (2010), os teores de ácido ascórbico variam muito nos alimentos. Por ser hidrossolúvel, é muito sensível ao calor e à oxidação, e a destruição do ascorbato é exclusiva de cada alimento, variando bastante com a atividade da água.

Segundo a classificação de GAMA et al. (2002), o açafão está classificado como uma fonte muita baixa de vitamina C para as temperaturas de secagem estudadas enquanto o gengibre está classificado como uma fonte média para as mesmas temperaturas de secagem, sendo obtido para 40 e 60°C um teor de ácido ascórbico de 75,19 ± 2,33 mg 100 g<sup>-1</sup> e de 78,33 ± 2,70 mg 100 g<sup>-1</sup> para a temperatura de 80°C (CAMARGO, 2016).

#### Fenóis totais

O conteúdo de fenóis totais dos extratos foi calculado utilizando a equação da reta obtida para o ácido gálico e expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de açafão (mg EAG 100 g<sup>-1</sup>). A curva de calibração de ácido gálico está representada na Figura 11.

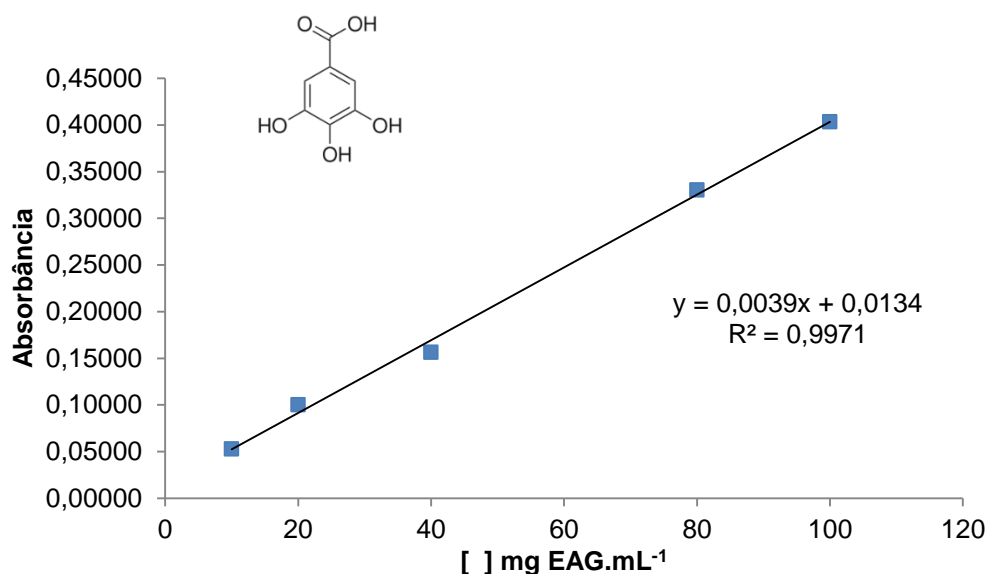


Figura 11 - Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos. Fonte: Autoria própria

O teor de fenóis totais baseado no poder redutor dos diferentes extratos de açafraão, secos em diferentes temperaturas e extraídos com solventes distintos, com concentração de  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados dos fenóis totais em  $\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$  amostra para os diferentes extratos de açafraão.

Solvente	40°C	60°C	80°C
EtOH 70%	$1158,33 \pm 83,88^{a, A, B}$	$564,00 \pm 60,32^{c, F}$	$835,44 \pm 24,08^{a, D, E}$
EtOH 95%	$906,56 \pm 44,12^{b, c, C, D}$	$561,22 \pm 22,53^{c, F}$	$675,00 \pm 31,31^{b, E, F}$
MeOH 70%	$1067,44 \pm 21,93^{a, b, B, C}$	$827,11 \pm 21,31^{b, D, E}$	$696,11 \pm 4,77^{b, D, E, F}$
MeOH 95%	$717,67 \pm 7,50^{c, D, E, F}$	$1318,67 \pm 74,03^{a, A}$	$826,22 \pm 2,48^{a, D, E}$

Fonte: Autoria própria.

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão ( $n=6$ ).

a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A, B – Letras iguais indicam que não há diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

O teor de fenóis totais dos rizomas em pó de açafraão revelou os extratos MeOH 95% da secagem a  $60^\circ\text{C}$  e EtOH 70% da secagem a  $40^\circ\text{C}$  os mais eficientes na extração destes compostos, com valores de  $1318,67 \text{ mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$  e  $1158,33 \text{ mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$  respectivamente, não havendo diferença significativa entre si,

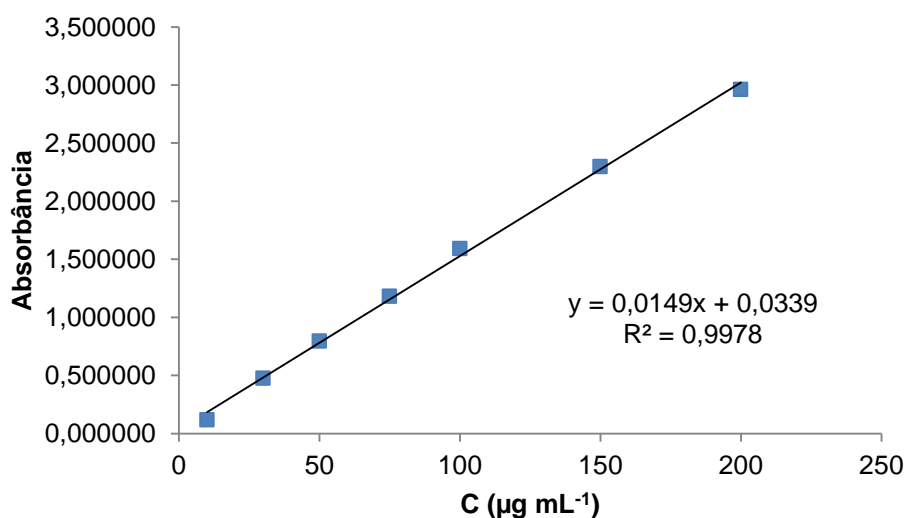
revelando que o aumento da temperatura para 80°C degradou parte dos compostos fenólicos.

Comparando o efeito dos solventes para cada temperatura, observa-se que os solventes mais eficientes na extração dos compostos fenólicos do açafão foram: a 40°C EtOH 70% e MeOH 70%, a 60°C MeOH 95% e 80°C EtOH 70% e MeOH 95%.

Estudos recentes demonstraram que para o gengibre desidratado o maior conteúdo de fenóis foi extraído com MeOH 70% da secagem a 80°C (CAMARGO, 2016), demonstrando a importância de se estudar esses fatores para diferentes matrizes.

### Flavonoides totais

A Tabela 5 apresenta os teores de flavonoides totais obtidos no presente estudo, os quais foram calculados utilizando a equação da reta obtida para a rutina (Figura 12) e expresso em miligramas de equivalentes de rutina por 100 gramas de açafão.



**Figura 12 - Curva padrão de rutina para determinação de flavonoides totais.**  
Fonte: Autoria própria.

**Tabela 5 – Valor de flavonoides totais presentes nos extratos de açafração seco em mg de rutina 100 g<sup>-1</sup> açafração.**

Solvente	40°C	60°C	80°C
<b>EtOH 70%</b>	9720,00 ± 347,71 <sup>a, A, B</sup>	7263,33 ± 297,90 <sup>a, C, D</sup>	7710,00 ± 327,94 <sup>b, B, C</sup>
<b>EtOH 95%</b>	6883,33 ± 660,36 <sup>b, C, D, E</sup>	5880,00 ± 289,31 <sup>a, b, C, D, E</sup>	11216,67 ± 749,94 <sup>a, A</sup>
<b>MeOH 70%</b>	4650,00 ± 368,28 <sup>c, D, E</sup>	5346,67 ± 597,95 <sup>b, C, D, E</sup>	5193,33 ± 590,38 <sup>c, D, E</sup>
<b>MeOH 95%</b>	11816,67 ± 434,98 <sup>a, A</sup>	5703,33 ± 399,35 <sup>a, b, C, D, E</sup>	7690,00 ± 378,73 <sup>b, B, C</sup>

**Fonte: Autoria própria.**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=6).

a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

A, B – Letras iguais indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

As condições que apresentaram maior teor de flavonoides totais foram as extrações realizadas com solvente EtOH 70% e MeOH 95% para a secagem a 40°C e EtOH 95% a 80°C, sem apresentar diferenças significativas através do teste de Tukey.

Ao analisar os teores de flavonoides para cada temperatura comparando-se o solvente extrator, observa-se que para 40°C os solventes EtOH 70% e MeOH 95% foram os mais efetivos na extração sem apresentar diferença significativa; para 60°C, os solventes EtOH 70%, EtOH 95% e MeOH 70% foram efetivos, não apresentando diferença significativa entre seus valores e, para a secagem a 80°C o solvente EtOH 95% foi o mais eficiente nessa extração.

No trabalho de Camargo (2016), o gengibre apresentou os maiores teores de flavonoides totais para os extratos MeOH 70% e 95% na temperatura de 40°C, não apresentando diferenças significativas entre si. Para as temperaturas de secagem, a 40°C o melhor solvente extrator foi MeOH 95%; a 60°C foram os solventes MeOH e EtOH 95%; e a 80°C os solventes demonstraram ter a mesma capacidade de extração para os flavonoides totais.

#### Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos de açafração (EtOH 70% e 95% e MeOH 70% e 95%) foi determinada pelos métodos de sequestro os radicais livres DPPH (C = 10.000 e 1.000 µg mL<sup>-1</sup>) e ABTS (C = 10.000 µg mL<sup>-1</sup>).

## Método de sequestro do radical DPPH

Na natureza encontram-se diversas substâncias antioxidantes, entre elas as mais comuns são o ácido ascórbico e compostos fenólicos. Nesse contexto, adotou-se o BHT e o ácido ascórbico na concentração de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  como padrão para as análises antioxidantes.

**Tabela 6 – Porcentagem de inibição do radical DPPH para os padrões BHT e Ácido Ascórbico**

Tempo (min)	BHT	Ácido Ascórbico
0,0	$13,7 \pm 0,68$	$94,7 \pm 1,24$
5,0	$17,1 \pm 0,69$	$95,9 \pm 1,11$
10,0	$20,4 \pm 0,35$	$96,0 \pm 1,10$
20,0	$26,5 \pm 0,09$	$96,0 \pm 1,10$
30,0	$32,2 \pm 0,18$	$96,0 \pm 1,10$

Fonte: Camargo (2016).

O comportamento cinético dos compostos pode ser classificado de acordo com o tempo de consumo de 50% do radical DPPH ( $TC_{50}$ ). Quando  $TC_{50}$  é menor que 5 minutos a cinética é classificada como rápida, se  $TC_{50}$  estiver entre 5 e 30 minutos, intermediária e lenta quando  $TC_{50}$  apresentar-se maior que 30 minutos. (SANCHÉZ-MORENO et al., 1998).

Analisando a Tabela 6, foi possível concluir que enquanto o ácido ascórbico apresenta uma cinética rápida, inibindo 94,7% do radical em um tempo menor que 5 minutos, o BHT apresenta uma cinética lenta, inibindo 32,2% do radical DPPH em 30 minutos.

As Tabelas 7 e 8 apresentam os valores obtidos frente ao sequestro do radical DPPH para os extratos de concentração  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente.

**Tabela 7 - Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de açafão de concentração 10.000 µg mL<sup>-1</sup>.**

Temperatura (°C)	Solvente	t = 0	t = 5 min	t = 30 min
40	EtOH 95%	91,30 ± 0,33 <sup>b, c, d</sup>	95,12 ± 0,17 <sup>a</sup>	96,06 ± 0,11 <sup>a</sup>
	EtOH 70%	81,64 ± 0,03 <sup>g</sup>	82,89 ± 0,01 <sup>e</sup>	83,99 ± 0,00 <sup>e</sup>
	MeOH 95%	91,73 ± 0,47 <sup>b, c, d</sup>	92,30 ± 0,46 <sup>c</sup>	92,09 ± 0,54 <sup>d</sup>
	MeOH 70%	92,97 ± 0,12 <sup>a, b</sup>	94,17 ± 0,11 <sup>a, b, c</sup>	94,07 ± 0,15 <sup>c</sup>
60	EtOH 95%	90,35 ± 0,13 <sup>c, d</sup>	94,27 ± 0,25 <sup>a, b</sup>	95,89 ± 0,13 <sup>a, b</sup>
	EtOH 70%	82,17 ± 1,10 <sup>g</sup>	84,35 ± 1,07 <sup>e</sup>	85,53 ± 0,90 <sup>e</sup>
	MeOH 95%	91,77 ± 0,25 <sup>b, c, d</sup>	94,77 ± 0,16 <sup>a, b</sup>	95,46 ± 0,19 <sup>a, b, c</sup>
	MeOH 70%	94,01 ± 0,06 <sup>a</sup>	95,16 ± 0,10 <sup>a</sup>	95,90 ± 0,12 <sup>a, b</sup>
80	EtOH 95%	89,93 ± 0,25 <sup>d, e</sup>	92,91 ± 0,26 <sup>b, c</sup>	94,04 ± 0,23 <sup>c</sup>
	EtOH 70%	87,01 ± 0,13 <sup>f</sup>	89,42 ± 0,11 <sup>d</sup>	90,54 ± 0,12 <sup>d</sup>
	MeOH 95%	92,30 ± 0,25 <sup>a, b, c</sup>	94,26 ± 0,23 <sup>a, b</sup>	95,25 ± 0,31 <sup>a, b, c</sup>
	MeOH 70%	88,24 ± 0,40 <sup>e, f</sup>	92,95 ± 0,27 <sup>b, c</sup>	94,23 ± 0,39 <sup>b, c</sup>

**Fonte: Autoria própria.**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

a, b....Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

**Tabela 8 - Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de açafão de concentração 1.000 µg mL<sup>-1</sup>.**

Temperatura (°C)	Solvente	t = 0	t = 5 min	t = 30 min
40	EtOH 95%	22,33 ± 0,52 <sup>c, d</sup>	28,63 ± 0,18 <sup>b, c, d</sup>	35,41 ± 0,21 <sup>b, c</sup>
	EtOH 70%	22,11 ± 0,72 <sup>c, d, e</sup>	24,39 ± 2,74 <sup>c, d</sup>	36,23 ± 0,18 <sup>b, c</sup>
	MeOH 95%	28,88 ± 0,10 <sup>a, b</sup>	35,10 ± 0,18 <sup>a, b</sup>	42,95 ± 0,15 <sup>a</sup>
	MeOH 70%	20,70 ± 1,50 <sup>c, d, e</sup>	28,17 ± 1,33 <sup>b, c, d</sup>	38,64 ± 0,22 <sup>b</sup>
60	EtOH 95%	16,10 ± 2,18 <sup>e</sup>	22,06 ± 1,79 <sup>d</sup>	28,13 ± 1,66 <sup>d</sup>
	EtOH 70%	18,46 ± 0,14 <sup>d, e</sup>	22,66 ± 1,79 <sup>d</sup>	32,82 ± 0,68 <sup>c</sup>
	MeOH 95%	25,12 ± 0,64 <sup>a, b, c</sup>	31,59 ± 0,50 <sup>a, b, c</sup>	38,83 ± 0,41 <sup>b</sup>
	MeOH 70%	21,43 ± 1,09 <sup>c, d, e</sup>	27,39 ± 0,96 <sup>c, d</sup>	35,14 ± 0,95 <sup>b, c</sup>
80	EtOH 95%	26,65 ± 2,73 <sup>a, b, c</sup>	30,29 ± 1,96 <sup>a, b, c</sup>	35,47 ± 1,03 <sup>b, c</sup>
	EtOH 70%	18,45 ± 1,59 <sup>d, e</sup>	25,97 ± 1,79 <sup>c, d</sup>	36,69 ± 1,04 <sup>b</sup>
	MeOH 95%	29,75 ± 0,62 <sup>a</sup>	36,89 ± 0,13 <sup>a</sup>	45,22 ± 0,16 <sup>a</sup>
	MeOH 70%	23,38 ± 0,39 <sup>b, c, d</sup>	29,14 ± 0,10 <sup>b, c, d</sup>	36,06 ± 0,08 <sup>b, c</sup>

**Fonte: Autoria própria.**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

a, b....Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Todos os extratos de açafrão de concentração  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , apresentaram alta atividade antioxidante e, de acordo com Sánchez – Moreno et al. (1998) cinética rápida, consumindo mais de 80% do radical DPPH em tempo menor que 5 minutos. Os extratos de concentração de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  para todas as secagens, inibiram menos de 50% do radical ao final da análise, ou seja, 30 minutos, mostrando a relação da atividade antioxidante com a concentração. Comparando com os padrões (Tabela 6), os extratos de  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  apresentaram um comportamento semelhante ao ácido ascórbico e os extratos de concentração  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  mostraram valores de inibição próximos ao do BHT.

Em relação aos extratos de concentração  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , no tempo de 30 minutos, na temperatura de secagem de  $40^{\circ}\text{C}$  o extrato EtOH 95% foi o que apresentou o maior potencial de inibição do radical DPPH acima de 96%; a  $60^{\circ}\text{C}$ , os extratos EtOH 95%, MeOH 70% e MeOH 95% apresentaram-se semelhantes, segundo o teste de Tukey, apresentando potencial de inibição acima de 95%; e, na temperatura de  $80^{\circ}\text{C}$ , o extrato MeOH a 95%, foi o que mais inibiu o radical, apresentando uma porcentagem acima de 95%.

O extrato MeOH 95% na concentração de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  nas temperaturas de  $40$  e  $80^{\circ}\text{C}$  apresentou maior potencial antioxidante, inibindo acima de 42% do radical DPPH. Porém, o comportamento cinético do açafrão nesse extrato é considerado lento, pois o tempo de consumo de 50% do radical apresenta-se maior que 30 minutos.

Fazendo uma comparação com o trabalho de Camargo (2016), para os extratos de gengibre, na concentração de  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , todos também apresentaram cinética rápida inibindo mais de 80% do radical em um tempo inferior a 5 minutos. Porém, o extrato que demonstrou o comportamento cinético mais rápido foi o MeOH 95% a  $60^{\circ}\text{C}$ , enquanto que para o açafrão o melhor foi o EtOH 95% também a  $60^{\circ}\text{C}$ .

Para os extratos de gengibre a uma concentração de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , MeOH 95%, para todas as temperaturas de secagem, MeOH 70%, para a secagem de  $40^{\circ}\text{C}$  e EtOH 70% para  $80^{\circ}\text{C}$ , foram os extratos que apresentaram cinética rápida, obtendo um consumo do radical menor que 70%. Em comparação ao açafrão, o gengibre, na concentração de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  possui um potencial antioxidante melhor.

O potencial antioxidante do açafração pode ser explicado a partir da presença de fenóis e flavonoides totais e amarelos. Isso pode ser confirmado a partir da comparação entre os melhores valores obtidos para cada solvente extrator nas análises desses compostos bioativos, com os solventes extratores mais eficientes na inibição do radical DPPH, em especial o EtOH 95% e o MeOH 95%.

#### Método de sequestro do radical ABTS

A Tabela 9 apresenta os resultados de atividade antioxidante para o açafração-da-terra determinada pelo método do sequestro do radical livre ABTS frente aos diferentes extratos.

O extrato que apresentou maior potencial antioxidante foi o MeOH 95% nas temperaturas de secagem de 40 e 80°C, com mais de 75% de inibição do radical ABTS, não apresentando diferença significativa entre os valores. Estes mesmos extratos apresentam comportamento cinético rápido, pois em um tempo inferior a 5 minutos, mais de 67% do radical foi consumido.

Analisando a influencia do solvente, para os extratos secos a 40°C o solvente que apresentou maior potencial antioxidante foi o MeOH 95%, com mais de 80% de inibição do ABTS; a 60°C, os extratos EtOH 95% e 70% e MeOH 95% foram os que apresentaram maior potencial inibindo cerca de 63% do radical ABTS; e na temperatura de secagem de 80°C, o extrato que se destacou pela sua alta atividade antioxidante, diferindo significativamente dos outros extratos na mesma temperatura, foi o MeOH 95%, com porcentagem de inibição de 75%



**Tabela 9 – Percentual de inibição do radical ABTS dos diferentes extratos de açafão de concentração 10.000 µg mL<sup>-1</sup>.**

Temperatura (°C)	Solvente	t = 0	t = 5 min	t = 15 min
40	EtOH 95%	54,09 ± 2,30 <sup>b, c</sup>	58,62 ± 1,70 <sup>b</sup>	64,24 ± 1,85 <sup>b</sup>
	EtOH 70%	47,39 ± 3,09 <sup>b, c, d, e</sup>	51,80 ± 3,69 <sup>b, c, d</sup>	57,91 ± 3,27 <sup>b, c</sup>
	MeOH 95%	72,65 ± 0,13 <sup>a</sup>	76,88 ± 0,12 <sup>a</sup>	80,72 ± 0,24 <sup>a</sup>
	MeOH 70%	41,09 ± 2,11 <sup>e, f</sup>	45,44 ± 1,79 <sup>d, e</sup>	50,79 ± 2,12 <sup>c, d</sup>
60	EtOH 95%	46,48 ± 0,83 <sup>c, d, e</sup>	53,59 ± 0,98 <sup>b, c, d</sup>	57,76 ± 0,97 <sup>b, c</sup>
	EtOH 70%	52,54 ± 0,71 <sup>b, c, d</sup>	57,96 ± 0,51 <sup>b</sup>	64,04 ± 0,44 <sup>b</sup>
	MeOH 95%	55,42 ± 0,88 <sup>b</sup>	60,06 ± 1,21 <sup>b</sup>	63,29 ± 0,56 <sup>b</sup>
	MeOH 70%	39,09 ± 2,24 <sup>e, f</sup>	42,40 ± 2,47 <sup>e</sup>	46,51 ± 2,75 <sup>d</sup>
80	EtOH 95%	45,18 ± 1,69 <sup>d, e</sup>	49,57 ± 0,59 <sup>c, d, e</sup>	54,85 ± 0,09 <sup>c</sup>
	EtOH 70%	52,95 ± 1,48 <sup>b, c, d</sup>	57,25 ± 1,11 <sup>b, c</sup>	63,44 ± 0,72 <sup>b</sup>
	MeOH 95%	67,38 ± 0,94 <sup>a</sup>	71,92 ± 1,05 <sup>a</sup>	75,85 ± 1,11 <sup>a</sup>
	MeOH 70%	36,47 ± 1,26 <sup>f</sup>	41,74 ± 1,12 <sup>e</sup>	46,46 ± 1,24 <sup>d</sup>

**Fonte: Autoria própria.**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

a, b....Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

A concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup> apresentou-se muito ativa, inibindo mais de 50% do radical ABTS em um tempo menor que 5 minutos para a maioria dos extratos em todas as temperaturas, exceto para os extratos MeOH 70% nas três temperaturas, que mostraram diferir significativamente quando comparados aos demais, inibindo cerca de 46% do radical, sendo o solvente menos eficiente na extração de compostos bioativos antioxidantes

Os extratos com comportamento cinético rápido foram: EtOH 95% e MeOH 95% a 40°C, EtOH 70% e MeOH 95% a 60°C e EtOH 70% e MeOH 95% a 80°C. Analisando os solventes, de maneira geral, pode-se dizer que o MeOH 95% foi o mais eficiente na inibição do radical ABTS.

Comparando com o trabalho de Camargo (2016), os valores obtidos para os extratos de gengibre na mesma concentração diferiram bastante. Para a temperatura de 40°C o solvente extrator que apresentou maior potencial antioxidante foi o MeOH 95% com 55% de inibição do radical ABTS. Para a secagem a 60°C o solvente MeOH 95% também apresentou por volta de 55% de inibição do radical, sendo o extrato mais ativo. Em relação à temperatura de 80°C, os solventes MeOH e

EtOH 70%, foram os mais ativos, inibindo 74% e 70% do radical ABTS, apresentando diferenças significativas em comparação aos demais extratos para a mesma temperatura.

Assim, pelo método do sequestro do radical ABTS, o açafão apresentou melhores resultados na inibição do radical quando comparado ao gengibre.

Do mesmo modo que a inibição do radical DPPH, o potencial antioxidante do açafão pelo método de sequestro do radical ABTS também é explicado a partir da presença de fenóis e flavonoides totais e amarelos. Comparando os melhores valores obtidos para cada solvente extrator nas análises desses compostos bioativos, com os solventes extratores mais eficientes na inibição do radical ABTS, em especial o EtOH 95% e o MeOH 95%, pode-se constatar a relação existente entre estes compostos fenólicos e a atividade antioxidante do açafão.

#### Atividade antimicrobiana

Na Tabela 10 estão dispostos os resultados antimicrobianos, para os extratos nas concentrações finais de 600.000 a 60.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Para *E. coli*, pode-se constatar a maior atividade bactericida no extrato EtOH 95% com temperatura de secagem de 60°C, sendo a CBM para esse extrato de 120.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Os extratos EtOH 70% e EtOH 95% a 40°C, MeOH 95% a 60°C e EtOH 95% a 80°C, apresentaram a CBM de 540.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , e o restante dos extratos não se mostraram eficientes na inibição do crescimento da bactéria com a concentração máxima de 600.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

Em relação à *S. aureus*, os extratos com maior potencial bactericida foram EtOH 70% e EtOH 95% na temperatura de 80°C, apresentando CBM de 60.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , sendo esta a menor concentração de extrato utilizada. Os extratos EtOH 95% a 40°C, EtOH 95% a 60°C e MeOH 70% a 80°C apresentaram uma CBM de 120.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e o extrato MeOH 95% a 40°C se mostrou eficiente para uma CBM de 180.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Os outros extratos não apresentaram atividade bactericida para a *S. aureus* mesmo na maior concentração, 600.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

**Tabela 10 – Concentração Bactericida Mínima para os extratos.**

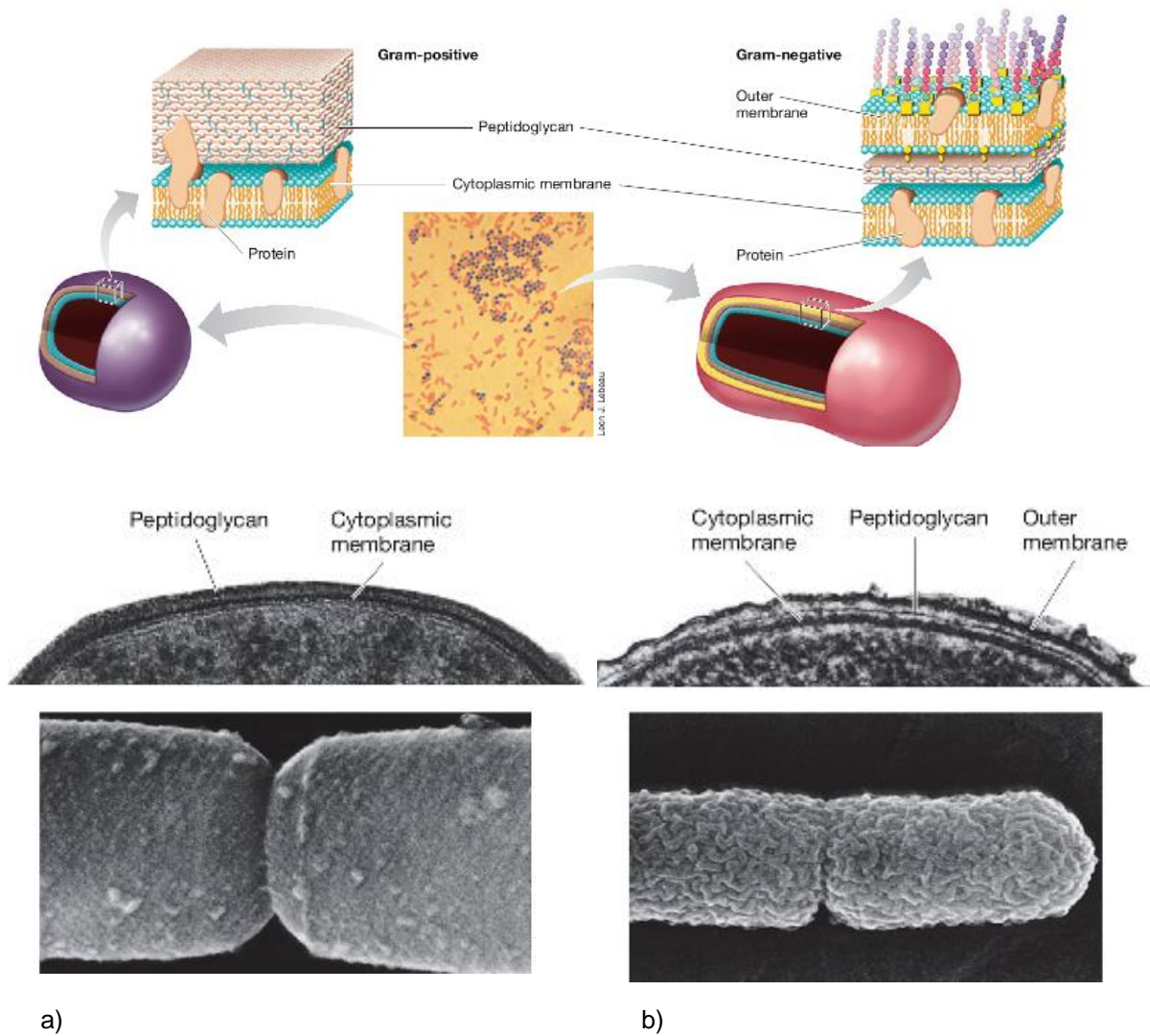
Temperatura	Extrato	<i>E. coli</i> *	<i>S. aureus</i> *
40°C	EtOH 70%	540.000	600.000
	EtOH 95%	540.000	120.000
	MeOH 70%	>600.000	>600.000
	MeOH 95%	600.000	180.000
60°C	EtOH 70%	>600.000	>600.000
	EtOH 95%	120.000	120.000
	MeOH 70%	>600.000	>600.000
	MeOH 95%	540.000	600.000
80°C	EtOH 70%	600.000	60.000
	EtOH 95%	540.000	60.000
	MeOH 70%	>600.000	120.000
	MeOH 95%	600.000	600.000

**Fonte: Autoria própria.**

\*Resultados da CBM expressos em  $\mu\text{g mL}^{-1}$

Dentre os solventes utilizados, o EtOH 95%, para todas as temperaturas de secagem, foi o que apresentou maior eficiência junto ao açafraão na inibição do crescimento bacteriano.

De maneira geral, pode-se dizer que os extratos apresentaram maior atividade bactericida, principalmente com a *S. aureus*. Isto ocorre devido a esta ser uma bactéria Gram positiva (Figura 13a), a qual possui uma única camada de peptidoglicano envolvendo a célula, sendo mais sensível a agentes microbianos, enquanto a *E. coli* é uma bactéria Gram negativa (Figura 13b) que possui uma estrutura em multicamadas, apresentando maior resistência (MADIGAN et al., 2010).



a) *S. aureus*, Gram positiva. b) *E. coli*, Gram negativa.  
 Fonte: Madigan, (2010).

## 6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, o açafão-da-terra se mostrou rico em compostos fenólicos, principalmente em flavonoides, os quais são bem conhecidos por suas propriedades antioxidantes.

A secagem em diferentes temperaturas apresentou diferenças significativas nos teores de antocianinas, sendo  $4,89 \pm 0,13 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  e  $5,52 \pm 0,29 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  os melhores valores para as temperaturas de 40 e 60°C respectivamente, não diferindo significativamente entre si, e  $3,71 \pm 0,20 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  para a temperatura de 80°C, o qual se mostrou menor já que as antocianinas se degradam em altas temperaturas. Porém, quanto ao teor de ácido ascórbico, as diferentes temperaturas de secagem não apresentaram distinção nos valores encontrados sendo  $1,70 \pm 0,07 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ ,  $1,59 \pm 0,04 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  e  $1,85 \pm 0,04 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$  para as temperaturas de 40, 60 e 80°C respectivamente. A partir desses valores de ácido ascórbico, concluiu-se ser o açafão uma fonte muito baixa desse composto.

Com base em todas as análises químicas, para uma extração eficiente, o açafão-da-terra deve ser seco a uma temperatura de 40 ou 80°C e ser extraído com MeOH 95%, pois estes foram os solventes que apresentaram os melhores valores para os compostos bioativos e também para a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS.

E no que se refere a sua atividade antimicrobiana, o açafão-da-terra apresentou uma grande eficiência na inibição do crescimento, principalmente, da *S. aureus*, utilizando o solvente extrator EtOH 95%.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Guia para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes**. Brasília - DF, 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Medicamentos Fitoterápicos**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/poster\\_fitoterapicos.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/fitoterapicos/poster_fitoterapicos.pdf)>2009>. Acesso em: 24 ago. 2017.

AKERELE, O. Summary of WHO guidelines for assessment of herbal medicines. **Herbal Gram**, v. 28, p. 13-19, 1993;

ANTOLOVICH, M. et al. Methods for testing antioxidant activity. **J. Analyst**, v. 127, p. 183-198, 2002.

ARAÚJO, C. A. C.; LEON, L. L. "Biological activities of *Curcuma longa* L", **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 5, p. 723-728, 2001.

BADKE, M. R. et al. Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. **Texto Contexto Enferm**, Florianópolis, v. 21(2) p. 363-370, 2012.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARRA, M. T. F.; VANETTI, M. C. D. Atividade antimicrobiana de corantes naturais sobre microrganismos patogênicos veiculados por alimentos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Viçosa, p. 194-200, 1992.

BARREIROS, A. L. B. S. et al. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p. 113, 2006.

BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 34(4), p. 507-513, 1988.

BRAGA, M. E. M. A. et al. Comparison of yield, composition and antioxidant activity of turmeric (*Curcuma longa* L.) extracts obtained using various techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 6604-6611, 2003.

BRAND-WILLIAMS, W. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v. 22, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Plantas de Interesse ao SUS**. Portal da saúde, 2009. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar\\_texto.cfm?idtxt=30277&janela=1](http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=30277&janela=1)>. Acesso em: 8 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Programa Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. 2007. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/politica\\_plantas\\_medicinais\\_fitoterapia.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/politica_plantas_medicinais_fitoterapia.pdf)>. Acesso em: 8 ago. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS - PNPIC-SUS** / Ministério da Saúde, Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BROUILLARD, R. et al. pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. **Journal Chemical Society Perkin Trans.** v.2, p.1235-1241, 1991.

BROUILLARD, R., The *in vivo* expression of anthocyanin colour in plants. **Phytochemistry**, v. 22, p. 1311–1323, 1983.

BUNYAPRAPHATSAR, N. Medicine and Plants in Thailand. In: **Economic and medicinal plant research**. New York, Academic Press, v. 4.,p. 141-159, 1990.

CADET, J. et al. Hydroxyl radicals and DNA base damage. **Mutation Research**, v. 424, p. 9-21, 1999.

CAMARGO, J. N. A. **Características químicas do *Zingiber officinale* (gengibre)**. 2016. 54 p. Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2016.

CAMPOS, A. M.; LISSI, E. A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**. v. 29, p. 219–224. 1997.

CARRATU, E.; SANZINI, E. Substâncias biologicamente ativas presentes em alimentos de origem vegetal. **Ann. Ist. Super Sanità**, 41 (1), p.7-16, 2005.

CELESTINO, S. M. C. **Princípios de secagem de alimentos** – Planaltina - DF: Embrapa Cerrados, 2010.

CHAMBERS, S. J. et al. Evaluation of the antioxidant properties of a methanolic extract from juice plus fruit and juice plus vegetable (dietary supplements). **Food Chem.**, v. 57, p. 271-274, 1996.

CHUN, S. S. et al. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 809-16, 2005.

CORREA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, v. 1, p. 21-22, 1926.

EL-AGAMEY, A. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. **Arch. Biochem. Biophys**, v. 430, p. 37-48, 2004.

FEDES, G. R.; GONÇALVES, G. M. S. **Estudo da atividade antimicrobiana de subprodutos provenientes dos rizomas de *Cúrcuma longa***. Anais do XIX Encontro de Iniciação Científica. PUC – Campinas, 2014.

FIRMO, W. C. de A. et al. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cad. Pesq.**, São Luís, v. 18, n. especial, 2011.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, p. 181-207, 1982.

FRANCO, A. L. P. et al. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (Alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (açafraão). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 4, n. 2, p. 208-20, 2007.



GAMA et al. Determinação e distribuição de ácido ascórbico em três frutos tropicais **Eclética Química**, v. 27, n. 1es, 2002.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric: chemistry, technology and quality. **Critical Review Food Science Nutrition**, Boca Raton, v. 12, n. 3, p. 199-301, 1980.

GUL, N. et al. Studies on the antibacterial effect of different fractions of *Curcuma longa* against urinary tract infection isolates. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 12, p. 2055-2060, 2004.

HAIDA, K. S. et al. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de ciências da saúde da UNIPAR**, v. 11, n. 3, p. 185-92, 2007.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. **Mutation Research**, v. 443, p. 37-52, 1999.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetables tannins) as drugs: possible modes of action. **J. Nat. Prod.**, v. 59, p. 205-215, 1996.

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17 ed. Gaithersburg: AOAC, 2000.

JAYARAMAN, K. S.; DAS GUPTA, D. K. Dehydration of fruits and vegetables – recente developments in principles and techniques. **Drying Technology**, v. 10, p. 1-50, 1992.

KIM, M. K. et al. Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, p. 1578-1581, 2003.

KOTWAL, G. J. Curcumin: A Versatile Nutraceutical and an Inhibitor of complement. In: YASHWANT, P. (ed.) **Handbook of Nutraceuticals: Scale-Up, Processing and Automation**. United States: Taylor & Francis. 2011.

KUSKOSKI, E. M. et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LABUZA, T. P. Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurements and use, St. Paul: American Associations of Cereal Chemists. **Cereal Chemists**, 74p., 1984.

LARRAURI, J. A. et al. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

LAWHAVINIT, O. et al. Antimicrobial Activity of Curcuminoids from *Curcuma longa* L. on Pathogenic Bacteria of Shrimp and Chicken. **Nat. Sci.**, v. 44, p. 364–371, 2010.

LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chem**, v. 91(1), p. 131-137, 2005.

LI, H. et al. Highly pigmented vegetables: anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. **Food Research International**, v. 46, p. 250-259, 2012.

LIMA et al. Redução de vitamina C em suco de caju (*Anacardium occidentale* L.) industrializado e cajuína. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1143-1146, 2007.

LÓPEZ O. P. et al. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews Food Science Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

MACIEL et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MADIGAN et al. **Microbiologia de Brock**. 12 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

MAIA, N. B. **Influência de tipos de rizomas de multiplicação no crescimento de cúrcuma**. *Bragantia*, v. 54, p. 33-37, 1995.

MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as Food Colors**. New York: Academic Press, p. 163-180, 1982.

MATA, A. R. et al. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de

massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 151-157, 2004.

MILIAUSKAS, G. et al. Van Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, p. 231-237, 2004.

MILLER N. J. et al. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, p 407-412, 1993.

MORAES, M. E. A.; SANTANA, G. S. M. **Aroeira-do-sertão**: um candidato promissor para o tratamento de úlceras gástricas. **Funcap**, v. 3, p. 5-6, 2001.

MORITA, T.; ASSUMPTÃO, R. M. V. Indicadores de titulação: Preparação de soluções padrão e seus usos. In: ASSUMPTÃO, R. M. V.; MORITA, T. **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes**. 2.ed. São Paulo, Edgard Blucher, p. 380-398. 1981.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NAMIKI, M. Antioxidants/antimutagens in food. **Crit Rev Food Sci Nutr**; v. 29 (4), p. 273-300, 1990.

NEGI, P. S. et al. Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, p. 4297-4300, 1999.

OLIVEIRA, A. C. et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, 2009.

OMONI, A. O.; ALUKO, R. E.; The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. **Trends Food Sci. Technol.** v. 16, p. 344, 2005.

ORDÓÑEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos**, v. 1. Porto Alegre: Artmed, 2007.

PÉRET-ALMEIDA, L. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, n. 3, p. 875-81, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006.

PIMENTEL C. V. M. B. **Alimentos funcionais**: introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: Varela; 2005.

RAMARATHNAM, N. et al. The contribution of plant food antioxidants to humans health. **Trends Food Sci Nutr**; v. 6 (3), p. 75-82, 1995.

RATTANACHAIKUNSOPON, P., PHUMKHACHORN, P. Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella enteritidis in vitro* and in food. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 74, n. 6, p. 1200–1204, 2010.

RAVINDRAN, P. N. et al. **Turmeric**: The genus *Curcuma*, Boca Raton, Taylor & Francis, 2007.

ROBBERS, J. E. et al. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996.

RODRIGUES A. G. et al. Políticas públicas em plantas medicinais e fitoterápicos. In: Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de assistência farmacêutica. **Fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da central de medicamentos**. Brasília: (DF): Ministério da Saúde; p. 9-28, 2006.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chem.**, v. 92, p. 235-254, 2005.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa: Comunicado Técnico Online**. v. 127, p. 1-4, 2007.

RUSIG, O.; MARTINS, M. C. Efeito da temperatura, do pH e da luz sobre extratos de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e curcumina. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Viçosa, v. 1, n. 1, p. 158-64.1992.

SÁNCHEZ-MORENO, C. et al. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J. Sci. Food. Agric.** v. 76, p. 270-276, 1998.

SCHAICH, K. M.; XIE, T. J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111–125, 2015.

SEVERO, J. et al. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Braz. J. Food Technol.** II SSA, 2009.

SHAHIDI, F. et al. Phenolic antioxidants. **Crit Rev Food Sci Nutr** v. 2; n. 32 (1), p. 67-103, 1992.

SILVA, L. M. R. et al. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398-404, 2014.

SINGH, R. et al. Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. **Current Science**, Bangalore, v. 83, n. 6, p. 737-740, 2002.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev. Nutr.** p. 15, 71, 2002.

SOUSA et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications.** Lancaster: Technomic, 1995.

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. I-quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 19, n. 1 p. 63-68, 1959.

TAKAHASHI, M. Y. **Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões de identidade e qualidade.** 2. ed. São Paulo: M.Y. Takahashi, 17p., 1987.

THE MERCK index: **An Encyclopedia of Chemical and Drugs.** 9.ed. Rahway, Merck, p. 348, 1976.

TOBON, J. F. O. **Extração e precipitação de curcuminóides de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) utilizando líquidos pressurizados e fluidos supercríticos.** Campinas, SP, 2015.

TÖNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Studies on curcumin and curcuminoids IX: investigation of the photobiological activity of curcumin using bacterial indicator systems. **Journal of Pharmaceutical Science**, Washington, v. 76, p. 373-373, 1987.

TUROLLA, M. S. R.; NASCIMENTO, E. S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, 2006.

VALKO, M. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. **Mol Cell Biochem**. v. 266, p. 37-56, 2004.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VISIOLI, F. et al. Antioxidants and cardiovascular disease: panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovascular Research**, v. 47, p. 409, 2000.

WANG, L. S.; STONER, G. D. Anthocyanins and their role in cancer prevention. **Cancer Letters**. v. 269, p. 281-290, 2008.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

ZANONI, B. et al. Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying. **Food Research International**, v. 31, n. 5, p. 395-401, 1999.

ZWAVING, J. H.; BOS, R. Analysis of the essential oils of five *Curcuma* species. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 7, p. 19-22, 1992.