

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

ALINE FITZNER DO NASCIMENTO NASCENTES DE OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANO E ALIMENTÍCIO DAS FOLHAS
DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.)**

**São Gabriel
2023**

ALINE FITZNER DO NASCIMENTO NASCENTES DE OLIVEIRA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANO E ALIMENTÍCIO DAS FOLHAS
DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biotecnologia da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cássia Regina Nespolo

Coorientadora: Prof.^a Dra. Thaís Posser

**São Gabriel
2023**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

O411p Oliveira, Aline Fitzner do Nascimento Nascentes de
Potencial antioxidante, antimicrobiano e alimentício das
folhas de Ora-pro-nóbis (Pereskia aculeata Mill.) / Aline
Fitzner do Nascimento Nascentes de Oliveira.
51 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, BIOTECNOLOGIA, 2023.
"Orientação: Cássia Regina Nespolo".

1. Plantas alimentícias não convencionais. 2. Extratos
naturais. 3. Atividade antioxidante. 4. Atividade
antimicrobiana. 5. Alimentos à base de plantas. I. Título.

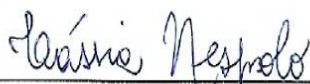
ALINE FITZNER DO NASCIMENTO NASCENTES DE OLIVEIRA

POTENCIAL ANTIOXIDANTE, ANTIMICROBIANO E ALIMENTÍCIO DAS FOLHAS
DE ORA-PRO-NÓBIS (*Pereskia aculeata* Mill.)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Biotecnologia
da Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título
de Bacharel em Biotecnologia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 26 de janeiro de 2023.

Banca examinadora:



Prof^a. Dra. Cássia Regina Nespolo
Orientadora
(Unipampa)



Prof. Dr. Filipe de Carvalho Victoria
(Unipampa)



Prof^a. Dra. Graciela Saete Centenaro
(Unipampa)

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por ter guiado toda minha caminhada.

A minha família, pelo apoio e suporte, em especial minha mãe Denise, meu irmão Bruno, meus avós Vilma e Nei e minha tia Norma.

Aos meus amigos que nos momentos mais difíceis estavam me apoiando e também nos momentos de descontração que deixavam os dias mais fáceis e cheios de risada.

Aos professores pela dedicação e paciência em ensinar, excepcionalmente minha orientadora Cássia Nespolo por todo carinho e atenção, que facilitou toda minha vida acadêmica se fazendo presente, com suas palavras de carinho e dando todo o suporte necessário.

A técnica Ruti Roll, que sempre nos ajuda dando as soluções mais práticas no laboratório, essa mulher salva vidas diariamente nos livrando dos erros e nos aconselhando diariamente.

A minha coorientadora Thais Posser por me orientar na parte de atividade antioxidante deste trabalho e ao professor Cristian Bugs que me ajudou na parte matemática da sensorial com coeficiente de concordância.

A senhora Arlete Lisboa por ter me doado as folhas de Ora-pro-nóbis que tinham em sua casa e ao seu filho Gustavo Lisboa que doou o seu tempo para ir lá e recolhê-las.

“Devemos acreditar que somos talentosos para algumas coisas, e que essa coisa, a qualquer custo, deve ser alcançada.”

Marie Curie

RESUMO

Ora-pro-nóbis é o nome comum da *Pereskia aculeata* Miller, originária das Américas Central e Sul, que possui elevado teor proteico e é conhecida por seus efeitos benéficos à saúde humana. Esta cactácea se enquadra nas Plantas alimentícias não convencionais (PANCs) e não é muito explorada na alimentação dos brasileiros. O objetivo do trabalho foi investigar o potencial antioxidante e antimicrobiano através de diferentes extratos naturais das folhas liofilizadas e desenvolveu um produto alimentício com base vegetal. As folhas da Ora-pro-nóbis foram coletadas numa propriedade privada em Rosário do Sul, higienizadas, desidratadas por liofilização e misturadas na proporção 1:20 com os solventes solução hidroalcoólica (70%) e água destilada. Os extratos foram protegidos da luz e, no terceiro dia, os tubos foram colocados em agitador orbital durante 24 horas, a 130 rpm, em temperatura de 29°C ± 2°C. Os extratos seguiram duas metodologias: filtração na cabine de segurança biológica e centrifugação durante 15 minutos, a 10.000 rpm, a 4°C. Por fim, foram armazenados em temperatura ambiente. Os ensaios 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) e 2,2-azino-bis-3- etilbenzotiazolino-6-sulfonato (ABTS) foram aplicados para medir a atividade antioxidante. A atividade antimicrobiana foi realizada pelo teste qualitativo de disco-difusão frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas. A formulação do patê de Ora-pro-nóbis teve como um dos ingredientes folhas *in natura* da planta. Foi realizada avaliação sensorial com provadores não treinados, por meio de testes de aceitação e de intenção de compra. Os resultados demonstraram que a *Pereskia aculeata* é uma boa alternativa aos antioxidantes sintéticos. Os extratos aquosos e hidroalcoólicos (70%) obtidos apresentaram potencial antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. Na metodologia ABTS, todos os extratos apresentaram porcentagem de inibição, variando de 56% a 91,38%, enquanto que no DPPH apenas os extratos hidroalcoólico centrifugado, extrato hidroalcoólico filtrado e o extrato aquoso centrifugado frio demonstraram porcentagem de inibição, mostrando mais uma vez a importância de aplicar mais de uma técnica no potencial antioxidante. Ao analisar a atividade antimicrobiana frente às bactérias testadas, foram observados halos somente nos extratos hidroalcoólicos com valores de 1,8 mm até 3,2 mm, o que provavelmente ocorreu, devido à presença da solução hidroalcoólica. Tendo isto em vista, há necessidade de testes adicionais com aumento da proporção planta:solvente e com extratos da planta *in*

natura para verificar a atividade antimicrobiana. O produto alimentício à base de folhas *in natura* de Ora-pro-nóbis apresentou boa aceitabilidade, com valores médios (n=53) entre 7,06 e 7,81 para os diferentes parâmetros sensoriais avaliados, o que indica “gostei regularmente” e “gostei muito”. A intenção de compra foi 4,05 e sinaliza “Provavelmente compraria este produto”. As folhas de Ora-pro-nóbis apresentaram potencial antioxidante e potencial alimentício em uma formulação em base vegetal, que é interessante para o consumidor por preservar as propriedades da planta e fornecer um alimento fonte de proteínas e compostos benéficos à saúde, bem como diversificar com alimentos não convencionais.

Palavras-Chave: Plantas alimentícias não convencionais, Extratos naturais, Atividade antioxidante, Atividade antimicrobiana, Alimentos à base de plantas.

ABSTRACT

“Ora-pro-nóbis” is the common name of *Pereskia aculeata* Miller, originating in Central and South America, which has a high protein content and is known for its beneficial effects on human health. This cactacea fits in the Non-Conventional Food Plants and is not much exploited in the Brazilian diet. The aim was to investigate the antioxidant and antimicrobial potential through different natural extracts from lyophilized leaves and develop a plant-based product. “Ora-pro-nóbis” leaves were collected on a private property in Rosário do Sul, sanitized, lyophilized and mixed in a 1:20 ratio with the solvents hydroalcoholic solution (70%) and distilled water. The extracts were protected from light and, on the third day, the tubes were placed in an orbital shaker for 24 hours, at 130 rpm, at a temperature of $84,2^{\circ}\text{F} \pm 35,6^{\circ}\text{F}$. The extracts followed two methods: filtration in the biological safety cabinet and centrifugation for 15 minutes at 10,000 rpm, at $39,2^{\circ}\text{F}$. Finally they were stored at room temperature. The 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazolino-6-sulfonate (ABTS) assays were applied to measure the antioxidant activity. Antimicrobial activity was performed using the qualitative disk diffusion test against Gram positive and Gram negative bacteria. The formulation of the “Ora-pro-nóbis” pâté had as one of the ingredients fresh leaves of the plant. Sensory evaluation was carried out with untrained tasters, through acceptance and purchase intention tests. The results showed that *Pereskia aculeata* is a good alternative to synthetic antioxidants. Aqueous and hydroalcoholic extracts (70%) obtained showed antioxidant potential by the DPPH and ABTS methods. In ABTS methodology, all extracts showed percentage of inhibition, ranging from 56% to 91.38%, while in DPPH only the centrifuged hydroalcoholic extract, filtered hydroalcoholic extract and the cold centrifuged aqueous extract showed percentage of inhibition, showing once again the importance of applying more than one technique in the antioxidant potential. When analyzing the antimicrobial activity against the tested bacteria, halos were observed only in the hydroalcoholic extracts with values from 1.8 mm to 3.2 mm, which probably occurred, due to the presence of the hydroalcoholic solution. Based on this, additional tests with increased plant:solvent ratio and with in natura plant extracts are needed to verify the antimicrobial activity. The food product based on “Ora-pro-nóbis” leaves obtained good acceptability, with average values (n=53) between 7.06 and 7.81 for the

different sensorial parameters evaluated, which indicates "I liked it regularly" and "I liked it a lot". The purchase intention was 4.05 and signals "I would probably buy this product". "Ora-pro-nóbis" leaves presented antioxidant potential and food potential in a formulation with a vegetable basis, which is interesting for the consumer for preserving the properties of the plant and providing a food source of proteins and beneficial compounds to health, as well as diversifying with non-conventional foods.

Key-words: Non-conventional food plants, Natural extracts, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Plant-based foods.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem das folhas e o fruto da <i>Pereskia aculeata</i> Mill.....	19
Figura 2 – Planta de <i>Pereskia aculeata</i> Mill (Ora-pro-nóbis).....	27
Figura 3 – Folhas de <i>Pereskia aculeata</i> Mill sendo sanitizadas.....	27
Figura 4 – Fluxograma demonstrando as etapas do trabalho com as folhas de Ora-pro-nóbis.....	28
Figura 5 – Folhas liofilizadas por 23 horas.....	28
Figura 6 – Folhas liofilizadas sendo trituradas e peneiradas.....	29
Figura 7 – Filtração do extrato aquoso.....	29
Figura 8 – Filtrado do extrato hidroalcoólico.....	30
Figura 9 – Extratos aquosos e hidroalcoólicos após a centrifugação.....	30
Figura 10 – Filtração dos extratos hidroalcoólicos para os testes secundários.....	32
Figura 11 – Apresentação da amostra de patê de Ora-pro-nóbis para avaliação sensorial.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana de diferentes extratos das folhas de <i>P. aculeata</i> Mill., apresentada por outros autores.....	23
Tabela 2 – Atividade antioxidante de diferentes extratos das folhas de <i>P. aculeata</i> Mill., apresentada por outros autores.....	26
Tabela 3 – Concentração de cada reagente nas misturas.....	32
Tabela 4 – Diâmetro dos halos de inibição obtidos através dos testes de disco-difusão.....	35
Tabela 5 – Avaliação das propriedades antioxidantes das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> por meio do radical DPPH.....	37
Tabela 6 – Avaliação das propriedades antioxidantes das folhas de <i>Pereskia aculeata</i> por meio do radical ABTS.....	38
Tabela 7 – Rendimentos dos extratos produzidos com a planta liofilizada.....	39
Tabela 8 – Aceitabilidade sensorial e de intenção de compra do patê de Ora-pro-nóbis.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

Abs - Absorbância

ABTS - 2,2-azino-bis (3- etilbenzotiazolino-6-sulfonato)

AI - Ausência de inibição

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute

DPPH - 2,2-difenil-1-picrilidrazil

EAG - equivalentes de ácido gálico

EC - Equivalentes de catequina

HPLC - High Performance Liquid Chromatography

ORAC - *Oxygen Radical Absorbance Capacity*

PANCs - Plantas Alimentícias Não Convencionais

P. aculeata - *Pereskia aculeata*

P. bleo - *Pereskia bleo*

P. grandifolia - *Pereskia grandifolia*

ppm - Partes por milhão

rpm - Rotações por minuto

UI - Unidade Internacional

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Plantas alimenticias não convencionais (PANCs).....	17
2.2	Nomenclatura e características.....	18
2.3	Produção de extratos e aplicações.....	21
2.4	Propriedades bioativas da Ora-pro-nóbis.....	22
2.4.1	Efeito antimicrobiano.....	22
2.4.2	Ação antioxidante.....	24
3	METODOLOGIA	27
3.1	Material vegetal	27
3.1.1	Higienização das folhas	27
3.2	Secagem das folhas	28
3.3	Obtenção dos extrato	29
3.3.1	Extratos aquosos filtrados	29
3.3.2	Extrato hidroalcoólico filtrado	30
3.3.3	Extrato aquoso e hidroalcoólico centrifugado.....	30
3.4	Agentes bacterianos testados	31
3.5	Avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos	31
3.6	Atividade antioxidante	32
3.7	Extrato concentrado	33
3.8	Formulação desenvolvida com as folhas de Ora-pro-nóbis	33
3.8.1	Análise sensorial	34
4	APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	34
4.1	Avaliação da atividade antimicrobiana (Antibiograma)	34

4.2	Avaliação da atividade antioxidante	37
4.3	Avaliação da concentração dos extratos	39
4.4	Avaliação da análise sensorial	40
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
	REFERÊNCIAS.....	43
	APÊNDICES	50
	APÊNDICE A: PRESENÇA DE HALOS DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DA PRIMEIRA ETAPA DO ANTIBRIOGRAMA	50
	APÊNDICE B: AUSÊNCIA DE HALOS DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS FILTRADO DA SEGUNDA ETAPA DO ANTIBRIOGRAMA	50

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as plantas alimentícias não convencionais (PANCs) estão conquistando mais espaço na alimentação da população brasileira, seja pela busca de uma vida mais saudável ou para serem consumidas pela comunidade vegana/vegetariana. O termo PANCs surgiu em 2008, criado pelo biólogo Valdely Kinupp, e refere-se às partes alimentícias das plantas não convencionais, tais como raízes, caules subterrâneos ou aéreos, folhas, flores, frutos e/ou sementes (KELEN *et al.*, 2015). Seu consumo pode ser *in natura* ou processado dentro de algum outro alimento, sendo geralmente mais consumida nas regiões do interior do Brasil. Um estudo demonstrou que algumas plantas silvestres testadas possuíam maior quantidade de micronutrientes do que as convencionais (BOTREL, 2020).

Dentre as folhas com uso potencial na alimentação humana, destaca-se a hortaliça não convencional *Pereskia aculeata* Miller, pertencente à família Cactaceae, gênero *Pereskia*, e usualmente conhecida como Ora-pro-nóbis ou carne de pobre (PAULA *et al.*, 2016). O nome comum está atrelado ao elevado teor proteico relatado na literatura, que varia entre 18 e 28% (ALMEIDA *et al.*, 1974; GUIMARÃES 2018; TAKEITI *et al.*, 2009;), além disso suas folhas se apresentam ricas em aminoácidos essenciais, minerais (cálcio, magnésio, manganês, zinco e ferro) e vitaminas (A, C e ácido fólico) (SILVA, 2019).

Os extratos naturais têm sido utilizados pelos seres humanos no tratamento de diversos patógenos (NOVAIS *et al.*, 2003). O ser humano procurou técnicas para preservar seu alimento, desde a época em que não existia refrigeradores, tendo o sal como uma das formas mais conhecidas (FORSYTHE, 2013). Alguns estudos demonstraram potencial antimicrobiano da folha de *Pereskia aculeata* Mill. com extratos em diferentes solventes, como etanol, metanol, éter de petróleo, acetato de etila, entre outros, obtendo inibição variável de forma alta, moderada e baixa no crescimento de bactérias Gram positivas e Gram negativas (BELO *et al.*, 2020; GARCIA *et al.*, 2019; SHARIF *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2016).

Como forma de diminuir o consumo de antioxidantes sintéticos, o potencial das plantas vem sendo estudado para assim obter este efeito vindo de uma fonte natural e menos agressiva ao organismo humano. Os antioxidantes naturais incluem os tocoferóis, vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos (SUCUPIRA *et al.*,

2012). Alguns trabalhos demonstraram a importância do solvente utilizado para extrair compostos fenólicos ou até mesmo carotenóides presentes nas folhas da Ora-pro-nóbis (AGOSTINI - COSTA *et al.*, 2012; PINTO *et al.*, 2015; QUEIROZ *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2016; TURRA *et al.*, 2007).

Diante do apresentado, o objetivo deste trabalho foi estudar o potencial da Ora-pro-nóbis, visando às atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas liofilizadas em extratos hidroalcoólicos e aquosos, além da aplicação em alimentos por meio da formulação de um produto de origem vegetal.

2 CONCEITOS GERAIS E REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas alimentícias não convencionais (PANCs)

A produção agrícola mundial tem se concentrado em monoculturas, com a expectativa de obter aumento do volume produzido e garantir a alimentação de toda a população do planeta (ZIMMERMANN, 2009). Com isso, a população teve seu consumo restringido a uma pequena parcela de hortaliças, verduras e frutas, ocasionando assim, uma alimentação pobre em valores nutricionais por conta dessa padronização (BRASIL, 2014).

Muitas plantas denominadas daninhas, inços, pragas, invasoras, pois crescem entre as plantas cultivadas, são espécies com grande importância ecológica e econômica (KINUPP, 2006). A falta de conhecimento sobre estas hortaliças pode estar atribuída à carência de pesquisa nessa área e de informações que poderiam ser prestadas às comunidades quanto a suas propriedades, plantio, colheita, etc.

Uma pequena parte da população possui conhecimento sobre as PANCs, justamente porque buscam por uma alimentação saudável e querem variar seus pratos no dia a dia. O termo PANCs surgiu em 2008, criado pelo biólogo e professor Valdely Ferreira Kinupp, que diz respeito a todas as plantas que possuem partes comestíveis, sendo elas espontâneas ou cultivadas, nativas ou exóticas que não estão incluídas em nosso cardápio cotidiano (KELEN *et al.*, 2015).

Para Kinupp (2006), PANCs referem-se às partes alimentícias das plantas não convencionais, incluídas as raízes, caules subterrâneos ou aéreos, folhas, flores, frutos e/ou sementes. O acesso a essas plantas é fácil, uma vez que elas crescem espontaneamente em terrenos baldios, quintais, jardins e até nas ruas (ruderais) (FRONZA, 2020).

Atualmente, as informações em relação às PANCs estão aumentando. Sites, guias, manuais e enciclopédias foram criados com o intuito de levar à população mais conhecimento e ajudar na identificação correta dessa vegetação. Uma identificação incorreta destas plantas poderia se tornar perigosa, por conta da toxicidade, e, conseqüentemente, gerar danos à saúde.

Dentro do Brasil, existem ao menos 3 mil espécies de plantas alimentícias (KELEN *et al.*, 2015), dentre as quais destacam-se Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller e *Pereskia grandifolia* Haword), taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) e peixinho da horta (*Stachys byzantina*) como exemplo das mais comuns.

2.2 Nomenclatura e características

Ora-pro-nóbis, nome comum das espécies *Pereskia aculeata* Miller e *Pereskia grandifolia* Haword, embora com alto potencial de utilização no conjunto das hortaliças não-convencionais, ainda é cultivada de forma marginal e rudimentar (KINUPP, 2006). Ora-pro-nóbis significa “rogai por nós”, derivado do latim, uma planta que pertence ao reino Plantae, classe Magnoliopsida, ordem Caryophyllales, família Cactaceae e gênero *Pereskia* (ALMEIDA *et al.*, 2012). Em muitas regiões do Brasil, a *Pereskia* é conhecida como carne dos pobres (CASEMIRO *et al.*, 2022). Em outros países é conhecida por “ramo de novia” (Cuba), “Guamacho” (Venezuela), “Bugambilia branca” (México) (SANTOS *et al.*, 2012).

Dentro do gênero *Pereskia*, a espécie mais conhecida é a *Pereskia aculeata* Miller, pertencente à subfamília Pereskioideae, que possui maior número de estudos sobre seu potencial e que pode ser encontrada no Manual de Hortaliças Não-Convencionais, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento brasileiro (BRASIL, 2010), o qual tem como interesse promover estas hortaliças para a sociedade brasileira.

Em relação à *Pereskia grandifolia* Haword, é possível encontrar estudos que determinam seu potencial voltado à medicina e também para fins alimentícios (GUIMARÃES, 2018). Para o restante das cactáceas, como a *Pereskia bleo*, ainda são necessários estudos mais aprofundados sobre sua composição físico-química (GUIMARÃES, 2018).

A origem da *Pereskia aculeata* foi na América Central e do Sul, conseqüentemente endêmica no Brasil (SILVA, 2019), e essa cactácea se enquadra nas PANCs, não sendo muito explorada na alimentação pelos brasileiros. No Brasil, o seu consumo está mais associado às regiões do interior, como Minas Gerais e Goiás, onde a comida carrega uma cultura regional.

A Ora-pro-nóbis é uma planta perene, caracterizada como uma trepadeira, possui fácil propagação e é constituída de sementes, flores brancas, longos ramos, caule, espinhos (característico do termo *aculeata* que significa espinhos), frutos alaranjados e folhas com presença de mucilagem (CRUZ *et al.*, 2020).

Figura 1 - Imagem das folhas e o fruto da *Pereskia aculeata* Mill.



Fonte: Autora, 2022.

Contém elevado teor proteico, consideráveis teores de ferro e vitamina C (HISSATOMI *et al.*, 2020). Daí vem o nome comum “carne de pobre”, que está relacionado ao valor proteico que essa cactácea oferece. No entanto, o teor de proteínas é influenciado pela disponibilidade hídrica (GUIMARÃES, 2018). A oferta de água deve ser minimizada, pois em menores potenciais mátricos o teor de proteínas foi maior que nos mais altos (QUEIROZ, 2012).

O potencial nutricional da Ora-pro-nóbis foi estudado por diferentes autores e verificaram que se apresentam ricas em macronutrientes, aminoácidos essenciais, minerais (cálcio, magnésio, manganês, zinco e ferro) e vitaminas (A, C e ácido fólico) (ALMEIDA FILHO, CAMBRAIA, 1974; GUIMARÃES, 2018; TAKEITI *et al.*, 2009). Takeiti e colaboradores (2009) encontraram os seguintes valores em 100 g de folhas de Ora-pro-nóbis: teores proteicos elevados de 28 g; 3,8 g de fibra alimentar total; altos níveis de minerais como cálcio (3,420 mg/100 g) e magnésio (1,90 mg/100g). Avaliando os micronutrientes, as folhas de Ora-pro-nóbis apresentaram-se ricas em manganês (46,4 mg/100g), zinco (26,71 mg/100g) e ferro (14,18 mg/100g). Dos aminoácidos, o mais abundante foi o triptofano (5,52 g/100 g) e dos não essenciais foi o ácido glutâmico (2,67 g/100g). Além disso, sobressaíram-se os níveis de vitamina C (185,8 mg/100g), ácido fólico (19,3 mg/100g) e β -caroteno (4,2 mg/100g) nas folhas frescas (TAKEITI *et al.*, 2009).

Os pioneiros na pesquisa do valor nutricional da Ora-pro-nóbis foram Almeida Filho e Cambraia (1974), que descreveram conter 25,4% de proteínas, 21,6% de

fibras, 29,5% de carboidratos e 5,07% de lipídios. No estudo de Guimarães (2018), houve uma comparação entre as três espécies, *P. aculeata*, *P. grandifolia* e *P. bleo*, demonstrando os valores proteicos de 18,25%, 24,19% e 18,64%, respectivamente. Devido ao alto valor proteico, pode ser utilizada como complementação alimentar humana (GIRÃO *et al.*, 2003).

A *P. aculeata* possui mucilagem, composta por longas cadeias de açúcares unidas formando um polímero com grande capacidade de absorção de água, o que a torna uma fonte potencial de hidrocolóide industrial (SÁENZ, 2004) e para uso na indústria alimentícia, como espessante, gelificante e/ou emulsificante (AMARAL, 2016).

Os frutos alaranjados da *P. aculeata* possuem alta proporção de vitamina C, com sabor ácido, sendo utilizados no preparo de sucos, geleias, mousses e licores (CORDEIRO, 2022). Uma porção de 100 gramas dos frutos fornece cerca de 13% das fibras totais recomendadas diariamente e de 3.215 UI de vitamina A (SILVA *et al.*, 2010). Um estudo analisou possíveis carotenóides por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fotodiodos e verificou o trans- β -caroteno como o principal, seguido pelo α -caroteno, luteína e outros carotenóides menores nos frutos da *P. aculeata*. (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2012).

A primeira colheita de uma Ora-pro-nóbis, desde o plantio, leva em torno de 3 meses considerando o fator climático (MATHIAS, 2013), mas depois a hortaliça pode atingir até quatro metros de altura, sucedendo colheitas a cada seis ou dez semanas (RODRIGUES, 2017).

A forma de colheita dessa cactácea é através do ato de podar, levando em consideração o cuidado com os espinhos que ela contém. As hastes escolhidas para a poda devem estar com pleno desenvolvimento em torno de 70 cm a 100 cm de comprimento e folhas completamente expandidas (MADEIRA *et al.*, 2016) e as folhas devem apresentar de 7 a 10 centímetros de comprimento (MATHIAS, 2013).

Posteriormente, as hastes são levadas para o processo de desfolha e de higienização, podendo ser consumidas *in natura*, assim como seu fruto, ou então destinadas ao processamento de algum derivado. Após o processo de desfolha, a hortaliça passa por uma desidratação nas estufas, seguido da moagem, padronização e embalagem (MACÊDO *et al.*, 2016).

O pó das folhas pode ser utilizado como suplemento nutracêutico para enriquecer pães, bolos, biscoitos, tortas e massas em geral (SILVA *et al.*, 2010). A

adição de apenas 2% da hortalíça desidratada no macarrão talharim elevou os valores de fibras, cinzas e proteínas, quando comparado ao macarrão tradicional, além de ter sido bem aceito na análise sensorial (ROCHA, 2008). Um macarrão sem glúten com adição de Ora-pro-nóbis resultou em 27,27% dos avaliadores sinalizando que certamente comprariam o produto (DELMIRO, 2020).

A farinha de *P. grandifolia* Haw. foi utilizada para elaborar um *snack* de milho extrusado, com boa aceitação sensorial e alto valor de proteínas e fibras (FRANCELIN, 2021). Além disso, o pó de Ora-pro-nóbis pode ser incorporado na produção de iogurte, elevando os teores de proteínas e lipídios (BACOVICZ, 2021). A utilização da Ora-pro-nóbis na elaboração de vários produtos alimentícios contribui para o aumento do seu cultivo, bem como para a melhoria da qualidade da dieta da população (ROCHA, 2008).

2.3 Produção de extratos e suas aplicações

Após estudos revelarem o potencial nutricional das PANCs, pesquisadores testaram os compostos bioativos e desenvolveram extratos naturais, que serviram para aplicações alimentícias e medicinais e podem contribuir para um estilo de vida mais natural. Existem vários métodos para preparação dos extratos vegetais, visando o isolamento de seus constituintes químicos.

Os extratos produzidos com etanol 70%, água destilada e folhas de Ora-pro-nóbis em pó foram aplicados na mortadela. O primeiro extrato foi desenvolvido com etanol 70% e folhas de Ora-pro-nóbis em pó na proporção de 1:20 (m/v), agitação por 24 horas, rotaevaporador para eliminar o álcool e o volume que restou foi completado com água destilada e filtrado em papel filtro. Para o segundo extrato, utilizou-se a proporção de 1:20 (m/v) de água destilada, agitação por 1 hora, aquecimento a 95-100 °C e posterior filtração em papel filtro. Os extratos obtidos tiveram capacidade antioxidante, mas não antimicrobiana, servindo como uma alternativa aos antioxidantes sintéticos (RODRIGUES, 2016).

Muitas espécies vegetais podem ser utilizadas como medicinais e alimentícias e a Ora-pro-nóbis é uma espécie utilizada tanto na alimentação, como em fitoterápicos (BIESKI *et al.*, 2020). Um gel creme contendo *P. aculeata* para tratamento da acne foi formulado com extrato obtido por maceração das folhas, na proporção 1:10, usando o álcool de cereais como solvente e realizando filtrações por 30 dias (alternando os dias). O extrato concentrado foi alcançado após o filtrado

passar pela rotaevaporação, foi adicionado à formulação do gel e mostrou atividade antimicrobiana na presença do bacilo *Propionibacterium acnes*, em diversas concentrações testadas (HAMADA, 2016).

A Ora-pro-nóbis foi estudada para inclusão em uma pomada, através de um extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*. As folhas utilizadas foram secas, trituradas e maceradas a frio com etanol 95% e, por fim, o extrato foi concentrado à pressão reduzida e liofilizado. A pomada teve resultados satisfatórios, nos parâmetros de qualidade e estabilidade (BARROS *et al.*, 2009). O mesmo método de extração foi usado para testar o efeito antimicrobiano sobre patógenos bucais e as concentrações 0,25 g/mL e 0,50 g/mL resultaram em inibição de *Enterococcus faecalis* (SANTOS *et al.*, 2010).

Um extrato feito através da maceração das folhas de *P. aculeata* com solvente metanol para ser incorporado em um creme resultou em atividade anti-inflamatória em camundongos (PINTO *et al.*, 2021).

2.4 Propriedades bioativas da Ora-pro-nóbis

2.4.1 Efeito antimicrobiano

Autores demonstraram o potencial antimicrobiano da Ora-pro-nóbis através da extração dos bioativos, observando que as bactérias e fungos apresentaram sensibilidade em diferentes solventes e concentrações (BELO *et al.*, 2020; GARCIA *et al.*, 2019; SHARIF *et al.*, 2013; SOUZA *et al.*, 2016).

Belo e colaboradores (2020) mostraram que o óleo essencial puro de *P. aculeata* ou em concentrações de até 90% foi eficaz contra as bactérias Gram positivas (*Staphylococcus epidermidis*) e Gram negativas (*Klebsiella pneumoniae*) testadas.

O extrato de folhas de *P. aculeata* em éter de petróleo apresentou eficiência contra *Escherichia coli*. Já *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus* foram inibidos pelo extrato clorofórmico, enquanto os extratos em éter de petróleo e metanol inibiram o crescimento de *Aspergillus versicolor* (SOUZA *et al.*, 2016).

As espécies *P. bleo* Kunth e *P. grandifolia* Haw. também obtiveram resultados antimicrobianos. Os extratos em hexano, metanol e acetato de etila de *P. bleo* Kunth inibiram as bactérias Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella Choleraesuis* de forma alta ou moderada e moderadamente a bactéria

Pseudomonas aeruginosa. Já o extrato de acetato de etila de *P. grandifolia* Haw. inibiu de forma leve as bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis* (SHARIF *et al.*, 2013).

Um extrato hidroalcoólico da farinha de *P. aculeata*, contendo 70% de etanol em água deionizada, da farinha de *P. aculeata* Miller, na proporção farinha/solvente de 1:20, resultou em efeito antimicrobiano mais ativo contra bactérias Gram positivas do que contra Gram negativas. A atividade do extrato foi relacionada ao seu teor de rutina, que é um flavonóide (GARCIA *et al.*, 2019).

Tabela 1 - Atividade antimicrobiana de diferentes extratos das folhas de *P. aculeata* Mill, apresentada por outros autores.

Amostras	Metodologia	Culturas microbianas	Atividade observada	Fonte
Extrato etanólico (90%) e metanólico (90%) das folhas.	Concentração inibitória mínima (CIM) - microplacas de 96 poços.	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. pneumoniae</i> .	Apenas o extrato metanólico apresentou atividade positiva frente à <i>K. pneumoniae</i> e <i>S. aureus</i>	Colacite <i>et al.</i> , 2022
Extrato hidroalcoólico (70%) das folhas.	Concentração inibitória mínima (CIM)	<i>E. faecalis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. morgani</i> , <i>P. mirabilis</i> e <i>P. aeruginosa</i>	O extrato apresentou valores de CIM superiores a 1,6; mais ativo contra bactérias Gram positivas do que contra bactérias Gram negativas.	Garcia <i>et al.</i> , 2019
Extrato metanólico das folhas - concentrações 1- 4 µg/mL	Antibiograma	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> e <i>P. aeruginosa</i> .	<i>P. aeruginosa</i> apresentou halo em todas concentrações (ex: 4 µg/mL= 13,33 mm). Não obteve atividade contra <i>E. coli</i> . O extrato foi inativo a 1 µg/mL contra <i>B. cereus</i> e <i>S. aureus</i> , mas em concentração de 4 µg/mL foi eficiente (10,66 mm e 8,33 mm, respectivamente).	Souza <i>et al.</i> , 2016

Amostras	Metodologia	Culturas microbianas	Atividade observada	Fonte
Extrato aquoso e hidroalcoólico (70%) das folhas	Difusão em disco	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. faecalis</i> e <i>E. aerogenes</i> .	Os extratos de Ora-pro-nóbis não apresentaram atividade antimicrobiana contra os microorganismos	Rodrigues, 2016
Extrato hidroalcoólico (92,8%) das folhas	Difusão em disco	<i>E. faecalis</i> , <i>S. mutans</i> e <i>Lactobacillus casei</i> .	A planta não apresentou efeito inibitório no crescimento das bactérias testadas, pois não houve o aparecimento do halo de inibição.	Santos <i>et al.</i> , 2011

Fonte: Autora, 2022.

2.4.2 Ação antioxidante

Há um crescente interesse de pesquisadores no desenvolvimento de substâncias antioxidantes, principalmente a partir de produtos naturais como plantas (OLIVEIRA, 2015). Antioxidantes são substâncias que podem atrasar ou inibir as lesões causadas pelos radicais livres (COTINGUIBA *et al.*, 2015). Os dois compostos cromogênicos mais usados para medir a atividade antioxidante em material biológico são os radicais 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolino-6-sulfonato (ABTS) e 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH) (ARNAO, 2000).

Os métodos possuem características diferentes, já que o radical ABTS deve ser gerado por reações enzimáticas ou químicas, podendo ser solubilizado em meios orgânicos e aquosos e é ideal para extratos vegetais, apresentando um espectro máximo de absorbância a 734 nm (ARNAO, 2000). Já o DPPH, é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção na faixa de 515 a 520 nm e é muito utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de frutas (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Os antioxidantes são obtidos sobretudo de produtos de origem vegetal, como compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenóides (SILVA *et al.*, 2010). Silva e colaboradores (2018) relataram a capacidade antioxidante dos frutos de *P. aculeata*, medidas através do método da capacidade de absorção do radical de oxigênio (*Oxygen Radical Absorbance Capacity* - ORAC), em diferentes estágios de maturação, apresentando uma significativa capacidade antioxidante.

Moraes e colaboradores (2020) avaliaram a capacidade antioxidante *in vitro* do chá do caule de *P. aculeata* Miller, com um resultado potencial moderado de antioxidante desse tipo de chá. No entanto, Queiroz e colaboradores (2015) obtiveram maior presença de compostos fenólicos nas folhas (1,5 mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g), do que no caule (0,7 mg EAG/g) desta planta.

Os extratos das folhas de *P. grandifolia*, que também considerada Ora-pro-nóbis, nos solventes hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila e metanol foi observado propriedades antioxidantes baixas, com valores entre 10 e 30% de inibição, pelo método da capacidade de sequestro de radicais livres do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilidrazil (DPPH) (TURRA *et al.*, 2007).

As folhas das plantas *P. aculeata* e *P. grandifolia* nos solventes água, etanol, metanol e infusão demonstraram atividade antioxidante. No entanto, os extratos metanólicos e etanólicos obtiveram melhores resultados em comparação aos demais (SOUZA, 2014).

A quantidade de compostos fenólicos encontrados nas folhas de *Pereskia aculeata* Mill. variaram de acordo com o solvente utilizado. Por exemplo, Sousa e colaboradores (2014) utilizaram o método de Folin-Ciocalteu e os valores variaram com os solventes água (50,1 mg EAG/g de extrato), etanol 70% (95,6 mg EAG/g de extrato) e acetona 80% (117,8 mg EAG/g de extrato). Além disso, apresentou teor de proantocianidinas nos mesmos solventes, variando de 2,6 mg de EC/g de extrato expressos como miligrama (mg) de equivalente de catequina (EC) por grama (g) de extrato, 4,0 mg de EC/g de extrato e 7,6 mg de EC/g de extrato, respectivamente (SOUSA *et al.*, 2014). Souza e colaboradores (2016) encontraram 15,04 mg EAG/g no extrato de metanol, 11,78 mg EAG/g no éter de petróleo e 5,17 mg EAG/g no extrato clorofórmico.

Outros compostos pertencentes à classe de carotenóides, como a Luteína, Zeaxantina, β -cryptoxantina, α -caroteno, Trans- β -caroteno e Cis- β -caroteno, foram detectados em Ora-pro-nóbis (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2012). Outras substâncias como Ácido palmítico, Fitol, Nerolidol (PINTO *et al.*, 2015), Ácido Linoléico, β -Ionona e α -Muurolol, apesar de não serem classificados como fenólicos, apresentam potencial antioxidante e foram descritos nesta planta (MORAES *et al.*, 2020).

Tabela 2 - Atividade antioxidante de diferentes extratos das folhas de *P. aculeata* Mill., apresentada por outros autores.

Amostras	Metodologia	Atividade observada	Fonte
Extrato hidroalcoólico (70%) e aquoso das folhas	Radical DPPH CE ₅₀ (µg/mL ⁻¹)	Para o extrato aquoso 106,1±3,9 e o extrato hidroalcoólico teve seu valor em 56,6±2,1.	Sousa <i>et al.</i> , 2014.
Extrato hidroalcoólico (50%) e aquoso das folhas	Radical DPPH e ABTS IC ₅₀ (mg/L)	Hidroalcoólico- DPPH = 225±8 e ABTS = 110±9. Aquoso- DPPH = 570±13 e ABTS = 196±8.	Cruz <i>et al.</i> , 2022.
Extrato aquoso frio (ambiente), aquoso quente (50°C) e hidroalcoólico (70%) das folhas.	Radical DPPH e ABTS. IC ₅₀ (µg/mL)	Extrato hidroalcoólico - DPPH 73,30±6,4 e ABTS 32,57±2,2. Extrato aquoso frio- DPPH 374,94±3,1 e ABTS 60,21±6,4. Extrato aquoso quente- DPPH 242,69±11,3 e ABTS 66,29±0,1.	Delmiro <i>et al.</i> , 2019.
Extrato aquoso (As folhas usadas estavam em diferentes condições: <i>in natura</i> , 8h no sol e 8h na sombra)	Radical DPPH e ABTS. (µM Trolox g ⁻¹)	<i>In natura</i> - DPPH 32,46±0,74 e ABTS 12,99±0,08. 8h no sol- DPPH 33,61±1,43 e ABTS 11,85±1,02. 8h na sombra- DPPH 31,29±0,78 e ABTS 11,55±0,06.	Jardim <i>et al.</i> , 2021.
Extrato hidroalcoólico (70%)	Radical DPPH e ABTS. IC ₅₀ (µg/ml)	DPPH = 72,9±3 ABTS= 40,5±1	Garcia <i>et al.</i> , 2019.

Extratos com valores de abaixo de 50µg/mL-1 indica elevada atividade, de 50-100 µg/mL-1 indica moderada atividade, de 100-200 µg/mL-1 indicar baixa atividade e acima de 200 µg/mL -1 são considerado inativos (SOUSA *et al.*, 2014).

Fonte: Autora, 2022.

3 METODOLOGIA

3.1 Material vegetal

As folhas de *P. aculeata* foram coletadas numa propriedade privada em Rosário do Sul (Latitude 30° 15' 39.8 "S e Longitude 54° 55' 11.3 "W), Rio Grande do Sul, Brasil, em 11 de outubro de 2022.

Figura 2 - Planta *Pereskia aculeata* Miller (Ora-pro-nóbis).



Fonte: Autora, 2022.

3.1.1 Higienização das folhas

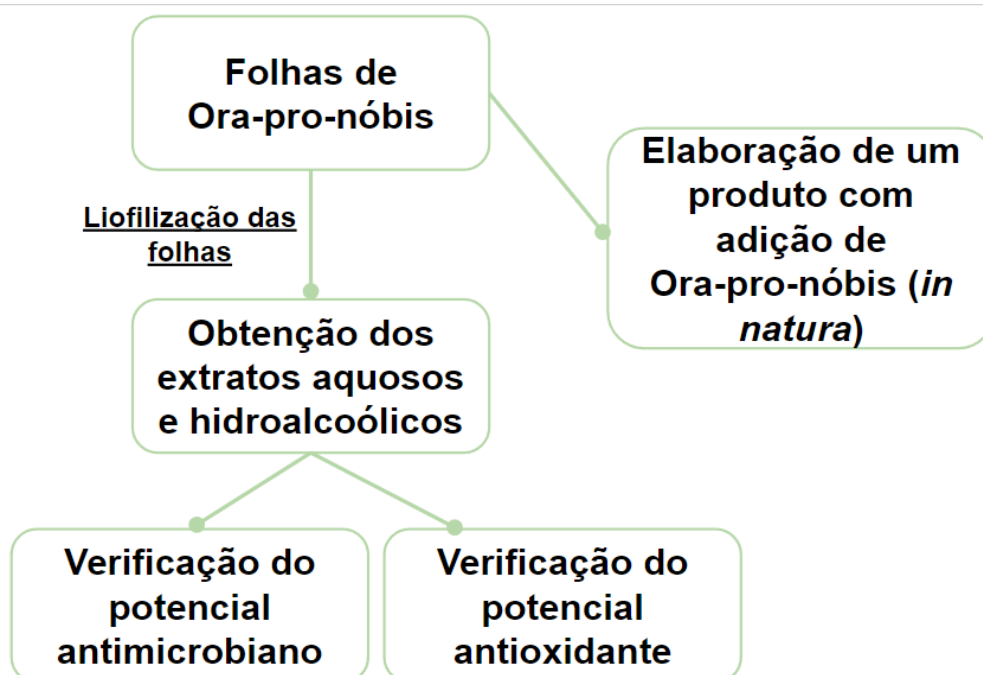
As folhas foram higienizadas, primeiramente em água corrente, e depois sanitizadas com hipoclorito de sódio 2-2,5% (concentração de 200 ppm) por aproximadamente 15 minutos. Após serem retiradas da solução, foram novamente lavadas em água corrente.

Figura 3 - Folhas de *Pereskia aculeata* Mill. sendo sanitizadas.



Fonte: Autora, 2022.

Figura 4 - Fluxograma demonstrando as etapas do trabalho com as folhas de Ora-pro-nóbis.



Fonte: Autora, 2022.

3.2 Secagem das Folhas

A liofilização é um processo de desidratação usado para preservar alimentos perecíveis, princípios ativos, bactérias, dentre outras aplicações. A água é retirada por sublimação, ou seja, não passa pelo estado líquido (PUHL *et al.*, 2022). As folhas foram guardadas bem separadas uma das outras em sacos com pequenos furos e congeladas a -20°C , durante 24 horas (SILVA *et al.*, 2016). O liofilizador utilizado foi Liobras-K105 e o processo foi realizado durante 23 horas.

Figura 5 - Folhas liofilizadas por 23 horas



Fonte: Autora, 2022.

Após a secagem, as folhas foram trituradas com auxílio de um liquidificador, até que apresentasse um aspecto de farinha. Posteriormente, essa farinha foi

peneirada em um utensílio de aço inox simples com malha de 30 mesh deixando uma textura mais leve do pó.

Figura 6 - Folhas liofilizadas sendo trituradas e peneiradas.



Fonte: Autora, 2022.

3.3 Obtenção dos extratos

O preparo dos extratos foi adaptado de Garcia e colaboradores (2019) e Paraíso e colaboradores (2018).

3.3.1 Extratos aquosos filtrados

O preparo dos extratos aquosos foi realizado na proporção 1:20 da farinha liofilizada e água destilada. Os testes foram feitos em duas condições: Extração a frio a 25°C (temperatura ambiente), durante 2h, e extração a quente (75°C), durante 15 min. com o auxílio de banho maria. Após isto, os extratos foram filtrados no escuro e armazenados em temperatura ambiente. A filtração do extrato frio levou em torno de duas horas, realizado dentro da cabine de segurança biológica, e a filtração do extrato quente demorou em torno de 24 horas.

Figura 7 - Filtração do extrato aquoso.

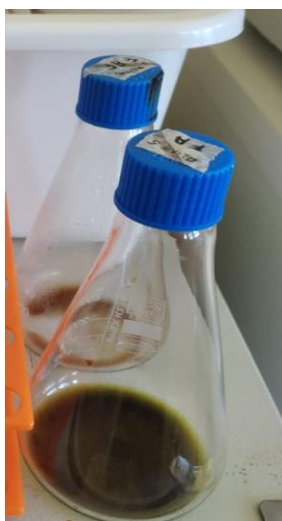


Fonte: Autora, 2022.

3.3.2 Extrato hidroalcoólico filtrado

O preparo do extrato hidroalcoólico foi feito com etanol 70%. A proporção utilizada foi 1:20 (folha:solvente). O extrato foi preparado em um tubo falcon de 50mL e armazenado protegidos da luz, durante 4 dias. No terceiro dia, foi colocado em um agitador orbital *shaker* durante 24 horas, a 130 rpm, em uma temperatura de $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, os extratos foram filtrados dentro da cabine de segurança biológica e armazenados em temperatura ambiente.

Figura 8 - Filtrado do extrato hidroalcoólico.

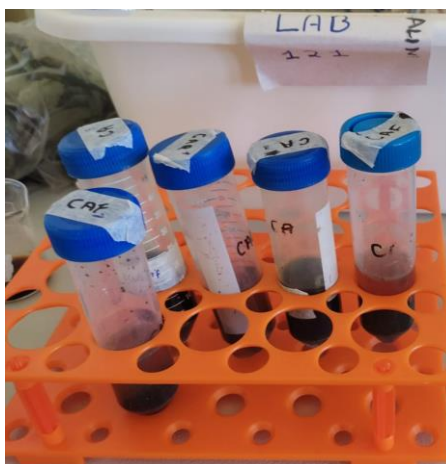


Fonte: Autora, 2022.

3.3.3 Extrato aquoso e hidroalcoólico centrifugado

O extrato centrifugado seguiu as mesmas proporções e condições do extrato aquoso e hidroalcoólico filtrado, no entanto, ele foi agitado a 10.000 rpm, durante 15 minutos, na temperatura de 4°C , sem passar pelo processo de filtração.

Figura 9 - Extratos aquoso e hidroalcoólico após a centrifugação.



Fonte: Autora, 2022.

3.4 Agentes bacterianos testados

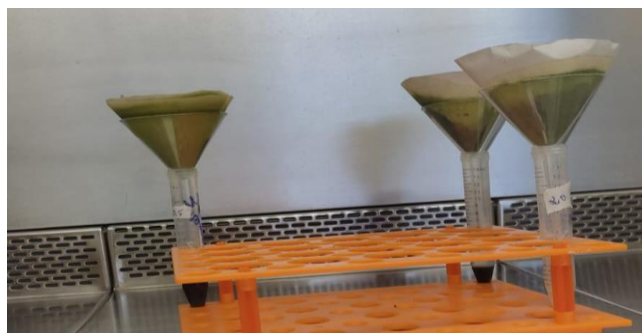
Para avaliar a atividade antimicrobiana, foram utilizadas culturas de bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 10536 e *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076) e Gram positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644).

3.5 Avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos

O teste qualitativo, denominado disco-difusão e também conhecido como antibiograma, e foi empregado com a finalidade de testar se as bactérias em questão possuem alguma sensibilidade frente aos antimicrobianos (BRASIL, 2008).

Uma colônia originalmente crescida em Plate Count Ágar na Placa de Petri das respectivas bactérias escolhidas foram introduzidas em um tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo Mueller- Hinton e incubadas por 24 horas. Após isto, foram inoculados 10 µL da cultura anterior em um novo tubo de ensaio contendo 5 mL de caldo Mueller- Hinton e incubados por 24 horas. Para padronizar a suspensão bacteriana, foi utilizada solução salina para diluir e a quantificação foi feita utilizando a densidade óptica em espectrofotômetro, usando como base 0,5 da Escala de McFarland, que corresponde a cerca de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL e à densidade óptica de 0,08 a 0,1, no comprimento de onda 625 nm (MOSTACHIO, 2010). O método de disco-difusão foi realizado utilizando discos estéreis de papel-filtro dispostos em placas com meio de cultura Ágar Mueller-Hinton, após semeado cada inóculo bacteriano anteriormente padronizado. O inóculo foi coletado com *swab*, removendo o excesso contra a parede interna do tubo antes de semear por estrias por toda a placa (BAUER *et al.*, 1966). Os discos antimicrobianos receberam 10 µL (teste inicial) dos extratos filtrados e centrifugados com exceção do extrato filtrado aquoso quente ou 20 µL (teste secundário) dos extratos hidroalcoólicos filtrados com proporções diferentes. No teste secundário, o primeiro extrato foi 1:20 (0,5 g para 10 mL), o segundo com 1:10 (1 g para 10 mL) e o terceiro 1:5 (2 g para 10 mL). A principal diferença entre o teste inicial e o teste secundário foi que, no primeiro, os discos foram colocados sobre as placas contendo as bactérias inoculadas e aplicadas as alíquotas de extratos. No teste secundário, os extratos foram aplicados nos discos apoiados em placas estéreis vazias e mantidos na cabine de segurança biológica até evaporação do líquido, sendo posteriormente colocados sobre as placas contendo as bactérias inoculadas.

Figura 10 - Filtração dos extratos hidroalcoólicos para os testes secundários.



Fonte: Autora, 2022.

As placas foram incubadas na estufa por 16 horas para observação e medição dos halos de inibição, com régua. Os resultados são considerados positivos quando o diâmetro do halo de inibição for de 8 mm.

As bactérias são classificadas como resistentes, intermediárias e sensíveis, de acordo com os tamanhos dos halos de inibição do crescimento medidos em milímetros. Os valores dos halos de inibição são comparados com os critérios publicados pelo “Clinical Laboratory Standard Institute” (CLSI) (ANVISA, 2008).

Os testes foram realizados em triplicata, além do teste do efeito da solução hidroalcoólica sem presença da planta. Os dados do antibiograma foram avaliados no Programa Sigmaplot 12.0, com aplicação de análise de variância seguida pelo Teste de Turkey.

3.6 Atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo método redução do radical DPPH e redução do cátion ABTS, conforme descrito por Corrêa e colaboradores (2015). Esta metodologia foi realizada em duplicata, utilizando microplacas de 96 poços, e avaliada na leitora de placas Perkin Elmer 2300 Enspire Multilabel.

Tabela 3 - Concentrações de cada reagente nas misturas.

BRANCO DPPH	270 µL de metanol + 30 µL de DPPH
AMOSTRA DPPH	2 µL da amostra + 268 µL de metanol + 30 µL de DPPH
BRANCO ABTS	50 µL de água destilada + 200 µL de ABTS
AMOSTRA ABTS	2 µL da amostra + 48 µL de água destilada + 200 µL de ABTS

Fonte: Grupo de pesquisa estresse oxidativo e sinalização celular.

Após as misturas dos reagentes, as placas para DPPH foram guardadas no escuro por até 45 minutos antes das leituras e ABTS ficou no escuro por apenas 6 minutos antes das leituras.

A eliminação de radicais foi calculada com uma porcentagem da descoloração do DPPH usando a equação:

% scavenging = (Abs do DPPH – Abs da amostra) / Abs do DPPH ×100 (CORRÊA *et al.*, 2015).

Para a porcentagem do ABTS, a fórmula usada foi:

% scavenging = (Abs do ABTS – Abs da amostra) / Abs do ABTS ×100 (CORRÊA *et al.*, 2015).

3.7 Extrato concentrado

Foi transferido 1 mL de extrato em cada microtubo previamente pesado e registrado. Posteriormente, os microtubos foram novamente pesados e registrado o volume total. Para a evaporação total dos solventes do extrato, foi utilizado um concentrador à vácuo (Concentrator Plus – Eppendorf). As amostras, tanto hidroalcoólicas, quanto aquosas, foram concentradas separadamente, na temperatura de 60°C, até apresentarem peso constante. O rendimento dos extratos foi calculado no software Excel 2019.

3.8 Formulação desenvolvida com folhas de Ora-pro-nóbis

Visando ao potencial alimentício da *P. aculeata* Mill., foi desenvolvido um patê com as folhas *in natura* e base de grão de bico, conhecido por ter melhor digestibilidade comparado a outras leguminosas e melhor disponibilidade de ferro (CANNIATTIBRAZACA *et al.*, 2004).

A composição da formulação foi definida através de testes prévios, para obter um produto de origem vegetal ou “*plant based*” e com os atributos sensoriais desejáveis. Foi utilizada a folha *in natura*, já que o uso do pó liofilizado tornaria o processo mais caro e poderia até inviabilizar a produção em maior escala. Para a formulação do patê de Ora-pro-nóbis, os ingredientes foram colocados no liquidificador até obter uma pasta homogênea. O produto foi embalado em frascos de vidro previamente sanitizados por fervura e armazenado sob refrigeração a cerca de 5 °C.

3.8.1 Análise sensorial

Os testes foram realizados em espaços delimitados, com avaliadores não treinados escolhidos ao acaso. Foi disponibilizado para cada avaliador um recipiente com aproximadamente de 10 g do patê, uma espátula plástica, um biscoito *cream cracker* e um copo com água. Para realizar as avaliações, foi entregue uma ficha de testes de aceitação em escala hedônica de 1 a 9, sendo 1 desgostei muitíssimo e 9 gostei muitíssimo, em relação aos parâmetros cor, odor, sabor e textura. Por fim, havia o teste de intenção de compra com escala de 1 a 5, sendo 1 certamente não compraria e 5 certamente compraria.

Os resultados foram processados no Programa Excel 2019, para cálculo das médias e dos desvios padrão, logo também serviu para calcular o percentual de concordância entre os provadores (MATOS, 2014).

Figura 11 - Apresentação da amostra de patê de Ora-pro-nóbis para avaliação sensorial.



Fonte: Autora, 2022.

4 APRESENTAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.1 Avaliação da atividade antimicrobiana (Antibiograma)

No presente trabalho, averiguou-se que com o uso da liofilização houve um rendimento de aproximadamente 17,5%, com a massa inicial 127,69 g e pesagem de 22,34 g após a liofilização. No teste inicial verificou-se que os extratos à base de água não apresentaram resultados de inibição frente às bactérias testadas, em contrapartida os extratos que tinham como base a solução hidroalcoólica

apresentaram atividade antimicrobiana (Tabela 4). De uma forma geral, os extratos foram mais eficientes para *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. O extrato hidroalcoólico centrifugado foi inativo frente à *Listeria monocytogenes*, isso pode ser atribuído a algum composto com propriedade anti-*Listeria* ter permanecido no precipitado, produzido durante a centrifugação. O extrato aquoso quente filtrado foi o único não testado nesta metodologia, visto que todos os filtrados foram feitos em condições assépticas, na cabine de segurança biológica, e este extrato especificamente demorou mais tempo para filtrar, o que poderia ter acarretado contaminação, onde a provável causa foi a presença de mucilagens na planta, o que levou ao espessamento da suspensão e dificultou a filtração (CRUZ *et al.*, 2020; SAENZ, 2004).

Tabela 4 - Diâmetro dos halos de inibição obtidos através dos testes de disco-difusão.

Extratos	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
	Halos de inibição (mm)			
Extrato Hidroalcoólico centrifugado	3,2 ± 0,8	2,3 ± 0,6	–	2,7 ± 0,2
Extrato Hidroalcoólico filtrado	2,5 ± 0,4	1,8 ± 0,9	1,8 ± 4,1	3,2 ± 1,6

Cepas indicadoras foram cultivadas em placas de caldo Muller Hinton por 24h; Zona de inibição de crescimento ≤ 8 mm foi considerada fraca, ausência de zona de inibição negativa (-). Os valores são apresentados como médias \pm desvio padrão descontando o valor do branco (solução hidroalcoólica) (n=12). Não houve diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Fonte: Autora, 2022.

O teste secundário foi realizado para tentar comprovar que a eficácia do extrato não vinha da solução hidroalcoólica e sim dos compostos antimicrobianos da folha de Ora-pro-nóbis. Seguindo os mesmos princípios do antibiograma, houve uma diferença na aplicação dos discos, com evaporação prévia da solução hidroalcoólica. O terceiro extrato (1:5) não foi usado pela dificuldade de filtração, devido ao reduzido volume de solução hidroalcoólica e excesso de farinha da planta.

Não foram detectados halos, confirmando que a inibição das cepas bacterianas era proveniente da solução hidroalcoólica. O mesmo foi observado por Rodrigues (2016) e Santos e colaboradores (2011), que utilizaram a mesma técnica por difusão em disco e extrato hidroalcoólico 70% e 92,8%, respectivamente, e não obtiveram halo de inibição frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas.

Souza e colaboradores (2016) utilizaram a mesma técnica, porém seu solvente foi o metanol, obtendo sucesso contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Pseudomonas aeruginosa*, contudo não inibiu o crescimento da *Escherichia coli* e concluiu que a atividade antimicrobiana parece ser dependente da dose (Tabela 1).

Autores como Colacite e colaboradores (2022) e Garcia e colaboradores (2019) usaram a metodologia de concentração inibitória mínima (CIM), com extratos etanólico (90%), metanólico (90%) e extrato hidroalcoólico (70%) das folhas, resultando em atividade antimicrobiana do extrato metanólico (90%) frente à *Klebsiella pneumoniae* e *S. aureus* e o extrato hidroalcoólico (70%) foi mais ativo contra bactérias Gram positivas. Como apresentado anteriormente neste trabalho, o extrato hidroetanólico de Garcia e colaboradores (2019) teve sua ação antimicrobiana associada ao teor de rutina, que já é conhecida pela ampla versatilidade farmacológica como agente antimicrobiano, antifúngico e antialérgico.

No entanto, a técnica de CIM possui algumas restrições observadas por Ostrosky e colaboradores (2008), onde células de algumas bactérias podem aderir à base do poço, enquanto às de outras permanecem em suspensão. Também alguns compostos presentes nos extratos vegetais podem precipitar e a coloração verde da clorofila em concentração muito alta interferir na análise (OSTROSKY *et al.*, 2008). Devido as restrições sobre a técnica CIM, o presente trabalho optou pela metodologia do Antibiograma.

Segundo Vicente (2017), as bactérias Gram positivas são geralmente mais susceptíveis à ação dos agentes antibacterianos, o que pode ser explicado pela diferença entre as paredes celulares, sendo que as Gram positivas não possuem membrana externa. Além disso, demonstrou que o extrato etanólico de Ora-pro-nóbis possui maior teor de compostos fenólicos, ou seja, houve maior extração e concentração de compostos bioativos no extrato etanólico do que no extrato aquoso (VICENTE, 2017).

Sabe-se que os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário dos vegetais e bastante relacionados à ação antimicrobiana, anti-alérgica e, principalmente, antioxidante (MORAES *et al.*, 2020). Ademais, os polifenóis podem combinar-se com as adesinas bacterianas, de forma a comprometer a adesão do microrganismo sobre a superfície celular (COWAN, 1999).

4.2 Avaliação da atividade antioxidante

Sabe-se como é importante empregar mais de um ensaio na avaliação da capacidade antioxidante de amostras complexas, como os extratos vegetais (CARDOSO *et al.*, 2013). A maior parte dos artigos encontrados baseavam-se apenas na metodologia do radical DPPH.

Nos resultados encontrados neste trabalho é possível observar uma discrepância nos valores determinados pelas metodologias DPPH e ABTS. Enquanto no DPPH, os extratos que apresentaram porcentagem de inibição (Tabela 5) foram o extrato hidroalcoólico centrifugado (13,40%), extrato hidroalcoólico filtrado (13,06%), seguido por extrato aquoso centrifugado frio (11,34%) e extrato aquoso filtrado quente (2,77%).

Tabela 5 - Avaliação das propriedades antioxidantes das folhas de *Pereskia aculeata* por meio do radical DPPH.

	% de inibição DPPH
Extrato hidroalcoólico filtrado	13,06
Extrato aquoso filtrado quente	2,77
Extrato aquoso filtrado frio	AI
Extrato hidroalcoólico centrifugado	13,40
Extrato aquoso centrifugado quente	AI
Extrato aquoso centrifugado frio	11,34

Os resultados são apresentados em % de inibição do DPPH. AI= Ausência de inibição.
Fonte: Autora, 2022.

A metodologia ABTS obteve porcentagem de inibição (Tabela 6) para todos os extratos, tendo o extrato aquoso filtrado frio com maior porcentagem (91,38%).

Ao analisar os valores da atividade antimicrobiana e comparar com os dados do potencial antioxidante (ABTS), é possível identificar que o extrato hidroalcoólico filtrado obteve halos para todas as bactérias e foi o que melhor apresentou porcentagem de inibição, com o valor de 83,95%. Contudo, o extrato hidroalcoólico centrifugado com valor de inibição de 56,77% não apresentou halo para *Listeria*.

Tabela 6 - Avaliação das propriedades antioxidantes das folhas de *Pereskia aculeata* por meio do radical ABTS.

% de inibição ABTS	
Extrato hidroalcoólico filtrado	83,95
Extrato aquoso filtrado quente	88,09
Extrato aquoso filtrado frio	91,38
Extrato hidroalcoólico centrifugado	56,77
Extrato aquoso centrifugado quente	89,61
Extrato aquoso centrifugado frio	84,37

Os resultados são apresentados em % de inibição do ABTS. AI= Ausência de inibição.

Fonte: Autora, 2022.

A metodologia ABTS ao ser comparada com DPPH foi melhor aplicada nos extratos vegetais da *Pereskia aculeata* Mill. No método do ABTS, o extrato aquoso filtrado frio apresentou melhor atividade antioxidante (91,38%), o que demonstra que esta preparação extraiu maior quantidade de compostos bioativos com capacidade antioxidante. Já no extrato hidroalcoólico centrifugado foi apresentada menor atividade antioxidante (56,77%).

O mesmo foi observado por Delmiro e colaboradores (2019) que obtiveram valores maiores com a metodologia do ABTS e o extrato com solução hidroalcoólica teve atividade considerada elevada, enquanto os aquosos apresentaram atividade moderada. Já no DPPH, os extratos aquosos foram considerados inativos e houve atividade moderada apenas com solução hidroalcoólica (DELMIRO et al., 2019).

Em outros trabalhos, a metodologia ABTS gerou valores mais elevados na porcentagem de inibição, principalmente para o extrato com solução hidroalcoólica (Tabela 2) (GARCIA et al., 2019; CRUZ et al., 2022). Apesar de Sousa e colaboradores (2014) utilizarem apenas o radical DPPH, o extrato hidroalcoólico testado também exibiu maior porcentagem de inibição, comparado ao aquoso.

Jardim e colaboradores (2021) aplicaram técnicas diferentes na colheita das folhas, descritas na Tabela 2. Os extratos aquosos tiveram uma atividade alta de inibição para DPPH e ABTS, mas a hora da colheita não interferiu nos resultados, porém o teor de antocianinas foi maior para o vegetal *in natura* (JARDIM et al., 2021).

Utilizando a metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) no extrato hidroalcoólico, Garcia e colaboradores (2019) identificaram um total de dez compostos fenólicos, dentre os quais dois eram ácidos fenólicos (derivados do ácido cafeico) e oito eram flavonóides (derivados de glicosídeos de quercetina, kaempferol

e isorhamnetina). O ácido caftárico foi o principal, respondendo por mais de 49% do conteúdo fenólico (11,72 mg/g), seguido por quercetina-3-O-rutinosídeo (3,56 mg/g) e 2 isorhamnetina-O-pentosídeo-O-rutinosídeo (2,27 mg/g) (GARCIA *et al.*, 2019).

Em uma avaliação qualitativa denominada “Marcha Analítica”, que consiste em uma série de reações e procedimentos sequenciais, que levam à separação dos diferentes cátions em grupos, segundo suas reações em comum, seguida da identificação desses cátions (POSTIGO *et al.*, 2021), foi observada a presença dos metabólitos alcaloides, flavonoides, taninos e saponinas no extrato aquoso das folhas (JARDIM *et al.*, 2021).

Os fenólicos totais foram avaliados pelo método de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como padrão e foram obtidos os seguintes valores para seus extratos hidroalcoólicos de $84,07 \pm 1,65$ µg EAG/mg, aquoso a frio de $46,45 \pm 1,14$ µg EAG/mg e aquoso quente de $44,72 \pm 2,87$ µg EAG/mg (DELMIRO *et al.*, 2019).

Além desses autores, o tópico “ação antioxidante” na revisão da literatura do presente trabalho é possível observar outros trabalhos que apresentaram compostos da classe dos carotenóides e outras substâncias que não são classificadas como fenólicos, mas que atuam como antioxidantes.

4.3 Avaliação da concentração dos extratos

O intuito da concentração foi apenas de avaliar o rendimento dos extratos e analisar o percentual de cada um. Os extratos concentrados não foram usados para avaliar a atividade antimicrobiana, por conta da exposição ao ambiente que poderia levar esta contaminação para as placas e, conseqüentemente, também não foi avaliado o potencial antioxidante. Os valores encontrados estão na Tabela 7.

Tabela 7- Rendimento dos extratos produzidos com a planta liofilizada.

Amostra	Concentração (rendimento) %
Extrato centrifugado hidroalcoólico	20,85%
Extrato filtrado hidroalcoólico	19,76%
Extrato centrifugado aquoso frio	21,05%
Extrato centrifugado aquoso quente	3,81%
Extrato filtrado aquoso frio	5,04%

Fonte: Autora, 2022.

É observado na tabela 7 que os extratos com maiores rendimentos são os: centrifugado aquoso frio, filtrado hidroalcoólico e o centrifugado hidroalcoólico, tendo esses dados mais parecidos com a metodologia do potencial antioxidante DPPH, que demonstra uma maior quantidade de substâncias bioativas para esses três extratos. Evidenciando que a temperatura e filtração podem causar perdas nas propriedades da planta *P. aculeata* Miller.

4.4 Avaliação sensorial

O patê de Ora-pro-nóbis foi avaliado por 53 pessoas com idade média de $25 \pm 7,76$ anos, onde 47,2% (n=25) foram homens, seguido por 35,8% mulheres (n=17) e 17% (n=9) não declararam gênero no preenchimento da ficha. A Tabela 8 apresenta os valores médios dos testes de aceitabilidade e de intenção de compra para a formulação desenvolvida.

Tabela 8 - Aceitabilidade sensorial e de intenção de compra do patê de Ora-pro-nóbis.

Parâmetros	Patê de Ora-pro-nóbis	Coefficiente de concordância
Cor*	7,26 ± 1,29	77,36%
Odor*	7,15 ± 1,66	71,69%
Sabor*	7,81 ± 1,33	84,90%
Textura*	7,06 ± 1,78	67,92%
Intenção de compra**	4,06 ± 0,87	75,47%

Valores médios \pm desvio padrão da média (n=53), *Escala estruturada de 1 a 9 pontos, **Escala de 1 a 5 pontos. Coeficiente de concordância = * Acima da nota 7, ** Acima da nota 4.

Fonte: Autora, 2022.

O parâmetro mais bem avaliado foi o sabor, com a nota 7,81, que se localiza entre “gostei regularmente” e “gostei muito”. Os valores dos parâmetros textura, odor e cor permaneceram na faixa de “gostei regularmente”. A cor esverdeada do patê não pareceu atrapalhar na avaliação pelos provadores e foi considerado um diferencial atrativo, ao contrário do que foi descrito para pão produzido com farinha de Ora-pro-nóbis (JESUS, REGES, 2019). A textura apresentou a menor nota nos parâmetros sensoriais, provavelmente por haver um excesso de azeite, descrito nas fichas por alguns avaliadores.

Uma pesquisa avaliou dez produtos, cinco salgados (arroz, macarrão, frango, pão e polenta) e cinco doces (bolo de chocolate, brigadeiro, bolo tradicional, pudim e

sorvete), à base de folhas verdes ou farinha de Ora-pro-nóbis. Foi avaliada a aceitabilidade geral de cada formulação, em escala hedônica de 1 a 9, e a média (n=80) foi $7,3 \pm 1,9$ para os produtos salgados e $7,7 \pm 1,7$ para os doces (JESUS, REGES, 2019), similares ao do presente estudo. Com as folhas da Ora-pro-nóbis, produziram-se patês, pães e pães de queijo, que tiveram boa aceitação, e pastéis, bolos e suco verde, que obtiveram uma aceitação média entre os provadores (KOHMANN *et al.*, 2006).

Este produto apresenta boa viabilidade para ser comercializado, visto que a média no teste de intenção de compra foi próxima a 4,0, o que na escala hedônica “Provavelmente compraria este produto”. A avaliação de dez receitas doces e salgadas contendo Ora-pro-nóbis por provadores (n=80) demonstrou que a formulação de pão não atingiu índice de aceitabilidade acima de 70%, o que levou a classificá-la como a única amostra inviável para comercialização (JESUS, REGES, 2019). No caso do patê produzido no presente estudo, seria necessário aprimorar a formulação e realizar testes da vida de prateleira do produto na embalagem de venda.

O valor de 75% é considerado o mínimo de concordância aceitável (MATOS, 2014). Tendo isto em vista, o patê de Ora-pro-nóbis apresentou notas médias acima de 7 e coeficientes de concordância, com percentuais acima de 75% nos parâmetros cor (77,36%), sabor (84,90%) e intenção de compra (75,47%).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção científica sobre a Ora-pro-nóbis ainda é pequena (MORAES *et al.*, 2020), mas sabe-se que é uma planta com apelo farmacológico e nutricional. (JARDIM *et al.*, 2021). Os extratos aquosos e hidroalcoólicos obtidos apresentaram potencial antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, sendo que neste último o extrato aquoso filtrado frio apresentou maior porcentagem de inibição, mostrando a importância de aplicar mais de uma técnica no potencial antioxidante.

O potencial antimicrobiano foi testado pelo método Antibiograma, nas cepas *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, mas não houve evidências, quanto ao potencial da *P. aculeata* contra as bactérias testadas.

O produto de origem vegetal formulado, patê de Ora-pro-nóbis, apresentou boa aceitação por parte dos provadores, com boa aceitabilidade nos parâmetros sensoriais e intenção de compra que indica viabilidade de comercialização. Portanto, pode-se considerar um produto promissor para o mercado, com benefícios quanto às proteínas e compostos bioativos e por sua atuação como antioxidante.

REFERÊNCIAS

1. AGOSTINI-COSTA, T.S. *et al.* Carotenoids profile and total polyphenols in fruits of *Pereskia aculeata* Miller. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 1, p. 234-238, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-29452012000100031>>. Acesso em: 09 out 2022.
2. ALMEIDA, M. E. F. *et al.* Utilização de cactáceas do gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, v.42, n.4, p.751-756, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/274849658_Utilizacao_de_cactaceas_do_genero_Pereskia_na_alimentacao_humana_em_um_municipio_de_Minas_Gerais>. Acesso em: 20 jan 2022.
3. ALMEIDA FILHO, J. *et al.* Estudo do valor nutritivo do "Ora-Pro-Nobis". (*Pereskia aculeata* Mill.). **Revista Ceres**, v. 21 n. 114, p. 105-111, 1974.
4. BRASIL. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Módulo 5: Teste de sensibilidade aos antimicrobianos. 2008. Disponível em: https://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/interpretacao.htm#:~:texto%20teste%20de%20risco%20Difus%C3%A3o,2%20x%2010%20 UFC%2 FmL. Acesso em: 05 ago. 2022
5. AMARAL, T. N. **Comportamento reológico e propriedades térmicas da goma da *Pereskia aculeata* Miller adicionada de solutos e hidrocolóides comerciais e uma aplicação em bebida láctea fermentada**. 2016. 120 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/11042>>. Acesso em: 20 jan 2022.
6. ARNAO, Marino B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 11, p. 419-421, 2000.
7. BACOVICZ, M.R. **Aplicação de mucilagem de chia (*Salvia Hispanica L.*) e Orapronóbis (*Pereskia aculeata M.*) em pó no desenvolvimento de frozen yogurt de bacaxi**. 2021. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2021. Disponível em: <<https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/25506>>. Acesso em: 20 jan 2022.
8. BARROS, K. N.; GUIMARÃES, H. E. T. *et al.* Desenvolvimento de uma pomada contendo extrato de *Pereskia aculeata*. *In*: Encontro Internacional de Produção Científica CESUMAR, VI, 2009. Maringá. **Anais...** Maringá: Cesumar, 2009. Disponível em: <https://www.unicesumar.edu.br/epcc-2009/wp-content/uploads/sites/77/2016/07/kellen_nobre_barros.pdf>. Acesso em: 21 jan 2022.
9. BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, n.4, p.493–496, 1966.
10. BELO, T.C.A. *et al.* Potencial antimicrobiano do óleo essencial da pereskia. **Brazilian Journal of Development Braz**, Curitiba, v. 6, n. 6, p. 40025-40032, 2020. Disponível em: <<https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/12091/10118>>. Acesso em: 22 jan 2022.

11. BIESKI, I.G.C. *et al.* Etnofarmacologia da espécie *Pereskia aculeata* Mill. Ora-pro-nóbis. Uma revisão. *In: I CONQSFAR - I Congresso de Química Aplicada à Saúde e Farmácia*, Ed. I, 2020. Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Doity, 2020. Disponível em: <<https://www.doity.com.br/anais/conqsfar2020/trabalho/169634>>. Acesso em: 07 jan 2023.
12. BOTREL, N. *et al.* Valor nutricional de hortaliças folhosas não convencionais cultivadas no Bioma Cerrado. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 23, e2018174, 2020. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1981-67232020000100461&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 06 jun. 2022.
13. BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de hortaliças não-convencionais**. Brasília: MAPA, 2010. p. 92. Disponível em: <http://www.abcsem.com.br/docs/manual_hortalicas_web.pdf>. Acesso em: 20 jan 2022.
14. BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 156 p.
15. CANNIATTIBRAZACA, S.G. *et al.* Enhancers and inhibitors of iron availability in legumes. **Plant Food for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-8, 2004.
16. CARDOSO, C. A. L. *et al.* Avaliação das atividades antiproliferativa e antioxidante em frutos de *Campomanesia pubescens*. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 72, n. 4, p. 309–315, 2013.
17. CASEMIRO, I.P. *et al.* 10 Anos de PANC (Plantas Alimentícias Não Convencionais: Análise e tendências sobre o tema. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 2, n. 3, p. 68, 2021.
18. CASTRO, L.I.A. *et al.* Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd): digestibilidade in vitro desenvolvimento e análise sensorial de preparações destinadas a pacientes celíacos. **Alimentos e Nutrição**, 2007; 18(14):413-9.
19. COLACITE, J. *et al.* (2022). Avaliação da atividade antimicrobiana de diferentes extratos das folhas de Ora-Pro-Nóbis. **Brazilian Journal of Development**, 8 (5), 33207–33216. <https://doi.org/10.34117/bjdv8n5-040>.
20. CORDEIRO, S.Z. *Pereskia aculeata* Mill.: Características. **Unirio**, s.d. Disponível em: <<http://www.unirio.br/ccbs/ibio/herbariohuni/pereskia-aculeata-mill>>. Acesso em: 03 jul. 2022.
21. CORRÊA, R.C.G. *et al.* Bioactive formulations prepared from fruiting bodies and submerged culture mycelia of the Brazilian edible mushroom *Pleurotus ostreatoroseus* Singer. **Food & Function**, v.6, n.7, p.2155-2164, 2015.
22. COTINGUIBA, G.G. *et al.* Método de Avaliação da Defesa Antioxidante: Uma Revisão de Literatura. **UNOPAR Científica**, v.15, n.3, p. 231- 7, 2015.
23. CRUZ, A.F. *et al.* Plantas alimentícias não convencionais : Utilização das folhas de “Ora-pro-nóbis” (*Pereskia aculeata* Mill., *Cacataceae*) no consumo humano. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 21, n. 3, p. 19-33, 2020.
24. CRUZ, T.M. *et al.* Estudo comparativo entre o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos de folhas, frutos e flores de Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) *In: 35º Congresso Latinoamericano de Química e 61º Congresso Brasileiro de Química*. 5p. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2022. Acesso em: 26 dez. 2022.
25. COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, Oxford, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

26. DELMIRO, I.C.A. *et al.* Avaliação de fenólicos totais e atividade antioxidante de folhas de Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* e *Pereskia grandifolia*). In: 28º Encontro Anual de Iniciação Científica (EAIC) e o 8º Encontro Anual de Iniciação Científica. 4p. Maringá, PR, Brasil, 2019. Disponível em: <http://www.eaic.uem.br/eaic2019/anais/artigos/3149.pdf>. Acesso em: 19 out. 2022.
27. DELMIRO, I.C.A. *et al.* Desenvolvimento e aceitação sensorial de macarrão sem gluten com adição de Ora-pro-nóbis(*Pereskia aculeata*). In: Anais do I Congresso Latino-Americano de Ciências Sensoriais e do Consumidor, 2020, Evento Online. **Anais eletrônicos...** Campinas, Galoá, 2020. Disponível em: <https://proceedings.science/senselatam-2020/papers/desenvolvimento-e-aceitacao-sensorial-de-macarrao-sem-gluten-com-adicao-de-ora-pro-nobis--pereskia-aculeata-?lang=es>. Acesso em: 15 nov. 2022.
28. FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: ARTMED, 2013.
29. FRANCELIN, M.F. *et al.* Desenvolvimento e caracterização de snack de milho extrusado com adição de farinha de ora-pro-nóbis. **Society and Development**, v. 10, n. 3, p.1-8, 2021.
30. FRONZA, M. Plantas e flores nutritivas para incluir na alimentação. **Tribuna online**, 2020. Disponível em: <https://tribunaonline.com.br/cidades/plantas-e-flores-nutritivas-para-incluir-na-alimentacao-75745>. Acesso em: 28 jul. 2022.
31. GARCIA, A.A.J. *et al.* Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. **Food Chemistry**, v. 294, p. 302-308, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619308696>. Acesso em: 28 jul. 2022.
32. GIRÃO, L. V. C. *et al.* Avaliação da composição bromatológica de ora-pro-nóbis. **Horticultura brasileira**, Brasília. v. 21, n. 2, p.2, 2003.
33. GUIMARÃES, J. R. A. **Caracterização físico-química e composição mineral de *Pereskia aculeata* Mill., *Pereskia grandifolia* Haw. e *Pereskia bleo* (Kunth) DC**. 2018. 72 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrônômicas) - Universidade Estadual de Paulista, Botucatu, 2018. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/154805/guimaraes_jra_dr_botfca.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 20 jan 2022.
34. HAMADA, E.E. *et al.* Desenvolvimento de Formulação Tópica Contendo *Pereskia aculeata* para o Tratamento da Acne. In: VIII Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. I Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Tecnológica e Inovação, Maringá, PR, 2016. Disponível em: https://www.unicesumar.edu.br/mostra-2016/wp-content/uploads/sites/154/2017/01/erika_eiko_hamada.pdf. Acesso em: 28 jul. 2022.
35. HISSATOMI, C.M. *et al.* Utilização da planta alimentícia não convencional ora pro nobis em educação nutricional. **Brazilian Journal of Animal and Environmental**. Curitiba, v. 3, n. 4, p.3846-3855, 2020. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BJAER/article/view/20319/16247>. Acesso em: 20 jan 2022.
36. JARDIM, F.C. *et al.* Avaliação antioxidante de *Pereskia aculeata* mill in natura, seca à sombra e ao sol / Avaliação antioxidante de *Pereskia aculeata* mill in natura, seca à sombra e ao sol. **Revista Brasileira de Desenvolvimento**, v.

- 7, n. 9, pág. 89906–89925, 2021 Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/35993>>. Acesso em: 26 dez. 2022.
37. JESUS, M. N. *et al.* Ora-pro-nobis: saberes e novas oportunidades. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 26, p. 1-11, 2019.
38. KELEN, M. E. B. *et al.* **Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas**. 1ª ed. UFRGS, Porto Alegre, 2015. Disponível em: <<https://www.ufrgs.br/viveiroscomunitarios/wp-content/uploads/2015/11/Carilha-15.11-online.pdf>>. Acesso em: 20 jan 2022.
39. KINUPP, V.F. Plantas alimentícias alternativas no Brasil: uma fonte complementar de alimento e renda. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.1, n.1, p.333-336, 2006. Disponível em: <<https://revistas.aba-agroecologia.org.br/cad/article/view/1524/1365>>. Acesso em: 20 jan 2022.
40. KOHMANN, L.M. *et al.* **Aceitação de produtos alimentícios elaborados a partir de plantas nativas**. In: Salão de Iniciação Científica (18.: 2006: Porto Alegre). Livro de resumos, v. 1, resumo 258, p. 211. Porto Alegre: UFRGS; 2006.
41. LIEW, S.Y. *et al.* Hypoxia affects cellular responses to plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n.2, p. 453-456, 2012.
42. MACÊDO, A. *et al.* **Sistema de produção adotado no PR aumenta produtividade de ora-pro-nóbis**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/12501903/sistema-de-producao-adotado-no-pr-aumenta-produtividade-de-ora-pro-nobis>>. Acesso em: 20 jan 2022.
43. MADEIRA, N.R. *et al.* **Cultivo de Ora-pro-nóbis (Pereskia) em Plantio Adensado sob Manejo de Colheitas Sucessivas**. Brasília: MAPA, 2016. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1066888>> Acesso em: 20 jan 2022.
44. MATOS, D.A.S. Confiabilidade e concordância entre juízes: Aplicações na área educacional. **Estudos em Avaliação Educacional**, São Paulo, v. 25, n. 59, p. 298-324, 2014.
45. MATHIAS, J. Como plantar ora-pro-nóbis. **Revista Globo rural**, 2013. Disponível em: <<https://revistagloborural.globo.com/vida-na-fazenda/como-plantar/noticia/2013/12/como-plantar-ora-pro-nobis.html>>. Acesso em: 17 mai. 2022.
46. MORAES, T. *et al.* Atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos do chá do caule da *Pereskia aculeata* Miller fresco e armazenado sob congelamento. **Society and Development**. v.9, n.5, p. 1-10, 2020.
47. MORAES, T.V. *et al.* Antioxidant potential of the *Pereskia aculeata* Miller species: a bibliometric analysis. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v.29, n.1, pp.79-85, 2020.
48. MOSTACHIO, A.K.Q. **Caracterização de carbapenemases e proteínas de membrana externa de Acinetobacter spp. resistentes aos carbapenêmicos isolados de sangue**. 2010. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 107., 2010.
49. NOVAIS, T.S. *et al.* Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p. 05-08, 2003.

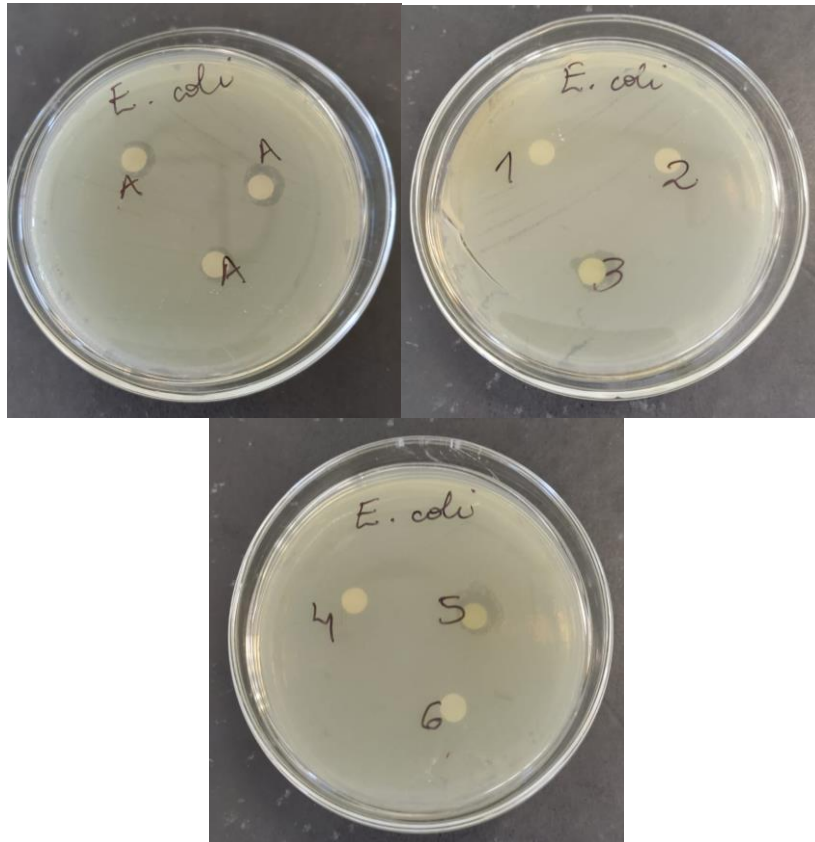
50. OLIVEIRA, G.L.S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.
51. OSTROSKY, E.A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18, n.2, p. 301-307, 2008.
52. PARAÍSO C.M. *et al.* Determinação do teor antioxidante e a características microbiológicas em chás de *Hibiscus Sabdariffa L.* In: 6º Simpósio de Segurança Alimentar. Gramado, RS, Brasil, 2018. Disponível em: <http://www.sbcta.org.br/evento/6-simposio-de-seguranca-alimentar>. Acesso em: 17 out. 2022.
53. PAULA, M.C. *et al.* Processamento de bolo com a planta *Pereskia aculeata MILL.* (Ora-pro-nóbis). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.18, n.2, p.167-174, 2016.
54. PINTO, N. C. C. *et al.* Extratos glicólicos de “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Miller): Avaliação do teor de compostos fenólicos e do potencial antioxidante. **Brazilian Journal of Health Review**, [S. l.], v.4, n.1, p.1748-1760, 2021.
55. PINTO, N.C.C. *et al.* Estudos pré-clínicos indicam que INFLATIV, um creme fitoterápico contendo *Pereskia aculeata*, apresenta potencial para ser comercializado como agente anti-inflamatório tópico e como adjuvante na terapia da psoríase. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 72, n. 12, p. 1933–1945, 2020.
56. PINTO, C.C.P. *et al.* Cytotoxic and antioxidant activity of *Pereskia aculeata* Miller. **Pharmacol Online**, Juiz de fora, v. 3, p.63-69, 2012.
57. POSTIGO, J.P. *et al.* Uma proposta para o ensino de laboratório de química analítica qualitativa. **Química Nova**, v. 44, n. 4, p. 503-11, 2021.
58. PUHL, J. *et al.* Secagem de vegetais: Liofilização. In: UFRGS- universidade federal do Rio Grande do Sul: Alimentus. S.D. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/alimentus1/objetos/veg_desidratados/secagem_liofiliza%C3%A7%C3%A3o.html>. Acesso em: 14 oct. 2022.
59. QUEIROZ, Carla Regina Amorim dos Anjos. Cultivo e composição química de Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) sob déficit hídrico intermitente no solo. 2012. xx, 144 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/100813>>.
60. ROCHA., D.R.C. *et al.* Macarrão adicionado de Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.19, n.4, p. 459-465, 2008.
61. RODRIGUES, A. S. Antioxidant and antimicrobial activity of ora-pro-nobis extracts (*Pereskia aculeata* Mill.) and application in mortadella. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.
62. RODRIGUES, P. **Sistema de produção facilita o cultivo de ora-pro-nóbis para agricultores familiares.** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/22218694/sistema-de-producao-facilita-o-cultivo-de-ora-pro-nobis-para-agricultores-familiares>>. Acesso em: 19 mai. 2022.

63. SÁENZ, C. *et al.* Opuntia spp. mucilage's: A functional component with industrial perspectives. **Journal of Arid Environments**, v. 57, n. 3, p. 275–290, 2004.
64. SANTOS, A. G. *et al.* Estudo do efeito antimicrobiano do extrato bruto das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. sobre patógenos bucais. *In: V Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica CESUMAR – Maringá - Paraná*, 2010. Disponível em: https://www.unicesumar.edu.br/mostra-2010/wp-content/uploads/sites/94/2016/07/ariane_giachini_santos_2.pdf.
65. SANTOS, A. G. *et al.* Avaliação das atividades antimicrobiana sobre patógenos bucais e hemolítica das folhas de *Pereskia aculeata*. *In: ENCONTRO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA CESUMAR*, 7., 2011, Maringá. **Anais [...]** Maringá: Editora CESUMAR, 2011.
66. SANTOS, I. C. *et al.* Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa. Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG. Circular Técnica, n.177, 2012.
67. SCHILLINGER, U. *et al.* Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environmental Microbiology*, v. 55, n. 8, p. 1901-1906, 1989.
68. SHARIF, K. M. *et al.* Pharmacological Relevance of Primitive Leafy Cactuses *Pereskia*. **Journal of Biotechnology**, v. 8, n.12, p. 134-142, 2013.
69. SILVA, A. A. S. *et al.* Pão de ora-pro-nóbis – Pão de ora-pro-nóbis – um novo conceito de alimentação funcional. **Agropecuária Catarinense** v. 23, n. 1, p. 35–37, 2010.
70. SILVA, A.P.G. *et al.* Ripe Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* miller) fruits express high contents of bioactive compounds and antioxidant capacity. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 40, n. 3. p. 749, 2018.
71. SILVA, L.W. **Potencial tecnológico da folha da *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nobis): Uma Revisão.** 2019. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Química e engenharia de Alimentos, Florianópolis, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/199740/TCC%20LARISSA%20WAINSTEIN.pdf?sequence=1&isAllowed=y%20Acesso%20em%20%2014/09/2021>>. Acesso em: 20 jan 2022.
72. SILVA, E. T. V. *et al.* Processo de secagem por liofilização do agrião: influencia do tipo de congelamento. *In: I CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA E ENSINO EM CIÊNCIAS (I CONAPESC)*, 2016, Campina Grande, **Anais [...]** Campina Grande:Realize Editora, 2016. p. 1-8. Disponível em: <https://www.editorarealize.com.br/artigo/visualizar/18175>>. Acesso em: 15/10/2022.
73. SOUSA, R. *et al.* Antioxidant activity of ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) leaves extracts using spectrophotometric and voltammetric assays in vitro. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 448-457, 2014.
74. SOUZA, L.F. *et al.* *Pereskia aculeata* Muller (Cactaceae) Leaves: Chemical Composition and Biological Activities. **International Journal of Molecular Science**, v.17, n. 9, p.1478. 2016 Disponível em:<<https://www.mdpi.com/1422-0067/17/9/1478/htm>>. Acesso em: 20 mai. 2022.
75. SOUZA, L.F. **Aspectos fitotécnicos, bromatológicos, e componentes bioativos de *Pereskia aculeata*, *Pereskia grandifolia* e *Anredera cordifolia*.** 2014. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Faculdade de Agronomia,

- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. Porto Alegre, 2014. (113 p.). Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/110057>>. Acesso em: 17 mai. 2022.
76. SUCUPIRA N.R. *et al.* Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**. Universidade Federal do Ceará, Departamento de Tecnologia de Alimentos, v.14, n.4, p.263-9, 2012.
77. TAKEITI, C.Y. *et al.* Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. 1, p. 148-60, 2009.
78. TAN, M.L. *et al.* Methanolic extract of *Pereskia bleo* (Kunth) DC. (Cactaceae) induces apoptosis in breast carcinoma, T47-D cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 96, n.1, p. 287-294, 2005.
79. TURRA, A. F. *et al.* Avaliação das propriedades antioxidantes e susceptibilidade antimicrobiana de *Pereskia grandifolia* Haworth (cactaceae). Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR, Umuarama, v. 11, n. 1, p. 9-14, 2007.
80. VICENTE, N. F. de P. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de *Pereskia Grandifolia* Haw.** 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Plantas medicinais, Aromáticas e Condimentares)--Universidade Federal de Lavras, Lavras, p.57, 2017.
81. ZEM, L. M. *et al.* Enraizamento de estacas semilenhosas de *Pereskia aculeata* nas quatro estações do ano em diferentes substratos. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, Porto Alegre, v.2, n.3, p.227–233, 2016.
82. ZIMMERMANN, C. L. Monocultura e transgenia: Impactos ambientais e insegurança alimentar. **Veredas do Direito**, Belo Horizonte, v. 6, n. 12, p. 79-100, 2009. Disponível em: <<http://revista.domhelder.edu.br/index.php/veredas/article/view/21>>. Acesso em: 20 jan 2022.

APÊNDICES

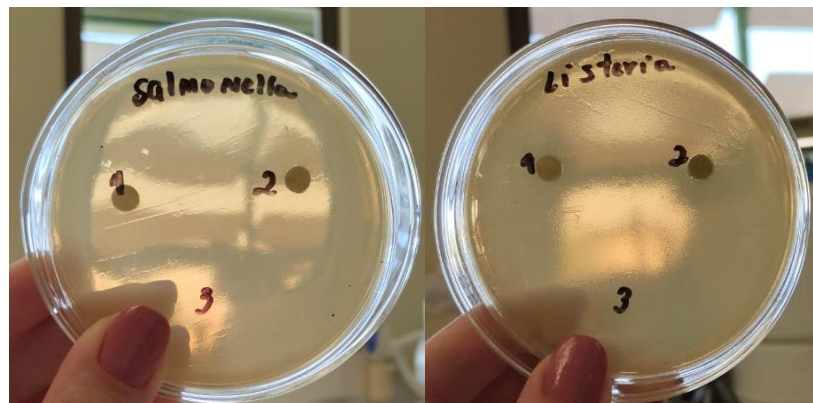
Apêndice A - Presença de halo dos extratos hidroalcoólicos da primeira etapa do Antibiograma.



A = solução hidroalcoólica (controle negativo), 3 = extrato hidroalcoólico filtrado e 5 = extrato hidroalcoólico centrifugado.

Fonte: Autora, 2022.

Apêndice B - Ausência de halo dos extratos hidroalcoólicos filtrados da segunda etapa do Antibiograma.



Fonte: Autora, 2022.

