



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
(UNEB)**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA APLICADA (PGQA)**



HESROM FERNANDES SERRA MOURA

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E
MULTIELEMENTAR, COMPOSTOS BIOATIVOS, CORRELAÇÃO
FILOGENÉTICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)**

**SALVADOR
2020**



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
(UNEB)**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
QUÍMICA APLICADA (PGQA)**



HESROM FERNANDES SERRA MOURA

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E
MULTIELEMENTAR, COMPOSTOS BIOATIVOS, CORRELAÇÃO
FILOGENÉTICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE
PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química Aplicada (PGQA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Aníbal de Freitas Santos Júnior

SALVADOR
2020

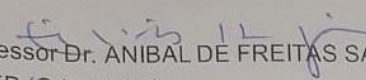
Folha de aprovação

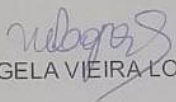
FOLHA DE APROVAÇÃO

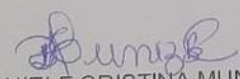
"AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CENTESIMAL/MULTIELEMENTAR, COMPOSTOS BIOATIVOS, CORRELAÇÃO FILOGENÉTICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS ALIMENTÍCIAS NÃO CONVENCIONAIS (PANC)"

HESROM FERNANDES SERRA MOURA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada – PGQA, em 17 de abril de 2020, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Aplicada pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:


Professor Dr. ANIBAL DE FREITAS SANTOS JUNIOR
UNEB (Orientador)
Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia


Professora Dra. MARIANGELA VIEIRA LOPES SILVA
UNEB (Membro Interno)
Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia


Professora Dra. DANIELE CRISTINA MUNIZ BATISTA DOS SANTOS
UFBA (Membro Externo)
Doutorado em Química
Universidade Federal da Bahia

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB
Dados fornecidos pelo autor

M929a

Moura, Hesrom Fernandes Serra

Avaliação da composição centesimal e multielementar, compostos bioativos, correlação filogenética e atividade antimicrobiana de plantas alimentícias não convencionais (PANC) / Hesrom Fernandes Serra Moura.-- Salvador, 2020.

110 fls : il.

Orientador(a): Aníbal de Freitas Santos Júnior.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada - PGQA, Câmpus I. 2020.

1.Plantas alimentícias não convencionais . 2.Análise da composição centesimal de alimentos. 3.Determinação de Compostos bioativos fenólicos CLAE. 4.Análise Multielementar. 5.Avaliação da atividade antimicrobiana.

CDD: 543

AGRADECIMENTOS

A Deus que tem me dado forças, capacidade física e intelectual para desenvolver as atividades e superar os desafios propostos pela adversidade da vida. Aos meus pais que tem me dado a oportunidade de estudar mesmo com todas as dificuldades. A Edimare Sales Dias por ter sido minha companheira de todos os momentos sendo eles de dificuldades, tristeza ou alegria.

O professor Aníbal (orientador), que tenho enorme gratidão e mil palavras para agradecer por ter me dado inspiração para crescer na vida acadêmica, pessoal e profissional. Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação de Química Aplicada (PGQA).

A professora Mariangela Vieira Lopes Silva, do Departamento de Ciências da Vida, da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), pelas análises dos alimentos e, a colega Fernanda de Souza Dias pelas orientações no procedimento.

A professora Maria das Graças Andrade Korn, do Instituto de Química, da Universidade Federal da Bahia (UFBA), pelas análises no Espectrômetro de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) e, o colega doutorando Wellington Correia pelas orientações no procedimento, bem como o colega Giovanne Brandão.

A professora Débora de Andrade Santana, do Departamento de Ciências Exatas e da Terra, da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), pelas análises cromatográficas, a colega Bárbara Elizabeth pelas orientações no procedimento.

A professora Lourdes Cardoso de Souza Neta, do Departamento de Ciências Exatas e da Terra, da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), pelas análises antimicrobianas.

Aos alunos de iniciação científica e pós-graduação do grupo de pesquisa “Biofarmácia e Medicamentos”, do Departamento de Ciências da Vida (DCV), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB): Laura, Fernanda, Anderson, Vanger pela ajuda em alguns procedimentos e principalmente pelas discussões acadêmicas.

Agradeço à Universidade do Estado da Bahia (UNEB) a infraestrutura no desenvolvimento deste trabalho.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPS) pela concessão da bolsa de estudos. A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado !!!!

RESUMO

As plantas alimentícias não convencionais (PANC) são consumidas em diversas partes do mundo, como alternativa e/ou complemento alimentar. Estudos visando a segurança alimentar, nutricional e biológica são relevantes para a manutenção da alimentação segura e potenciais aplicações, em diferentes setores da economia. Dentro dessa perspectiva, este estudo teve como objetivo avaliar a composição centesimal, multielementar (macro e microelementos), o perfil de compostos fenólicos, a correlação filogenética e a atividade antimicrobiana das PANC: Alfavaca fina (*O. basilicum*), Erva de jabuti (*P. pelucida*), Caruru (*A. viridis*), Língua de vaca (*T. paniculatum*), Taioba (*X. sagittifolium*), Coentrão (*E. foetidum*), Beldroega (*P. Oleracea*), Flor de Chanana (*T. ulmifolia*), Hortelã grosso (*P. amboinicus*) e Hortelã miúdo (*M. spicata*). Das metodologias propostas, na análise da composição centesimal foram obtidas as concentrações de umidade (84,85 a 95,16 %), cinzas (0,59 a 2,41 %), proteínas (0,04 a 0,99 %), lipídeos (0,54 a 3,08 %) e carboidratos (1,06 a 11,79 %). Na análise multielementar, através de digestão ácida em forno de micro-ondas e Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) para os macros e micronutrientes (Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P, Sn, Sr e Zn) as concentrações variaram de $0,30 \pm 0,01 \text{ mg Kg}^{-1}$ para o Zn nas folhas de Hortelã grosso (*P. amboinicus*) a $34504 \pm 185 \text{ mg Kg}^{-1}$ (3,45 %) para a Beldroega (*P. Oleracea* L.). Os elementos As, Cd, Co, Pd, Sb, Se e V mostraram-se abaixo dos limites de detecção (LOD). A precisão foi avaliada pelo desvio padrão relativo (RSD), sendo $< 2\%$ e coeficiente de determinação (R^2) de 0,9995-0,9999. Análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) foram aplicados para avaliar a similaridade das PANC. Os bioativos fenólicos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os teores de ácidos fenólicos: caféico, clorogênico, elágico, ferúlico, gálico, p-cumarico, seringa, transcinâmico e vanílico variaram de $1,09 \pm 0,17 \text{ mg Kg}^{-1}$ para o ácido siringico nas flores de Chanana (*T. ulmifolia*) a $2.147,48 \pm 11,09 \text{ mg Kg}^{-1}$ para o ácido clorogênico nas folhas de Coentrão (*E. foetidum*). A faixa de LOD e LOQ obtidos para ácidos fenólicos foi de 0,55–0,77 mg kg^{-1} e, para flavonoides, 0,82-0,442 mg kg^{-1} . O RSD inferiores a 0,3% e o coeficiente de correlação (R^2) $>0,9995$ foram obtidos. A correlação filogenética foi obtida por ferramentas bioinformáticas e mostrou a tendência de formação de três grupos, de acordo com os ancestrais comuns: Taioba (*X. sagittifolium*) e Erva de jabuti (*P. pelucida*) com ancestrais mais recentes e a Flor de Chanana (*T. ulmifolia*), com ancestral incomum ao grupo em estudo. Os testes antimicrobianos com os extratos etanólicos das plantas foram realizados contra as bactérias: *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e os fungos: *C. albicans* e *C. glabrata*. Os extratos ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) das folhas de Coentrão (*E. foetidum*), Beldroega (*Portulaca Oleracea* L.) e Língua de vaca (*T. paniculatum*) apresentaram atividade bactericida contra a *B. subtilis*. Contra o *S. aureus*, os extratos ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) das folhas de Beldroega (*P. Oleracea* L.), Hortelã grosso (*P. amboinicus*), Caruru (*A. viridis*) e flores de Chanana (*T. ulmifolia*) mostraram atividade antimicrobiana. Extratos ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) de folhas de Beldroega (*P. Oleracea* L.) e flores de Chanana (*T. ulmifolia*) apresentaram atividade antifúngica. Ainda, os extratos ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) de flores de Chanana (*T. ulmifolia*) demonstraram atividade bactericida contra *S. aureus*. A partir dos resultados obtidos, pode-se sugerir que as PANC estudadas são potenciais fontes nutricionais para a suplementação e segurança alimentar, além de alternativas naturais para o uso contra micro-organismos.

Palavras-chave: PANC, composição centesimal e multielementar, ICP OES substâncias fenólicas, CLAE, bioinformática, atividade biológica.

ABSTRACT

Non-conventional food plants (PANC) are consumed in different parts of the world, as an alternative and / or food supplement. Studies aimed at food, nutritional and biological security are relevant for maintaining safe food and potential applications, in different sectors of the economy. Within this perspective, this study aimed to evaluate the centesimal, multielementary composition (macro and microelements), the profile of phenolic compounds, the phylogenetic correlation and the antimicrobial activity of PANCs: Alfavaca Fine (*O. basilicum*), Turtle Herb (*P. pelucida*), Caruru (*A. viridis*), Cow tongue (*T. paniculatum*), Taioba (*X. sagittifolium*), Coentrão (*E. foetidum*), Purslane (*P. Oleracea*), Flor de Chanana (*T. ulmifolia*), coarse mint (*P. amboinicus*) and fine mint (*M. spicata*). From the proposed methodologies, in the analysis of the proximate composition the concentrations of humidity (84.85 to 95.16 %), ash (0.59 to 2.41 %), proteins (0.04 to 0.99%) were obtained, lipids (0.54 to 3.08 %) and carbohydrates (1.06 to 11.79 %). In multi-element analysis, through acid digestion in a microwave oven and Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES) for macros and micronutrients (Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P, Sn, Sr and Zn) concentrations ranged from $0.30 \pm 0.01 \text{ mg Kg}^{-1}$ for Zn in the leaves of thick mint (*P. amboinicus*) to $34504 \pm 185 \text{ mg Kg}^{-1}$ (3.45 %) for purslane (*P. Oleracea*). The elements As, Cd, Co, Pd, Sb, Se and V were below the limits of detection (LOD). Accuracy was assessed by the relative standard deviation (RSD), being <2% and a coefficient of determination (R^2) of 0.9995-0.9999. Principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) were applied to assess the similarity of PANC. Phenolic bioactive agents were quantified by high performance liquid chromatography (CLAE). The levels of phenolic acids: caffeic, chlorogenic, ellagic, ferulic, gallic, p-coumaric, syringic, transcinamic and vanillic varied from $1.09 \pm 0.17 \text{ mg Kg}^{-1}$ for syringic acid in Chanana flowers (*T. ulmifolia*) at $2,147.48 \pm 11.09 \text{ mg Kg}^{-1}$ for chlorogenic acid in Coentrão (*E. foetidum*) leaves. The range of LOD and LOQ obtained for phenolic acids was 0.55–0.77 mg kg^{-1} and, for flavonoids, 0.82-0.442 mg kg^{-1} . RSD less than 0.3% and the correlation coefficient (R^2)> 0.9999 were obtained. The phylogenetic correlation was obtained by bioinformatics tools and showed the tendency of three groups to form, according to common ancestors: Taioba (*X. sagittifolium*) and Tortoise herb (*P. pelucida*) with more recent ancestors and Flor de Chanana (*T. ulmifolia*), with an unusual ancestor to the study group. The antimicrobial tests with the ethanolic extracts of the plants were carried out against the bacteria: *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* and the fungi: *C. albicans* and *C. glabrata*. The extracts ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) of the leaves of Coentrão (*E. foetidum*), Purslane (*P. Oleracea*) and Tongue of cow (*T. paniculatum*) showed bactericidal activity against *B. subtilis*. Against *S. aureus*, extracts ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) from purslane leaves (*P. Oleracea*), coarse mint (*P. amboinicus*), Caruru (*A. viridis*) and Chanana flowers (*T. ulmifolia*) showed antimicrobial activity. Extracts ($250 \mu\text{g mL}^{-1}$) from purslane leaves (*P. Oleracea*) and Chanana flowers (*T. ulmifolia*) showed antifungal activity. In addition, the extracts ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$) of Chanana flowers (*T. ulmifolia*) demonstrate bactericidal activity against *S. aureus*. From the results obtained, it can be suggested that the PANC studied are potential nutritional sources for supplementation and food safety, in addition to natural alternatives for use against microorganisms.

Keywords: PANC, centesimal and multi-element composition, ICP OES phenolic substances, CLAE, bioinformatics, biological activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição mineral em PANC.	66
Figura 2 Dendograma das amostras de PANC.....	67
Figura 3 Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição biofenólicos em PANC.	73
Figura 4 Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição biofenólicos em PANC.	74
Figura 5 Árvores filogenética das PANC. (A) fenograma e (B) estrela. Erva de jabuti, <i>P. pellucida</i> (MF287510.1); Taioba, <i>X. sagittifolium</i> (EU886500.1); Língua de vaca, <i>T. paniculatum</i> (JF508755.1); Beldroega, <i>P. oleracea</i> (MK397889.1); Coentrão, <i>E. foetidum</i> L. (EU070438.1); Afavaca fina, <i>O. basilicum</i> (JF289049.1); Caruru, <i>A. viridis</i> (KT833346.1); Hortelã grosso, <i>P. amboinicus</i> (KC347565.1); Hortelã miúdo, <i>M. spicata</i> (MG256495.1) e Flor de Chanana, <i>T. ulmifolia</i> (JX662690.1).....	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição Centesimal (umidade, em %; resíduo mineral fixo, extrato etéreo, extrato nitrogenado e não nitrogenado, em g) e multiementar (mg kg ⁻¹) de PANC encontradas na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA, 2019).	19
Tabela 2 Condições de operação do sistema de digestão por micro-ondas.....	47
Tabela 3 Composição centesimal das amostras de PANC analisadas (g 100 g ⁻¹); valores médios (\pm RSD) de triplicata (n=3).	54
Tabela 4 Resultados de composição mineral (mg Kg ⁻¹ e K %) obtidos nas amostras de PANC analisadas por ICP OES após procedimento de digestão ácida assistida por micro-ondas.	58
Tabela 5 Comparativo entre os dados encontrados com a tabela IRD de composição mineral (unidade) da Anvisa (BRASIL, 2010), obtidos nas amostras de PANC (Lingua de vaca, Hortelã Grosso, Alfavaca fina, Taioba, Caruru) analisadas por ICP OES após procedimento de di digestão ácida assistida por micro-ondas.....	59
Tabela 6 Análise de folhas de espinafre (material de referência certificado CRM 1570a) pelo ICP OES (média \pm desvio padrão, n = 3, nível de confiança de 95%).	63
Tabela 7 Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para macro e microelementos determinados pelo ICP OES. Equação e coeficiente de determinação.	64
Tabela 8 Comparação entre a composição centesimal (umidade, em %; resíduo mineral fixo, extrato etéreo, extrato nitrogenado e não nitrogenado, em g) e multielementar (mg kg ⁻¹) em PANC (taioba, língua de vaca, hortelã grosso, alfavaca fina e caruru) e e alimento convencional (alface), conforme dados extraídos da TBCA, (2019).	64
Tabela 9 Valores dos pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais.	65
Tabela 10 Equação da reta, coeficientes de determinação, limites de detecção e quantificação para os compostos biofenólicos, em mg kg ⁻¹ , por CLAE.	68
Tabela 11 Comprimento de onda (nm) e tempos de retenção (min) dos biofenólicos.	69
Tabela 12 Concentrações de Biofenólicos em (mg Kg ⁻¹) determinados e quantificado em PANC por CLAE (média \pm SD, n = 3).	71
Tabela 13 Avaliação (MIC), resultados obtidos para as PANC estudadas, a partir dos seus extratos etanólicos.	77
Tabela 14 Avaliação (CBM), resultados obtidos para as PANC estudadas, a partir dos seus extratos etanólicos.	78

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BEC - Concentração equivalente a radiação de fundo (do inglês *Concentration equivalent to background radiation*).

Brasilfoods - Rede Brasileira de Dados de Composição de Alimentos.

CBM - Concentração bactericida mínima (do inglês *Minimal bactericidal concentration*).

CLSI - Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (do inglês *Clinical and Laboratory Standards Institute*).

CRM - Material de referência certificado (do inglês *Certified reference material*).

DCV - Departamento de Ciências da Vida.

EE: Extrato Etéreo.

EN: Extrato nitrogenado.

ENN: Extrato não nitrogenado.

FAAS - Espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (do inglês *flame atomic absorption spectrometry*).

FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

FoRC - Centro de Pesquisa de Alimentos (do inglês *Food Research Center*).

GF AAS - Espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (do inglês *Atomic absorption spectrometry with atomization in a graphite furnace*).

HCA - Análise de agrupamentos hierárquicos (do inglês *Analysis of hierarchical groupings*).

HG AAS - Espectrometria de absorção atômica com atomização geração de hidretos (do inglês *Atomic absorption spectrometry with atomization hydrides generation*).

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*).

ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (do inglês *Inductive Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*).

ICP-MS - Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês *Mass spectrometry with inductively coupled plasma*).

IRD – Recomendação de ingestão diária (do inglês *Daily intake recommendation*).

LOD - Limites de detecção (do inglês *Detection limits*).

LOQ – Limite de quantificação (do inglês *Quantification limit*).

MDC - Microdiluição em Caldo (do inglês *Broth Microdilution*).

MIC - Concentração inibitória mínima (do inglês *Minimum inhibitory concentration*).

NI - Não informado.

NIST 1570a - folhas de espinafre (do inglês *National Institute of Standards and Technology spinach leaves*).

PANC - plantas alimentícias não convencionais.

PCA - Análise de componentes principais (do inglês *Principal component analysis*).

PTFE - Politetrafluoretileno (do inglês *Polytetrafluoroethylene*).

R² - coeficiente de determinação.

RSD - Desvio padrão relativo (do inglês *Relative standard deviation*).

SBR - Razão sinal ruído (do inglês *Signal to noise ratio*).

TBCA - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos.

UNEB - Universidade Estadual da Bahia.

USP - Universidade de São Paulo.

UV – Ultravioleta.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.1. OBJETIVO GERAL	17
2.2. Objetivos específicos	17
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
3.1 Uso de Plantas na Alimentação	18
3.1.1. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC)	20
3.2. Análise da composição centesimal de alimentos	23
3.2.1. Componentes estudados na análise da composição centesimal de alimentos	23
3.2.1.1. Umidade	23
3.2.1.2. Extrato etéreo (lipídios)	25
3.2.1.3. Resíduos nitrogenados (proteínas)	25
3.2.1.4. Extrato não nitrogenado (carboidratos)	26
3.3. Componentes inorgânicos em plantas e análise multielementar	27
3.3.1. Pré-tratamento de amostras e análise multielementar.	29
3.4. Compostos bioativos fenólicos: aspectos químicos, biológicos e análises cromatográficas	31
3.4.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	35
3.5. Análise exploratória de dados	36
3.6. Perfil filogenético	37
3.7. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais	38
3.7.1. Bioensaios	41
4. MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1. Caracterização das plantas	43
4.2. Preparo do material vegetal	43
4.3. Procedimentos para Análise centesimal das PANC	43
4.3.1. Umidade	43

4.3.2. Resíduo mineral fixo (cinzas)	44
4.3.3. Extrato etéreo (lipídios)	44
4.3.4 Resíduos nitrogenados (proteínas)	44
4.3.5. Extrato não nitrogenado (carboidratos)	45
4.4. Análise multielementar e parâmetros de validação analítica	45
4.4.1. Determinação da acidez e carbono orgânico dissolvido digeridos	47
4.4.2. Parâmetros de validação	48
4.4.2.1. Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)	48
4.4.2.2. Precisão e exatidão	49
4.5. Determinação de Compostos bioativos fenólicos e parâmetros de validação analítica	49
4.6. Perfil filogenético	50
4.7. Obtenção dos extratos para atividade biológica e bioensaios	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
5.1. Análise da Composição centesimal	53
5.2. Análise Multielementar	57
5.2.1. Análise multivariada dos dados	65
5.3. Determinação de Compostos bioativos fenólicos por CLAE	67
5.4. Perfil filogenético	74
5.5. Avaliação da atividade antimicrobiana	75
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
APÊNDICE I.	81
APÊNDICE II.	85
REFERÊNCIAS	91

1. INTRODUÇÃO

O consumo de plantas, na dieta alimentar, ocorre desde os tempos remotos, pois oferecem benefícios à saúde, por serem fontes de nutrientes, com capacidade de auxiliar no processo de nutrição do indivíduo. Dessa forma, as plantas contribuem significativamente para a nutrição humana. Estudos indicam que as plantas são, comumente, usadas como fonte de suplementação alimentar, sendo usadas na culinária popular no preparo de alimentos como temperos em cozimentos e pratos típicos, conferindo melhor paladar e nutrientes importantes para a vida (KIBAR *et al.*, 2014). As plantas produzem metabólitos secundários que desempenham diversas funções, mesmo após serem consumidas pelo homem e animais, sendo úteis para estudos com fins terapêuticos e tratamentos (KALPANA *et al.*, 2008).

Usadas para alimentação, essas plantas, também, podem ser conhecidas como plantas alimentícias não convencionais (PANC). São agricultáveis e consumidas tanto nas áreas rurais, quanto nas áreas urbanas, em diversos países do mundo. As PANCs são alternativas alimentares, pois são de fácil acesso e baixo custo, apresentando-se como fontes nutricionais, garantindo a segurança alimentar e valorizando a biodiversidade de regiões e a cultura de comunidades locais (BHARATHI *et al.*, 2018).

Essas plantas, quando utilizadas para a alimentação humana ou animal, são processadas por métodos tradicionais ou inovadores; não tem valor de mercado e são comercializadas em pequena escala. Geralmente, são disponíveis localmente e, seu consumo é baseado no conhecimento ecológico tradicional, fornecendo benefícios para a população em condições de vulnerabilidade, que são afetadas por eventos climáticos. Logo, essas plantas podem ser consumidas na dieta alimentar, sem a necessidade de preparo industrial e são de fácil domesticação.

Durantes muitos anos, a qualidade alimentar e os efeitos na saúde tem sido a causa fundamental do desenvolvimento de pesquisas sobre as propriedades funcionais das plantas, em busca de compostos com atividades nutri-farmacêuticas resultando na produção de alimentos industrializados, sendo então adicionados no mercado a partir da extração de seus metabólitos secundários (GONZALEZ-MOLINA *et al.*, 2008).

O aumento do número populacional e o esgotamento rápido dos recursos naturais tornaram-se parâmetros importantes para a diversificação da produção agrícola atual, a fim de atender às diversas necessidades humanas e sustento da vida, principalmente para os moradores da zona rural (CHEN; QIU, 2011). As PANC tradicionalmente, não são apenas comestíveis, mas também possuem propriedades medicinais potenciais, tais como

antimicrobiana, antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, dentre outras (DEBNATH *et al.*, 2015; CHU *et al.*, 2014).

Nos últimos anos, é crescente o interesse por PANC em todo o mundo, pois essas plantas são fontes de proteínas, minerais, vitaminas, fibras alimentares, carboidratos, ácidos graxos essenciais, compostos fenólicos e metabólitos secundários de interesse para as indústrias alimentícia, química e farmacêutica (ABEROUMAND; DEOKULE, 2009; IMRAN *et al.*, 2007; KHAN *et al.*, 2016). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), cerca de um bilhão de pessoas, particularmente nos países em desenvolvimento, dependem de plantas comestíveis para suas dietas (BHARUCHA; PRETTY, 2010). Estudos realizados em PANC revelaram que a composição nutricional dessas plantas pode ser comparável ou mesmo às vezes superior aos vegetais cultivados tradicionalmente para a alimentação (KIBAR; TEMEL, 2016).

Dentre os benefícios que as PANC apresentam para a saúde humana, destacam-se a suplementação nutricional e as potenciais atividades biológicas de seus constituintes. A determinação dos perfis: **nutricional** (proteínas, carboidratos, lipídeos, etc.); **multielementar** (elementos essenciais e potencialmente tóxicos); de compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) e outros **metabólitos secundários** de PANC, se faz relevante para avaliação do potencial nutricional, químico e farmacêutico (KALITA *et al.*, 2014). Ademais, a prospecção da atividade biológica, como por exemplo, a avaliação da ação antimicrobiana, é fundamental para busca de novos fármacos (TEBKEW *et al.*, 2014). Atualmente, a caracterização química de plantas vem sendo difundida em pesquisas, empregando técnicas analíticas sensíveis, robustas e com capacidade multianálise, como por exemplo, a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES) e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), (HUANG *et al.*, 2017; HARDAWAY *et al.*, 2016).

Além disso, com o advento da bioinformática, estudos empregando ferramentas computacionais, permitem o conhecimento taxonômico das plantas, podendo demonstrar a familiaridade genética das espécies em estudo, contribuindo para: análise da variação e expressão gênica, análise e previsão da estrutura e função dos genes e proteínas, previsão e detecção de redes de regulação gênica, simulação ambientes para modelagem de células inteiras, modelagem complexa da dinâmica e redes de regulação de genes e apresentação e análise de vias moleculares para entender as interações gene-doença (HUANG *et al.*, 2017).

Diante do exposto, estudos com PANCs são oportunos e necessários, pois, além de valorizar a cultura tradicional de comunidades locais, podem contribuir para a

suplementação alimentar e estudos químicos, farmacêuticos e medicinais. No presente trabalho foram avaliadas a composição centesimal e multielementar, o perfil de compostos fenólicos, o perfil filogenético, bem como a atividade antimicrobiana de PANC, utilizadas em Salvador/Bahia e região metropolitana.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a composição centesimal, multielementar (macro e microelementos), o perfil de compostos fenólicos e a atividade antimicrobiana de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC): Alfavaca fina (*Ocimum basilicum* L.), Erva de jabuti (*Peperomia pellucida*), Caruru (*Amaranthus viridis*), Língua de vaca (*Talinum paniculatum*), Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*), Coentrão (*Eryngium foetidum* L.), Beldroega (*Portulaca Oleracea* L.), Flor de Chanana (*Turnera ulmifolia*), Hortelã grosso (*Plectranthus amboinicus*) e Hortelã miúdo (*Mentha spicata*).

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas, lipídeos e carboidratos) de algumas PANC, relacionando-a com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA);
- Estimar a composição multielementar (macro e microelementos) de PANC por Espectrometria de Emissão Óptica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES), empregando análises exploratórias de dados e relacionando-a com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA);
- Mensurar os biofenólicos presentes em PANC empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), com auxílio de análises exploratórias de dados.
- Identificar o perfil filogenético das PANC, empregando as ferramentas da bioinformática.
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos das PANC.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Uso de Plantas na Alimentação

As plantas têm sido o alimento do homem desde os tempos remotos, devido ao baixo custo e seu valor nutritivo, contendo elevados níveis de vitaminas, minerais, fibras e, ainda variados teores de carboidratos, gorduras e proteínas (SCHERER *et al.*, 2016). Os alimentos à base de plantas são, geralmente, classificados em frutas, vegetais, legumes, grãos, nozes e sementes e, quando processados podem produzir pães, massas, cereais, sucos e geleias, óleos, açúcares e algumas especiarias (MCCLELLAND *et al.*, 2018).

As plantas subutilizadas contribuem imensamente para a segurança alimentar da família e servem como meio de sobrevivência durante períodos de seca, fome, choques e riscos. Elas também, podem complementar os requisitos nutricionais devido ao seu valor nutricional (MORAN *et al.*, 2017). Os bancos de dados de composição de alimentos devem conter a composição de nutrientes, energia e/ou outros componentes bioativos de alimentos amplamente consumidos por uma população. Esses dados devem ser usados para uma série de intervenções, incluindo: a avaliação da ingestão alimentar de indivíduos ou grupos; formulação de dietas no nível individual e/ou populacional; nas criações de políticas agroalimentares em relação à saúde pública e informações educacionais (SCHERER *et al.*, 2016).

Atualmente, no Brasil, tem-se Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA), desenvolvida de forma integrada entre a Rede Brasileira de Dados de Composição de Alimentos (Brasilfoods), a Universidade de São Paulo (USP) e o *Food Research Center* (FoRC/CEPID/FAPESP), que contém banco de dados dos alimentos estudados no país, cuja atualização deve incluir uma grande quantidade de alimentos, refletindo os principais alimentos e hábitos alimentares consumidos nacionalmente da população. Embora sejam, amplamente, estudadas no mundo, inclusive no Brasil, de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA), ainda há reduzido números dessas plantas caracterizadas não convencionais (TBCA, 2019). Entretanto, dentre as plantas catalogadas nesse banco de dados, só constam na TBCA (2019), dados referentes às PANC: língua de vaca (*T. paniculatum*), alfavaca fina (*O. basilicum*), caruru (*A. viridis*) e taioba (*X. sagittifolium*) conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 Composição Centesimal (umidade, em %; resíduo mineral fixo, extrato etéreo, extrato nitrogenado e não nitrogenado, em g) e multiementar (mg kg⁻¹) de PANC encontradas na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA, 2019).

Composição	Taioba	Língua de vaca	Hortelã Grosso	Alfavaca	Caruru
Umidade	83,0	95,4	85,6	90,2	87,6
Resíduo mineral fixo	1,03	1,20	2,03	1,42	2,62
Extrato etéreo	1,34	0,29	0,73	0,48	0,58
Extrato nitrogenado	3,65	1,62	3,29	2,66	3,20
Extrato não nitrogenado	7,69	1,48	8,40	5,24	5,97
Alumínio	NI	NI	NI	NI	NI
Cálcio	1300	6130	2000	2580	4550
Cobre	0,20	7,4	109	15	3,7
Ferro	24,3	249	119	126	446
Potássio	3700	3970	4580	2600	2780
Magnésio	377	9150	630	842	1970
Manganês	NI	NI	NI	NI	NI
Sódio	14,8	249	300	455	137
Fósforo	673	2220	600	497	773
Silício	NI	7,4	NI	NI	NI
Estrôncio	NI	NI	NI	NI	NI
Zinco	8,1	44,2	NI	7,1	60,3

NI: Não informado

3.1. Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC)

As plantas alimentícias não convencionais (PANC) são aquelas disponíveis em seu habitat natural, não sendo cultivadas e são consumidas como alimento. São consideradas fonte de nutrientes essenciais, carboidratos, gorduras e proteínas brutas para a dieta humana e são a boa fonte de energia (ABEER *et al.*, 2014). O consumo das PANC oferece vantagens à saúde, pois são fontes de nutrientes, minerais e compostos bioativos responsáveis pela redução do risco de algumas doenças, como a diabetes e a osteoporose. Esses benefícios para a saúde são atribuídos à capacidade nutricional, bioquímica e metabólica, derivadas de substâncias químicas presentes, como por exemplo, os compostos fenólicos com atividade antioxidante (SALTA *et al.*, 2010). Esse consumo faz parte de muitas sociedades e está, intimamente, relacionado a vários aspectos da vida cotidiana, tornando-se de grande importância, em diferentes locais e épocas da história humana, devido à sua capacidade de fornecer nutrientes durante os períodos de escassez de alimentos (TORIJA-ISASA; MATELLANA-GONZÁLEZ, 2016).

A popularização das PANC ocorreu devido à necessidade de nutrição em regiões com carência de alimentos, onde estas plantas têm desempenhado um papel importante na complementação de alimentos agrícolas básicos e no alívio da pobreza, com efeitos percebidos de promoção da saúde e tendências culturais (SŌUKAND, 2016). A ingestão de PANC atraiu, recentemente, a atenção de muitos consumidores que tentam encontrar níveis mais elevados de compostos bioativos em tais espécies, devido às suas características organolépticas ou propriedades terapêuticas e medicinais (AHMAD *et al.*, 2019).

Atualmente, o interesse nos estudos em PANC e o conhecimento do papel saudável dos compostos fitoquímicos permitiu defini-los como “novos alimentos funcionais”. Por outro lado, a intensa preocupação com a segurança, o rendimento e os perfis fitoquímicos dessas espécies tornam as pesquisas de importância crucial para estabelecer valores nutricionais e tóxicos, como também, de maior rentabilidade (MIRA *et al.*, 2018). Algumas PANC foram descritas como alimentos funcionais, porque contêm ingredientes fisiologicamente ativos capazes de fornecer benefícios à saúde, além da nutrição básica, enquanto outras podem conter compostos potencialmente tóxicos para os seres humanos (PINELA *et al.*, 2016).

Nos países em desenvolvimento, como o Brasil, muitas PANC são usadas como alternativa alimentar e fonte de nutrientes, porque o rendimento das culturas domésticas

não é suficiente. Entretanto, na maioria dos países industrializados, onde o suprimento não é um problema, as PANC são usadas para diversificar uma dieta monótona. Hoje, o conceito de alimentos, nos países desenvolvidos, é profundamente modificado e, os consumidores não estão mais interessados somente no fornecimento de nutrientes básicos, exigem, também, a contribuição de compostos nutraceuticos (DÜRR *et al.*, 2015). Sánchez-Mata *et al.* (2012), revelaram o importante papel das PANC como fontes de nutrientes e contribuintes para as necessidades alimentares humanas. Informações das espécies de PANC estudadas neste trabalho estão listadas a seguir. O Apêndice I, apresenta a identificação botânica, realizada através da comparação com a caracterização descrita em revisões taxonômicas e literatura botânica.

A Alfavaca fina (*Ocimum Basilicum* L.) pertence à família Lamiaceae, é uma erva aromática com amplo nível de aplicações biológicas e farmacológicas, considerada uma das principais culturas de óleos essenciais utilizada nas indústrias farmacêutica e cosmética (SUH *et al.*, 2015). Umar *et al.* (2014) destacam que seu consumo está associado à prevenção de doenças cardiovasculares e gastrintestinais, além de propriedades antienvhecimento, anticâncer, antiviral, antifúngica e antimicrobiana.

A Erva de jabuti (*Peperomia pellucida*) é uma herbácea com folhas suculentas, desenvolvendo-se bem em solo solto e úmido nas sombras das árvores. É consumida para o tratamento de hipertensão e diabetes (EGWUCHE *et al.*, 2011). Na medicina popular brasileira é usada para tratar abscessos, furúnculos, feridas na pele e inflamação ocular (ZUBAIR *et al.*, 2015). No Nordeste do Brasil, também é utilizada para baixar os níveis de colesterol, como supressor da tosse, emoliente e diurético (SUSSA *et al.*, 2013).

A Beldroega (*Portulaca oleracea* L.) é uma daninha espalhada nos campos que tem sido usada como vegetal nutritivo, com sabor levemente ácido e salgado (WANG *et al.*, 2017). Na medicina popular, tem sido usado para disenteria, furúnculos e feridas, eczema, erisipela, tosse e picada de cobra e de inseto, diurético, febrífugo, antisséptico, antiespasmódico e vermífugo (VASQUEZ *et al.*, 2016). Além disso, muitos efeitos farmacológicos de *P. oleracea* L. foram documentados como efeito protetor anti-oxidação, antibactérias, antivírus, antiulcerogênico, anti-inflamatório e cicatrizante (EL-ZHAO *et al.*, 2015).

O Caruru (*Amaranthus viridis*) possui propriedades analgésicas e antipiréticas, sendo usada para o tratamento da dor e da febre, respectivamente, nos sistemas tradicionais de medicina (SARKER *et al.*, 2018). Presente em campos de produção em todo o Brasil, é considerada a erva daninha mais abundantes das regiões Sul e Centro-Oeste do Brasil (FRANCISCHINI, 2014). As folhas são usadas, tradicionalmente, como

agente antidiabético, antirreumático, laxante, diurético, analgésico e anti-inflamatório usado no tratamento da asma, disfunções oculares e respiratórias (BENMEHDI *et al.*, 2012).

A flor de Chanana (*Turnera ulmifolia* L.) é uma espécie distribuída em diferentes regiões do Brasil, cujas atividades anti-inflamatórias e antiulcerogênicas foram demonstradas por Antônio e Brito (1998). Nascimento *et al.* (2006), estudaram apenas a sua atividade antioxidante *in vitro*, correlacionando-a com a presença de polifenóis.

O Coentrão (*Eryngium foetidum* L.) é usado como remédio e alimento; é uma erva tropical bienal com odor pungente, que cresce melhor em condições úmidas. Possui ampla variedade de usos etnomédicos, incluindo tratamento para queimaduras, dor de ouvido, febre, hipertensão, constipação, convulsões, asma, dor de estômago, vermes, complicações de infertilidade, picadas de cobra, diarreia e malária (MERGHACHE *et al.*, 2014; TAVARES *et al.*, 2013).

O Hortelã grosso (*Plectranthus amboinicus*) tem sido usado como um medicamento “fitoterápico” tradicional e, suas folhas são, também, empregadas para aromatizar pratos de carne, devido ao seu sabor distinto e cheiro refrescante. A *P. amboinicus* é utilizado há décadas para tratar doenças relacionadas à inflamação, particularmente para problemas de pele, infecciosos, digestivos e respiratórios (ERNY *et al.*, 2014).

O Hortelã miúdo (*Mentha spicata* L) é uma PANC de grande interesse no cultivo, devido à importância comercial de seu óleo essencial e, além disso, pode ser usada em alimentos, perfumaria, confeitaria, goma de mascar, pasta de dente, indústria farmacêutica (PEREIRA *et al.*, 2013). As folhas de *Mentha spicata* L, devido ao seu forte aroma, tem sido usada para aromatizar e temperar alimentos. É refrescante, estimulante, diaforético, antisséptico, estomacal e antiespasmódico (SNOUSSI *et al.*, 2015). Também, tem sido utilizado no tratamento de algumas doenças, como resfriado, febre, gripe, enjoo, intoxicação alimentar, má digestão, reumatismo, soluços, picadas, dores de ouvido, flatulência e sinusite (SCHERER *et al.*, 2013).

A Língua de vaca (*Talinum paniculatum*) é amplamente utilizada na medicina tradicional e como fonte de alimento. É uma espécie de arbusto, largamente, distribuída em todo o território brasileiro (MARTÍNEZ *et al.*, 2014). As folhas de *T. paniculatum* são, amplamente, utilizadas no tratamento de diferentes distúrbios cardiovasculares (COELHO *et al.*, 2018). Além disso, a espécie é usada na medicina popular como afrodisíaco, tônico reprodutivo, para tratar problemas gastrointestinais, infecções de pele

e cicatrização de feridas (DOS REIS *et al.*, 2015). Ainda, Saina e colaboradores (2018) demonstraram seu uso como suplemento dietético, para prevenção do diabetes.

A Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) está entre as seis culturas de raízes e tubérculos mais importantes do mundo, fornecendo sustento para mais de 400 milhões de pessoas (FAO, 2012). Apesar de seus elevados níveis de produtividade, a *X. sagittifolium* é marginalizada em políticas agrícolas e nas intervenções de pesquisa em culturas, continuando como um recurso alimentar subexplorado (FALADE e OKAFOR, 2014). De acordo com Kirtikar e Basu (2011), na Nigéria, a Taioba é utilizada como espessante em sopas na forma de farinha, para diferentes fins medicinais no tratamento de diabetes mellitus, micoses e tosse. Entretanto, não foram encontrados estudos que relataram o uso medicinal dessa planta em outros países.

3.2. Análise da composição centesimal de alimentos

Os estudos de composição de alimentos são importantes para identificar os nutrientes que compõe cada alimento. Esses estudos, também, podem indicar indiretamente a influência dos constituintes químicos na saúde humana, além de destacar a qualidade e segurança dos alimentos (LUTZ, 2008). Os alimentos, sendo materiais biológicos, exibem variações na composição e, portanto, seus constituintes podem apresentar variações. Além disso, a composição de um determinado alimento pode variar devido aos fatores climáticos, solo e manejo de cultivo (HOLMES *et al.*, 2012).

A composição de um alimento determina amplamente sua segurança, nutrição, propriedades físico-químicas, atributos de qualidade e características sensoriais. A maioria dos alimentos possui composição complexa, com uma variedade de constituintes químicos (PINELA *et al.*, 2016). Os valores nutricionais de um alimento, não fazem sentido sem dados analíticos sobre as quantidades dos nutrientes presentes. É conveniente agrupar os macronutrientes e os micronutrientes, que são de grande importância para a saúde (VINCETI *et al.*, 2013).

Muitas espécies vegetais negligenciadas e subutilizadas desempenham um papel fundamental em manter viva a diversidade cultural associada a hábitos alimentares, práticas de saúde, rituais religiosos e trocas sociais (WINTER *et al.*, 2018).

3.2.1. Componentes estudados na análise da composição centesimal de alimentos

3.2.1.1. Umidade

A maioria dos alimentos frescos é perecível devido ao seu alto teor de umidade, devido a presença de água livre e água encadeada. A água livre é o solvente para reações

químicas e crescimento microbiano, enquanto a água encadeada constitui a estrutura das células e organismos das matérias-primas (JIN *et al.*, 2013). O teor de umidade define a quantidade de água nos alimentos e ingredientes. A atividade da água, definida como relação entre a pressão d'vapor presente em alimento e a pressão d'vapor pura à mesma temperatura, indica que esta pode reagir com micro-organismos e promover reações químicas (MARCHIORE *et al.*, 2017).

A deterioração dos alimentos depende de fatores intrínsecos e extrínsecos, entre os quais a atividade da água e a temperatura desempenham um papel significativo (DAGNAS *et al.*, 2017). O crescimento microbiano e a catálise enzimática são dois mecanismos cruciais pelos quais os itens alimentares são estragados e, ambos dependem da disponibilidade de água (MANEFFA *et al.*, 2017).

Os alimentos secos podem ser armazenados por um longo período, mas suas características nutricionais e sensoriais podem ser perdidas, juntamente, com a remoção de água durante os processos de desidratação convencionais e industriais (CHEN *et al.*, 1996). O uso inadequado dos métodos de preservação após a desidratação pode criar riscos à segurança alimentar, deterioração da qualidade e vida útil curta do produto (CHEN *et al.*, 1996).

3.3.1.2. Resíduo mineral fixo (cinzas)

O resíduo mineral fixo, é o resíduo inorgânico que permanece após a remoção da água e da matéria orgânica por aquecimento, fornecendo uma medida da quantidade total de minerais em um alimento. As técnicas analíticas para fornecer informações sobre o conteúdo mineral total são baseadas no fato de que os minerais podem ser distinguidos de todos os outros componentes dentro de um alimento e, no fato de que os minerais não são destruídos pelo aquecimento, além de apresentarem baixa volatilidade, em comparação com outros componentes alimentares (JIANG *et al.*, 2016; BRUMANO *et al.*, 2006).

A determinação de cinzas é o ponto de partida para as análises de minerais específicos, sendo utilizada para fins nutricionais ou para a segurança na saúde. Os teores de cinzas são obtidos através do processo de incineração, ou seja, da queima da matéria orgânica de uma amostra. Os minerais são importantes para a saúde e garantem o equilíbrio bioquímico e metabólico. (MISTURA *et al.*, 2016; SUGIURA, 2000).

3.2.1.2. Extrato etéreo (lipídios)

Os lipídios são compostos de átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e, em alguns casos, contêm fósforo, nitrogênio, enxofre e outros elementos, solúveis em solventes apolares orgânicos. Nesse contexto, gorduras e óleos são os principais expoentes de lipídios presentes nos alimentos e nos processos nutricionais (KIM *et al.*, 2006). A importância estrutural, metabólica e nutricional dos lipídios no corpo é sustentada por inúmeras investigações em diferentes modelos biológicos (celulares, animais e humanos). Os lipídios têm sido fundamentais na evolução das espécies, tendo papel importante no crescimento, desenvolvimento e manutenção dos tecidos (RYE *et al.*, 2014; ANDO *et al.*, 2009).

Os ácidos graxos são, entre os lipídios, de importância crucial na estrutura e fisiologia do corpo, pois é integrante dos fosfolipídios nas membranas celulares; são fonte primária de energia; constitui o esqueleto para a síntese de hormônios esteroides (andrógenos e estrógenos); participa da síntese dos sais biliares e da composição da secreção biliar; são necessários para a síntese de eicosanoides e docosanoides, como leucotrienos, prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina e, ainda, podem atuar como segundos mensageiros e reguladores da expressão gênica (HU *et al.*, 2018; ANDO *et al.*, 2009).

Os lipídios desempenham um papel fundamental no crescimento e desenvolvimento do organismo, onde os requisitos dessas moléculas (principalmente ácidos graxos) mudam dependendo da idade e do estado fisiológico dos indivíduos (QUI *et al.*, 2001). Como componentes alimentares, os lipídios são importantes devido ao fornecimento de substâncias organolépticas (palatabilidade, sabor, aroma e textura); são veículos para vitaminas, pigmentos ou corantes e antioxidantes solúveis em gordura, e; pode atuar como agentes emulsificantes ou promover a estabilidade de suspensões e emulsões (HU *et al.*, 2018).

3.2.1.3. Resíduos nitrogenados (proteínas)

As proteínas representam cerca de 50% do peso seco da maioria das células e, são as mais complexas das macromoléculas, sendo formadas por 20 monômeros de aminoácidos. São versáteis nos sistemas vivos e cumprem funções relevantes, em todos os processos biológicos. Funcionam como catalisadores; transportam e armazenam outras moléculas como o oxigênio; fornecem suporte mecânico e proteção imunológica; geram movimento; transmitem impulsos nervosos e controlam o crescimento e a diferenciação (RIBEIRO *et al.*, 2018; D'LUGOS *et al.*, 2016).

A função de uma proteína depende, diretamente, de sua estrutura tridimensional. As proteínas dobram-se, espontaneamente, em estruturas tridimensionais que são determinadas pela sequência de aminoácidos no polímero da proteína. Contêm uma ampla gama de grupos funcionais e, dentre estes, destacam-se: álcoois, tióis, tioéteres, ácidos carboxílicos, carboxamidas e uma variedade de grupos básicos (GORISSEN *et al.*, 2018).

As proteínas podem interagir entre si e com outras macromoléculas biológicas, para formar conjuntos complexos, podendo agir sinergicamente. Algumas proteínas são bastante rígidas, enquanto outras apresentam flexibilidade limitada. As unidades rígidas podem funcionar como elementos estruturais no citoesqueleto ou no tecido conjuntivo (CHANG *et al.*, 2018).

3.2.1.4. Extrato não nitrogenado (carboidratos)

Os carboidratos são as biomoléculas mais abundantes da Terra. A cada ano, a fotossíntese por plantas e algas converte mais de 100 bilhões de toneladas métricas de CO₂ e H₂O em celulose e outros produtos vegetais. Certos carboidratos como açúcares e amido são importantes na dieta humana na maior parte do mundo e, a oxidação destes é o caminho central para a geração de energia, na maioria das células não fotossintéticas (HARDY *et al.*, 2015).

Os polímeros de carboidratos (PC) insolúveis servem como elementos estruturais e protetores nas paredes celulares de bactérias e plantas, ainda nos tecidos conjuntivos e nas camadas celulares dos animais. Outros PC lubrificam as articulações esqueléticas e fornecem adesão entre as células (HARVEY *et al.*, 2018). polímeros de carboidratos complexos, covalentemente ligados a proteínas ou lipídios, atuam como sinais que determinam a localização intracelular ou o destino metabólico desses glicoconjugados (PAOLI *et al.*, 2013).

Os carboidratos são poli-hidroxi-aldeídos ou poli-hidroxi-cetonas. O amido, o principal carboidrato das plantas, é composto pelos polissacarídeos amilose (10 a 30 %) e amilopectina (70 a 90 %). Quando ingerido por seres humanos e outros animais, o amido é hidrolisado em glicose e se torna a fonte de energia do corpo (SÉGUREL e BON., 2017).

O glicogênio é o polissacarídeo usado pelos animais para armazenar o excesso de carboidratos de suas dietas. De estrutura semelhante à amilopectina, o glicogênio é hidrolisado em glicose sempre que um animal precisa de energia para um processo metabólico. A celulose fornece estrutura para células vegetais. É um polímero linear de unidades de glicose unidas por ligações β -1,4-glicosídicas. É indigestível no corpo

humano, mas digerível por muitos micro-organismos, incluindo micro-organismos encontrados no trato digestivo de muitos herbívoros (HARVEY *et al.*, 2018; PAOLI *et al.*, 2013).

O carboidrato é o fornecedor de energia alimentar mais importante entre os macronutrientes, representando cerca de 80% da ingestão total de energia. Até o momento, em pesquisas sobre o papel dos carboidratos da dieta na nutrição humana foi estudado menos extensivamente do que os de proteínas e lipídeos (HARDY *et al.*, 2015).

3.3. Componentes inorgânicos em plantas e análise multielementar

As determinações de componentes inorgânicos em plantas (medicinais ou não) e, em seus extratos são de grande interesse para a saúde pública, uma vez que estes elementos podem influenciar na sua ação farmacológica, devido ao papel que certos elementos desempenham na saúde humana e animal. Por outro lado, as concentrações de macro e microelementos nas plantas dependem não só da natureza inerente da planta, mas também, das características do meio ambiente e do solo onde foram cultivadas (KARAK *et al.*, 2015; FAQUIM, 2005).

Os macroelementos como sódio, potássio, fósforo, cálcio e magnésio têm numerosas funções importantes no corpo humano e, são necessários em quantidades relativamente elevadas (VASQUEZ *et al.*, 2016). O cálcio é o mineral mais abundante no corpo humano, representando 1,5 a 2% do peso corporal total. O consumo de cálcio na dieta é necessário pois, em deficiência, como nas doenças ósseas, podem ser desmineralizados. O fósforo, associado com o cálcio, é essencial para a calcificação dos ossos, além disso, é empregado como cofator enzimático no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas e também desempenha um papel importante no equilíbrio ácido/base (OMOTAYO *et al.*, 2018).

O sódio é um mineral essencial para toda a vida animal e para algumas espécies vegetais. Nos animais, íons sódio são usados em oposição aos íons potássio, permitindo ao organismo o acúmulo de carga eletrostática nas membranas celulares e, assim, auxiliando a transmissão do impulso nervoso por um processo de polarização (GUMZ *et al.*, 2009). O potássio, na forma cátion, é o elemento mais abundante no fluido intracelular, onde desempenha um papel fundamental na manutenção da função celular, particularmente em células excitáveis, como músculos e nervos. Atualmente, a pressão arterial é o principal critério para determinar as necessidades de potássio (ELABIDA *et al.*, 2011).

O magnésio é essencial tanto para as funções de muitos sistemas enzimáticos, quanto para a transmissão neuromuscular. Desempenha papéis importantes na manutenção da pressão osmótica, ativação enzimática, atividade muscular, metabolismo energético, estabilização da função nervosa e manutenção da estrutura óssea (RODRIGUES *et al.*, 2014). A ingestão de silício confere benefícios à saúde e ocorre essencialmente através de produtos alimentares derivados de plantas. A biodisponibilidade do Si na dieta, ajuda no fortalecimento dos ossos e melhora a resposta imune, bem como a saúde dos neurônios e do tecido conjuntivo (STEYN *et al.*, 2014).

O estrôncio é um mineral não essencial encontrado em pequenas quantidades no corpo. As ações do estrôncio no corpo são semelhantes às do cálcio. Tem a capacidade de reduzir a perda óssea pois impede a reabsorção óssea. É encontrado em alimentos cultivados, sua concentração nas plantas está diretamente relacionada à quantidade encontrada no solo (NIELSEN *et al.*, 2004).

A monitorização de micronutrientes em amostras biológicas é fundamental, pois PANC e outros vegetais são consumidos como fontes de nutrientes. Apenas 1% do corpo de um indivíduo adulto é composto de micronutrientes, dentre eles destacam-se os elementos traço (definidos, no homem, como aquele que tem massa menor que 0,01% da massa corpórea) que desempenham diversas funções metabólicas e fisiológicas importantes para a manutenção da vida (OMS, 1998).

O cobre é um elemento essencial para o corpo humano e, está presente em todos os tecidos do corpo, desempenhando um papel na formação do tecido conjuntivo e no funcionamento normal dos músculos, do sistema imunológico e sistema nervoso. O cobre, juntamente com o ferro, é um componente crítico na formação de glóbulos vermelhos, também influencia o funcionamento do coração e das artérias, ajuda a prevenir defeitos ósseos, como osteoporose e osteoartrite (SALTZMAN *et al.*, 2013).

O ferro está naturalmente presente em muitos alimentos, é um componente essencial da hemoglobina e, também é necessário para o crescimento, desenvolvimento, funcionamento celular normal e síntese de alguns hormônios e tecido conjuntivo. Parte do ferro é armazenada na forma de ferritina ou hemossiderina no fígado, baço e medula óssea ou está localizada na mioglobina no tecido muscular (ROOHANI *et al.*, 2013).

O zinco é um micronutriente essencial para o crescimento, maturação e desenvolvimento do corpo, bem como para reparação de tecidos e resistência a doenças. É um mineral importante para crianças e idosos. Embora raro, as deficiências de minerais relacionadas ao zinco podem resultar em menor crescimento em crianças, menor resistência à infecção em adultos e atraso na cicatrização de feridas. É necessário para a

atividade catalítica de aproximadamente 100 enzimas e desempenha um papel na função imune, síntese de proteínas, cicatrização de feridas, síntese de DNA e divisão celular (SUMATHI *et al.*, 2016; VISWANATHA *et al.*, 2015).

O manganês é nutriente essencial encontrado em maiores concentrações nos ossos e, o restante está distribuído no pâncreas, rins, fígado, glândulas suprarrenais e hipófise. Seu papel principal é a ativação de enzimas necessárias para a digestão e utilização de alimentos e nutrientes, bem como na reprodução e crescimento ósseo (CHEN *et al.*, 2015).

Os elementos potencialmente tóxicos, tais como, Cd, Pb, Ni, Hg, Sb podem ser encontrados em alimentos com várias concentrações, normalmente, em decorrência de contaminações. Essas concentrações dependem do tipo de alimento e da rota pela qual o alimento foi exposto. Esses elementos podem ser encontrados no meio ambiente em diferentes vias, como água contaminada, solo e ar poluído (PAN *et al.*, 2016). O consumo de grandes quantidades de alimentos contaminados pode levar a efeitos adversos à saúde, como distúrbios neurológicos, câncer, danos a órgãos importantes do corpo, como rins, pulmões e fígado (BOURGOIGNIE *et al.*, 2017).

3.3.1. Pré-tratamento de amostras e análise multielementar.

A maioria das análises multielementares requer um pré-tratamento das amostras para serem analisadas, pois existem materiais que apresentam as mais variadas composições. Dessa maneira, é necessário realizar procedimentos para garantir a homogeneidade das amostras, para que a porção utilizada na análise seja representativa. Alguns métodos utilizados são: moagem, secagem, ultrassonicação e digestão por micro-ondas (LEITE, 2015). As análises multielementares, geralmente, são realizadas com as amostras em solução e os analitos na forma iônica livre. Dessa maneira, o uso de técnicas adequadas para a solubilização das amostras é necessário, sendo a mais utilizada, a digestão em forno com aquecimento assistido por micro-ondas (KUBRAKOVA e TOROPCHENOVA, 2013).

O processo de digestão de amostras pode ocorrer em sistemas abertos ou fechados, sendo o sistema fechado mais eficiente devido as condições empregada que inviabiliza a contaminação externa de amostras e a capacidade de realizar a digestão em menor tempo, além disso não ocorre odesprendimento de gases e vapores tóxicos (ZAIN *et al.*, 2016). A digestão com aquecimento assistido por radiação micro-ondas apresenta maior segurança, rapidez e eficiência quando comparado com outros métodos de digestões (ZAIN *et al.*, 2015). Além disso, a quantidade de reagentes é reduzida, diminuindo gastos

nas análises e, conseqüentemente, minimização de resíduos gerados, oferecendo maior segurança e contribuindo com os princípios da química verde (DETMANN *et al.*, 2012; PEREIRA *et al.*, 2008).

Em geral, procedimentos de digestão ácida de analitos vêm sendo utilizados, antes quantificação elementar de amostras. Entre eles, a digestão ácida assistida por micro-ondas é o mais empregado por apresentar características relevantes, tais como: menor tempo de digestão, melhor recuperação de elementos e compostos voláteis, menor níveis de contaminação, volumes mínimos de reagentes permitindo a combinação de ácidos oxidantes tais como ácido nítrico, e clorídrico com outros agentes oxidantes como o peróxido de hidrogênio, uma vez que promove à degradação completa ou parcial da matéria orgânica presente nas amostras (ORECCHIO 2013; SANTOS *et al.*, 2017).

O método envolvendo digestão deve apresentar compatibilidade com as condições operacionais da técnica analítica empregada para quantificar os elementos. Bem como, de apresentar segurança, estar de acordo com os princípios da química verde, apresentar alta frequência de amostragem e ser fácil de manuseio. Além disso, o digerido deve ser estável, ter baixa acidez residual, baixo teor de carbono residual e baixa concentração de sólidos dissolvidos (BARROS *et al.*, 2017; GASQUEZ *et al.*, 2005).

As técnicas analíticas mais utilizadas para as determinações multielementares em amostras biológicas são: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES); espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS); espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS), em chama (FAAS) e geração de hidretos (HG AAS) (MARQUES *et al.*, 2017).

O ICP OES é uma técnica espectroanalítica multielementar que consiste na quantificação de elementos através da emissão de radiação eletromagnética, gerada a partir da excitação de seus átomos ou íons. A técnica tem como principais características elevada sensibilidade (permitindo a quantificação de reduzidas concentrações de metais), limites de detecção e quantificação reduzidos, boa versatilidade, ótimo limite espectral, (ICP-MS, por exemplo), fácil operação e boa precisão e exatidão (WYLIE *et al.*, 2018; BOULYGA *et al.*, 2017; SANTOS, 2015). Diversos estudos têm sido desenvolvidos com ICP OES para análise multielementar de amostras biológicas (plantas e outros vegetais), a partir do desenvolvimento e validação de métodos (QUARLES *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2017; NRC, 2004).

O ICP OES apresenta ampla aplicação na análise de uma variedade de amostras, incluindo água e alimentos, bem como amostras geoquímicas, ambientais e biológicas (QUARLES *et al.*, 2018; GIL *et al.*, 2007). No entanto, tem algumas limitações, como

interferências espectrais devido aos efeitos de matriz, que podem ser importantes e, a necessidade de manter baixa a concentração de sólidos dissolvidos para evitar problemas de entupimento. No entanto, com o desenvolvimento apropriado do método e ou opcionais acessórios, essas limitações podem ser amplamente contornadas, permitindo, assim, que o ICP OES seja aplicado à análise de praticamente qualquer tipo de amostra (AYDIN *et al.*, 2013; ORECCHIO, 2013).

No ICP OES emprega-se uma fonte de plasma que é um gás altamente energizado e eletricamente neutro composto de íons, elétrons e partículas neutras. Geralmente, é produzido por uma corrente de argônio, energizada por um campo eletromagnético de alta frequência, por energia de micro-ondas ou por uma corrente contínua. Quando essa fonte é combinada com espectrômetros de alta qualidade, resulta em uma poderosa técnica de detecção elemental. Esse processo ocorre geralmente em alta temperatura que pode chegar a 8.000 K (GASQUEZ *et al.*, 2005; ORECCHIO *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de métodos analíticos que usam o ICP OES como detecção exige que os objetivos da análise sejam claramente definidos para aproveitar todas as potencialidades técnicas e evitar perda de tempo e recursos financeiros. Assim, todas as etapas e características do método devem ser projetadas para viabilizar a análise e gerar resultados confiáveis. Além disso, variáveis instrumentais como: radiofrequência (RF), configuração da tocha (axial ou radial), fluxo de gás e fluxo de aspiração da amostra também devem ser estabelecidas (GIL *et al.*, 2007; AYDIN *et al.*, 2013).

3.4. Compostos bioativos fenólicos: aspectos químicos, biológicos e análises cromatográficas

Os compostos fenólicos apresentam estruturas químicas diferentes e são caracterizadas por anéis aromáticos hidroxilados (ROLEIRA *et al.*, 2015). Estes compostos são metabólitos secundários derivados das vias das pentoses fosfato, chiquimato e fenilpropanoide nas plantas (RANDHIR *et al.*, 2004). Diversos estudos têm como objetivo caracterizar as atividades promotoras de saúde dos compostos fenólicos, devido às suas propriedades suas atividades biológicas (PAWAR *et al.*, 2018; ROLEIRA *et al.*, 2015; TANASE *et al.*, 2014). Os compostos fenólicos já foram identificados na forma livre, solúvel conjugado e insolúvel ligado, sendo esta última forma, encontrada na fibra lignina dietética (MOREIRA *et al.*, 2017).

Sabe-se que os compostos fenólicos exercem vários efeitos fisiológicos em humanos, como inibição da agregação plaquetária (HU *et al.*, 2015); redução do risco de doença coronariana e câncer, prevenindo o dano oxidativo de lipídios e lipoproteínas de

baixa densidade (SHUI; LEONG, 2006). Estes compostos têm elevadas atividades antioxidantes *in vitro* e *in vivo* associadas à sua capacidade de eliminar radicais livres, quebrar reações em cadeia e quelar metais (TANASE *et al.*, 2014). O aumento do consumo de alimentos e outras fontes ricas (plantas, fitoterápicos, etc., por exemplo) em compostos fenólicos tem sido correlacionado com a redução do risco de doenças cardiovasculares e certos tipos de câncer (BARREIRA *et al.*, 2008). Estas atividades podem estar associadas à presença de ácidos fenólicos (cafeico, clorogênico, elágico, ferúlico, gálico, p-cumárico, serínico, tânico, ascórbico, trans-sinâmico e vanílico) e flavonoides (rutina, quercetina, catequina e kaempferol) (GILL *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012).

Os ácidos fenólicos, atualmente, são objeto de investigação em diversas áreas do conhecimento, especialmente nos estudos de prospecção química e biológica de novos compostos com atividades biológicas, na indústria alimentícia, química e farmacêutica (TOSCANO, 2011).

O ácido gálico (ácido 3,4,5-tri-hidroxibenzóico) é encontrado, principalmente, em folhas, frutas vermelhas, frutas cítricas e vinho tinto. Além de sua forte capacidade antioxidante, o ácido gálico também foi demonstrado para atividades biológicas, incluindo atividades antioxidante, antitirosinase, antimicrobiana, anti-inflamatória e anticancerígena (LI *et al.*, 2016).

O ácido ferúlico (ácido 4-hidroxi-3-metoxicinâmico) foi isolado pela primeira vez em 1866; é abundante em grãos de cereais e, seu metabolismo nas plantas começa com os aminoácidos aromáticos através da via do ácido chiquímico (KUMAR; PRUTHI, 2014). O ácido ferúlico exibe várias funções fisiológicas em plantas: proteção de células contra enzimas hidrolíticas durante a germinação, regulação do crescimento das plantas, inibição de plantas concorrentes e absorção de minerais e água nas raízes (WOJCICKA *et al.*, 2010). Além dessas propriedades, o ácido ferúlico atenua o estresse oxidativo, protege contra danos cerebrais induzidos pela isquemia cerebral e melhora o comprometimento da memória induzida por β -amiloide (ZHAO *et al.*, 2012).

O ácido trans-cinâmico, é um ácido orgânico polifenólico natural derivado de plantas e conhecido por ter efeitos antifúngicos, antimicrobianos, antioxidantes, antitumorais e anti-inflamatórios. Além disso, ácido trans-cinâmico é relatado como um aditivo alimentar eficaz funcional para os organismos vivos (TANGNEY *et al.*, 2013; GESSNER *et al.*, 2017). Ademais, o ácido trans-cinâmico pode ser convertido em vários compostos de alto valor, como estireno, ácido p-hidroxicinâmico, cinamaldeído e ácido cafeico, que têm sido amplamente utilizados como materiais para a preparação de

fragrâncias para cosméticos, agentes antinematóides, termoplásticos e produtos farmacêuticos (VARGAS-TAH e GOSSET, 2015).

O ácido clorogênico também conhecido como ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), é um composto fenólico da família do ácido hidroxicinâmico (IUPAC, 1976). Sua estrutura química consiste de uma porção de ácido cafeico e uma de ácido químico (NIGGEWEG *et al.*, 2004). O ácido clorogênico tem sido extensivamente estudado, uma vez que é amplamente distribuído em plantas, sendo um dos principais polifenóis da dieta humana e, possui propriedades promotoras de saúde, tais como antibacteriana, antioxidante e anti-inflamatória, hipoglicêmica e hipolipidêmica (KARUNANIDHI *et al.*, 2013; HWANG *et al.*, 2013). Pode ser encontrado em alimentos como maçãs, alcachofra, cenoura, grãos de café, berinjelas, uvas, kiwis, peras, ameixas, batatas, tomates e ervas (ZHAO *et al.*, 2010). Ainda, tem-se estudado que o ácido clorogênico tem a capacidade de suprimir o vírus da hepatite B e de restringir a peroxidação lipídica (JIN *et al.*, 2013), além de induzir a apoptose em vários tipos de células cancerígenas *in vitro* (DEKA *et al.*, 2017).

O ácido cafeico, também conhecido como ácido 3,4-dihidroxicinâmico, é classificado como hidroxicinamato e fenilpropanóides. É um dos principais intermediários da via fenilpropanóide da planta, a partir da desaminação da fenilalanina que gera ácido cinâmico (MAGNANI *et al.*, 2014). Estudos indicam que o ácido cafeico tem propriedades antioxidantes e pró-oxidantes, podendo ser um mecanismo importante das propriedades indutoras de anticâncer e apoptose (MAURYA; DEVASAGAYAM, 2010). Apresenta, também, efeito antitumoral e pode ser um promissor agente quimiopreventivo ou quimioterápico (CHANG *et al.*, 2010).

O ácido vanílico, também conhecido como ácido 4-hidroxi-3-metoxi benzoico, é a forma oxidada da vanilina que é usada na indústria alimentícia (MAURYA *et al.*, 2010). É uma substância química biorenovável disponível para a síntese biocatalítica de outros compostos aromáticos como vanilina e álcool vanílico por metabolismo redutivo, guaiacol por descarboxilação não oxidativa e metoxi- hidroquinona por oxidativo descarboxilação (XIE *et al.*, 2014; HU *et al.*, 2015). Com comprovada eficácia contra a doença óssea metabólica, a osteoporose, pode ajudar a prevenir a destruição óssea em outra doença óssea destrutiva, como a periodontite (GAO *et al.*, 2015).

O ácido p-cumárico é o isômero abundante de ácido cinâmico, também amplamente encontrado em plantas comestíveis, como amendoim, tomate, cenoura. São relatadas atividades antitumoral e antimutagênica para o ácido p-cumárico (FERGUSON *et al.*, 2003). Em um estudo, o ácido p-cumárico, juntamente com a combinação de ácido

cafeico encontrado para reduzir danos de oxidação UV-B, em células conjuntivais humanas *in vitro* e na córnea e esclera de coelhos *in vivo* (SILINA *et al.*, 2016; SCHULTHEISS *et al.*, 2011).

Ácido siríngico, também conhecido como ácido 4-hidroxi-3,5-dimetoxibenzóico, ocorre naturalmente, podendo ser encontrado em fontes como especiarias, cereais como aveia, arroz, trigo etc. (KIM *et al.*, 2006). Possui uma variedade de atividades antioxidante e, também, é usado para tratamento de bronquite (DEY *et al.*, 2016).

O ácido elágico (2,3,7,8-tetra-hidroxibenzopirano (5,4,3-cde) benzopirano-5,10-diona) é um dímero de ácido gálico, podendo ocorrer em plantas na forma livre ou ligada (elagitaninos, classificados entre compostos de polifenóis como taninos hidrolisáveis) e pode ser liberado após a hidrólise (GONZÁLEZ *et al.*, 2015). O ácido elágico e os elagitaninos têm sido estudados por seus efeitos antioxidativos, anticancerígenos, anti-inflamatório, antimicrobiano (LANDETE, 2011; HUERGA- FERNÁNDEZ *et al.*, 2017).

Os principais flavonóides encontrados nos vegetais, com interesse químico, nutricional e farmacêutico são rutina, quercetina, catequina e kaempferol. A quercetina (3, 3', 4', 5, 7- penta-hidroxifavona ou 3, 3', 4', 5, 7- penta-hidroxi-2-fenilcromen-4-ona) é um inibidor de transporte das auxinas polares que ocorre naturalmente. Sua solubilidade em água é dependente da temperatura, sendo solúvel em água com temperaturas próximo de 100 °C e bastante solúvel em álcool e lipídios (LEE *et al.*, 2011). Nas plantas, pode existir na forma livre (aglicona) ou limitada, principalmente com carboidratos (quercetina glicosídeos) e álcoois, principalmente metanol (quercetina metil éteres) (MATERSKA *et al.*, 2008).

A quercetina está presente nas plantas em muitas formas glicosídicas diferentes. Geralmente, é encontrado em formas conjugadas com açúcares como glicose, galactose e ramnose (VASANTHA *et al.*, 2011). As formas prevalentes são a quercetina conjugada com uma ou duas moléculas de glicose, como a isoquercetina; e quercetina conjugada com rutinose, como a rutinose da quercetina - rutina. No entanto, a forma aglicona da quercetina ocorre em níveis muito mais baixos nos alimentos (NISHIMURO *et al.*, 2015). O teor de quercetina varia de acordo com as condições de cultivo e da exposição à luz. É encontrada em quantidade considerável em vários vegetais, como cebolas, cebolinha, brócolis, aspargo, pimentão verde, tomate e alface vermelha, podem ser grandes fontes de quercetina onipresente, especialmente no verão (SATO *et al.*, 2015).

O Kaempferol (3,5,7-tri-hidroxi-2- (4-hidroxifenil) -4H-1-benzopiran-4-ona) é um composto amarelo de baixa massa molecular (286,2 g mol⁻¹) que é comumente encontrado em alimentos derivados de plantas e em plantas usadas na medicina

tradicional. O kaempferol tem uma estrutura de difenilpropano (C6-C3-C6) e é sintetizado pela condensação de 4-coumaroil-CoA (C6-C3) com três moléculas de malonilCoA (C6) (WINKEL-SHIRLEY, 2001). O Kaempferol é um potente eliminador de superóxido, com um IC₅₀ de 0,5 M (WANG *et al.*, 2006). A capacidade do Kaempferol em diminuir os níveis de superóxido, em baixas concentrações, pode desempenhar um papel importante em sua atividade antioxidante (KLAUNIG *et al.*, 2004). Ainda, é utilizado para várias doenças devido às suas funções biológicas pleiotrópicas, tais como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antitumorais (LEE *et al.*, 2011) e no tratamento de doenças hepáticas (SMÝKAL *et al.*, 2015).

A catequina é notável por sua presença em muitos produtos alimentares, incluindo plantas, frutas (maçãs, groselhas, sementes de uva, kiwi e morangos), chá verde e preto, vinho tinto, cerveja e licor de cacau, entre outros (AHMAD *et al.*, 2019; LIU *et al.*, 2018). Estudos com catequina, realizados *in vitro* e *in vivo*, demonstraram seus efeitos benéficos, incluindo proteção contra doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) e atividades antioxidantes, anticarcinogênica, anti-inflamatória, antiaterogênica e hipoglicêmica, além de atividades antibacterianas e antivirais (YUAN *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2018; GRZESIK *et al.*, 2018).

3.4.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Para a separação, identificação e determinação de compostos fenólicos, com potenciais atividades biológicas, se faz uso de técnicas analíticas, entre as quais e destaca a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), que é uma técnica de separação físico-química, no qual os componentes da amostra, a serem separados, são distribuídos entre a fase estacionária e a fase móvel que percola através da fase estacionária (SÄDE *et al.*, 2017).

A fase estacionária pode ser tanto um sólido quanto um líquido. A fase estacionária sólida possui partículas de pequeno diâmetro, que preenchem o espaço interno de uma coluna apresentando uma grande área superficial, dando origem a cromatografia líquido-sólido ou uma fina camada líquida de elevada massa molecular fixada em um suporte sólido dando origem a cromatografia líquido-líquido (BELAYNEH *et al.*, 2017)

A fase móvel é responsável por classificar o tipo de cromatografia quando se trata de um gás, líquido ou fluido supercrítico sendo, assim, conhecida como cromatografia gasosa, cromatografia líquida ou cromatografia de fluido supercrítico, respectivamente (LAMONTAGNE *et al.*, 2018).. A cromatografia líquida pode ser empregada para

análises químicas qualitativa e quantitativa, de diferentes compostos, em uma variedade de matrizes, nas mais diversas áreas, tais como, química, forense, toxicológica, clínica e ambiental, para solucionar inúmeros problemas analíticos (ERKAN, 2012)

O processo de separação na cromatografia líquida pode ser exemplificado da seguinte maneira: ao adicionar a fase móvel com dois solutos em uma coluna, as moléculas se distribuem entre a fase móvel e a fase estacionária (CASTELLÓ *et al.*, 2016). Os analitos com maior interação com a fase estacionária passará menor tempo na fase móvel, resultando no deslocamento mais lento através da coluna, já o analito com menor interação terá seu deslocamento mais rápido e chegará ao final da coluna primeiro, sendo assim detectado através de um detector como o espectrômetro de massas e seu pico registrado no gráfico denominado cromatograma (HALLIN *et al.*, 2014).

O CLAE é uma técnica que pode ser empregada na análise e no controle de qualidade dos alimentos, sendo possível a identificação de alguns componentes básicos tais como a determinação de valor nutricional; a qualidade e frescor; detecção de autenticação de produtos; controle de contaminantes tecnogênicos; controle de contaminantes naturais; determinação de aditivos artificiais em alimentos; análise de medicamentos veterinários em alimentos; controle de poluição ambiental, controle de qualidade de alimentos de embalagem; controle de processamento tecnológico de alimento. Em particular, o emprego do CLAE na análise de vitaminas, carboidratos, identificação e quantificação substâncias bioativas e vegetais é de grande importância para a sociedade. A qualidade dos alimentos é relacionada ao seu valor nutricional, ou seja, à presença de nutrientes vitais, fornecendo exigência de corpo humano para energia, crescimento e desenvolvimento, e regular a função do corpo (.BARREIRA *et al.*, 2008; SALTA *et al.*, 2010; ROLEIRA *et al.*, 2015).

O valor nutricional dos alimentos pode ser avaliado através da composição de aminoácidos que compõe as proteínas, da composição isomérica de ácidos graxos e glicídios em gorduras, carboidratos, compostos orgânicos, minerais e vitaminas. Diversos estudos demonstram a empregabilidade do CLAE nessas análises (KARUNANIDHI *et al.*, 2013).

3.5. Análise exploratória de dados

A análise de componentes principais (PCA), é um método exploratório, que oferece uma visão geral das análises e permite obter conclusões significativas para possíveis tomadas de decisões com base nos resultados observados. O PCA é baseado no pressuposto de alta variabilidade. Os algoritmos do PCA pesquisam a direção máxima da

variação, no espaço multidimensional dos dados originais, de preferência passando através do centroide de dados, o que significa que os dados devem ser pelo menos centralizados em colunas. A direção máxima da variação representa o primeiro componente principal (PC). O segundo PC é a direção que mantém a variação máxima entre todas as direções ortogonais ao primeiro PC. Conclui-se que o segundo PC apresenta as informações máximas não explicadas pelo primeiro ou, em outras palavras, essas duas novas variáveis não são inter-correlacionadas (CHISTERMAN *et al.*, 2017; HALLIN *et al.*, 2014)

Cada amostra pode ser projetada no espaço definido pelas novas variáveis e os valores de coordenadas obtidos são chamados de escores. Os PCs são expressáveis como combinações lineares das variáveis originais: os coeficientes que multiplicam cada variável são chamados de cargas. Eles representam os valores de cosseno (cossenos de diretor) dos ângulos entre os PCs e as variáveis originais. Esses valores podem variar entre -1 e +1, indicando a importância na definição de um determinado PC: quanto maior o valor absoluto do cosseno, mais próximas as duas direções, maior a contribuição da variável original para o PC (CASTELLÓ *et al.*, 2016; VASQUEZ *et al.*, 2016).

A análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) avalia os dados de acordo com sua homogeneidade e heterogeneidade, agrupando-os de acordo com o grau de semelhança. Dessa forma, para determinar o HCA, avalia-se a distância entre as amostras e quanto menor a distância entre os dados diz-se que maior é a semelhança das amostras (IWASHYNA *et al.*, 2015). Ao empregar o HCA os dados são demonstrados em um espaço bidimensional enfatizando os dados em agrupamentos naturais. A distância entre as variáveis reflete a similaridade entre as amostras analisadas. Os resultados das análises são demonstrados na forma de dendrograma, na qual agrupa as variáveis em função da similaridade (PETUSHKOVA *et al.*, 2014).

3.6. Perfil filogenético

Um dos principais eventos, na história da humanidade, foi a origem da agricultura, onde as pessoas passaram a consumir, em sua alimentação, um pequeno número de espécies animais e vegetais. No entanto, as características biológicas que determinam quais espécies foram domesticadas para fornecimento de alimentos e quais não são claras (LOHSE *et al.*, 2014).

As plantas têm desempenhado um papel importante na evolução geoquímica e climática do planeta e, são essenciais para os seres humanos como principal fonte de

alimentos, além de fornecer matérias-primas para diversos setores da economia, como por exemplo as indústrias de produtos químicos, farmacêuticas e medicinais. O sequenciamento genômico de *Arabidopsis* (gênero pertencente à família das Brassicaceae), em 2000, permitiu o entendimento sobre diferenças entre espécies, a partir das informações genética (SARRIA *et al.*, 2001). Ao se identificar semelhanças e diferenças, no conteúdo gênico das plantas, em modelo de comparação com organismos de outras linhagens filogenéticas, pode-se começar a diferenciar processos celulares (KORKUC *et al.*, 2014).

Os estudos filogenéticos fornecem informações sobre a evolução de genes e genomas. Entretanto, é necessária uma amostragem taxonômica densa para obter uma visão completa e precisa da história evolutiva de um processo biológico e de seus genes subjacentes. Além disso, uma classificação coerente de genes homólogos é essencial para a extração de alto rendimento de informações funcionais e evolutivas das filogenias de genes (LOHSE *et al.*, 2014). A construção de perfis filogenéticos, que refletem a presença ou ausência de uma família de genes específica em uma espécie biológica, é um método eficaz para a detecção de genes do núcleo conservados, genes de cópia única específica da espécie, família de genes específicos da espécie (SSGF) ou expansões da família de genes específicos de linhagem (LSGF), perda de genes e genes que foram transferidos entre genomas nucleares e organelares (SKUNCA *et al.*, 2013).

Nesta perspectiva, a busca de perfis genéticos semelhantes entre diversas espécies de PANC pode auxiliar na catalogação de características botânicas, químicas e nutricionais, contribuindo para melhor caracterização das espécies e servindo de base para estudos mais elaborados.

3.7. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais

O Brasil possui a maior biodiversidade do mundo, representando mais de 20 % do número total de espécies conhecidas. O país apresenta a flora mais diversificada, com mais de 55 mil (cinquenta e cinco mil) espécies descritas, o que corresponde a 22 % do total global (LE *et al.*, 2012).

As doenças infecciosas representam um importante causa de morbimortalidade entre a população, em geral. Portanto, as indústrias químicas e farmacêuticas têm sido motivadas a desenvolver novos medicamentos antimicrobianos nos últimos anos, principalmente devido ao surgimento constante de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos convencionais (KUNERT *et al.*, 2008). A cura com plantas medicinais é a base da medicina tradicional. Efeitos biológicos de extratos de materiais vegetais têm

atividades descritas, como antiplasmodial, antioxidante, anticâncer, antimicrobiano, antiúlcera, antidiarreico, antipirético e gastroprotetor (SÄDE *et al.*, 2017). Algumas plantas tais como o urucum (*Bixa orellana*), o camará (*Lantana câmara*) e o “paratudo” (*Tabebuia aurea*) são empregadas no tratamento de doenças de pele; as observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, significativamente, para a divulgação de suas propriedades terapêuticas (JIOFACK *et al.*, 2010).

Nos últimos tempos, a busca por potentes agentes antimicrobianos foi deslocada para as plantas, pois a sua maioria é, medicinalmente, útil no tratamento de doenças e, na maioria dos casos, o valor da eficácia antimicrobiana atribuído a algumas plantas está além da crença (PICKLER *et al.*, 2011). Logo, a busca por novos antimicrobianos de origem vegetal deve ser estimulada, pois o Brasil possui uma enorme biodiversidade.

O entendimento do mecanismo de ação antimicrobiana dos extratos de plantas é o primeiro passo na utilização ideal desses extratos como agentes antimicrobianos naturais. Portanto, é necessário desenvolver medicamentos antimicrobianos alternativos para o tratamento de doenças infecciosas (COSTA *et al.*, 2007). O tratamento de doenças infecciosas com agentes antimicrobianos continua a apresentar problemas na medicina moderna. Devido ao aumento da resistência de muitos microrganismos aos antibióticos estabelecidos, a investigação dos compostos químicos nas plantas tradicionais tornou-se desejável (SILVEIRA *et al.*, 2012).

Cerca de 80 % da população mundial depende de plantas medicinais para seus cuidados primários de saúde (BELAYNEH *et al.*, 2014). A medicina tradicional baseada em plantas representa a principal forma verdadeira de atenção primária à saúde acessível em muitas partes do mundo em desenvolvimento, especialmente para as pessoas que vivem nas áreas rurais (BEAUDOIN *et al.*, 2012). Muitos esforços têm sido feitos para descobrir novos antimicrobianos, componentes de vários tipos de fontes naturais. Pesquisas com plantas indicam amplo número de atividade antimicrobiana (CAVA *et al.*, 2007; CHAIEB *et al.*, 2007). O isolamento de compostos ativos deve ser realizado à luz da atividade conhecida da planta e, também, seguir um isolamento guiado de princípios potenciais devendo confirmar as propriedades anti-infecciosas da planta (LAMONTAGNE *et al.*, 2018).

Algumas considerações devem ser estabelecidas para o estudo da atividade antimicrobiana de extratos vegetais, óleos essenciais e compostos isolados a partir deles. É de extrema relevância a definição de parâmetros comuns, como material vegetal, técnicas empregadas, meio de crescimento e microrganismos testados, incluindo a composição do meio de crescimento que também pode influenciar a atividade dos extratos

ou compostos testados (KLAUSMEYER *et al.*, 2004). Por exemplo, para os extratos não polares, o uso de técnicas de difusão parece ser inadequado, embora muitos relatórios com esse tipo de técnica tenham sido publicados (FUKAI *et al.*, 2004).

São inúmeros os micro-organismos patogênicos com capacidade de causar diversas doenças e, os de maior importância para a saúde incluem: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Candida glabrata* (BERILA *et al.*, 2011). O *Staphylococcus aureus*, é uma bactéria comensal, um patógeno humano. Aproximadamente 30% da população humana é colonizada por *S. aureus*. Simultaneamente, é uma das principais causas de bacteremia e endocardite infecciosa, além de infecções osteoarticulares, da pele e dos tecidos moles, pleuropulmonares e relacionadas ao dispositivo (SHOPSIN *et al.*, 2008).

S. aureus pode residir e infectar uma ampla variedade de tecidos hospedeiros, desde superfícies da pele a tecidos mais profundos, como no trato gastrointestinal, coração e ossos. Devido ao seu estilo de vida multifacetado, essa bactéria utiliza redes reguladoras complexas para detectar diversos sinais que lhe permitem se adaptar a diferentes ambientes e modular a virulência (HOCHFELLNER *et al.*, 2015).

O *Bacillus subtilis* é eficaz na degradação da celulose e pode existir na forma de esporos, resistentes a altas temperaturas, oxidação, extrusão, ácidos e álcalis. As proteínas antimicrobianas produzidas por *Bacillus subtilis* têm fortes efeitos inibitórios em bactérias patogênicas (WANG *et al.*, 2007). O *B. subtilis* é considerado um organismo benigno, até determinada quantidade, pois possui baixa capacidade de causar doenças. Não é considerado patogênico ou toxigênico para humanos, animais ou plantas. O risco potencial associado ao uso desta bactéria em instalações de fermentação é baixo (FALADE *et al.*, 2014).

A *Escherichia coli* continua sendo uma das causas mais frequentes de várias infecções bacterianas em humanos e animais. É a principal causa de enterite, infecção do trato urinário, septicemia e outras infecções clínicas, como meningite neonatal, também é proeminentemente associada à diarreia em animais (SHACKLETON *et al.*, 2017). O tratamento terapêutico das infecções por *E. coli* está ameaçado pelo surgimento de resistência antimicrobiana. A prevalência de cepas multirresistentes está aumentando em todo o mundo, principalmente, devido à disseminação de elementos genéticos móveis, como plasmídeos (FRANZ *et al.*, 2011).

A *Pseudomonas aeruginosa* possui características evolutivas de virulência e padrões de resistência antimicrobiana, o que a torna um alvo difícil para antibioticoterapia. É um patógeno oportunista que, raramente, causa doenças em pessoas

saudáveis. Esse organismo é comumente considerado no diagnóstico diferencial de várias infecções gram-negativas. Está associado a infecções nosocomiais, geralmente graves e com risco de vida, principalmente em hospedeiros imunocomprometidos (RIBEIRO *et al.*, 2018). A infecção crônica por este agente, leva à doença pulmonar progressiva. Se presente em um número suficientemente grande de inócuos ou houver trauma com uma quebra no epitélio, *P. aeruginosa* pode causar infecção em um hospedeiro saudável (LEE *et al.*, 2015).

A *Candida albicans*, é um patógeno fúngico oportunista importante, causando infecção quando o hospedeiro está imunocomprometido. Reside, geralmente, como comensal no trato gastrointestinal e geniturinário, bem como na flora oral e conjuntival. Essas infecções podem ser superficiais e afetar a pele, mucosa ou ser transportada na corrente sanguínea e disseminar-se para os órgãos internos (HALL *et al.*, 2011). Os fatores de risco para candidíase invasiva incluem cirurgia, queimaduras, permanência prolongada em unidade de terapia intensiva e administração prévia de antibióticos de amplo espectro e agentes imunossupressores (CHEN *et al.*, 2004).

Até recentemente, a *Candida glabrata* era considerada um organismo fúngico comensal relativamente não patogênico dos tecidos da mucosa humana. No entanto, com o aumento do uso de agentes imunossupressores, as infecções mucosas e sistêmicas causadas por *C. glabrata* aumentaram significativamente, especialmente na população infectada pelo vírus da imunodeficiência humana. A *C. glabrata* é um agente causador de infecções superficiais (orais, esofágicas, vaginais ou urinárias) ou sistêmicas, que geralmente são nosocomiais. Um grande obstáculo nas infecções por *C. glabrata* é a resistência inata à terapia antimicótica do anzol, que é muito eficaz no tratamento de infecções causadas por outras espécies de *Candida* (BERILA *et al.*, 2011).

3.7.1. Bioensaios

As análises biológicas empregadas com extratos de plantas podem apresentar atividades citotóxica frente a micro-organismos tais como bactérias e fungos. As técnicas empregadas nessas avaliações incluem a difusão em ágar e de microdiluição em caldo. Esse último, apresenta como vantagens, em relação ao primeiro, pela economia de materiais e as análises serem realizadas em triplicata. Ambos os métodos são padronizados pelo Instituto de Normas Laboratoriais Clínicas (CLSI, 2012).

A concentração inibitória mínima (MIC) é o método empregado que avalia a menor concentração de um extrato que tem a capacidade de inibir o crescimento visível de uma cultura bacteriana sob um conjunto definido de condições experimentais (YUAN

et al., 2016). Um método de referência para medir a MIC é a microdiluição em caldo sob condições padronizadas *in vitro*, usando uma placa de microdiluição com duas etapas de diluição da droga e avaliação visual subsequente do crescimento ou não crescimento bacteriano, após o período de 16 a 20 h de cultura a 35 ± 2 °C (HOIBY *et al.*, 2010).

A concentração bactericida mínima (CBM) é a concentração mais baixa de um agente antibacteriano necessária para matar uma bactéria por um período fixo, sob um conjunto específico de condições. Pode ser determinada a partir da diluição em caldo dos testes de MIC por subcultura em placas de ágar, que não contêm o agente de teste (BEAUDOIN *et al.*, 2012). A CBM é identificada pela determinação da menor concentração de agente antibacteriano que reduz a viabilidade do inóculo bacteriano inicial por uma redução $\geq 99,9$ %. A CBM é complementar ao MIC; enquanto o teste MIC demonstra o nível mais baixo de agente antimicrobiano que inibe muito o crescimento, o CBM demonstra o nível mais baixo de agente antimicrobiano, resultando em morte microbiana (HOIBY *et al.*, 2010).

Inúmeros estudos com plantas são desenvolvidos ao longo dos anos, em busca de substâncias de interesse farmacêutico bem como nutricional. Dentro dessa perspectiva, ao se aplicar as ferramentas e técnicas químicas, pode-se identificar e quantificar elementos e compostos químicos importantes à saúde, bem como testar extratos, com diferentes solventes e partes das plantas, que oferecem atividade contra microorganismos nocivos para os seres humanos.

Os estudos com as PANC são oportunos e de grande importância, pois deve-se saber quais são os constituintes químicos e seu poder de ação nos mais diversos campos da ciência. Portanto, entende-se que, ao consumir um alimento, o consumidor está interessado nos compostos nutricionais que este alimento pode oferecer para manter o funcionamento fisiológico normal do organismo vivo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Caracterização das plantas

As partes das plantas (folhas) foram coletadas em diferentes bairros de Salvador e Região Metropolitana, no Estado da Bahia, entre os meses de abril e junho de 2018. A identificação botânica das PANC foi realizada através da comparação com a caracterização descrita em revisões taxonômicas e literatura botânica científica (atlas botânicos e fotos das espécies), conforme mostra o Apêndice 1.

4.2. Preparo do material vegetal

As partes das plantas, após coletadas, foram lavadas com água destilada e secas à temperatura ambiente (24 °C), em bancada, fora da presença direta da luz solar. As amostras destinadas a avaliação centesimal foram misturadas manualmente e trituradas em um liquidificador (Problend Lâminas Philips Walita - RI2134) no Laboratório de Análises Química, do Departamento de Ciências da Vida (DCV), da Universidade Estadual da Bahia (UNEB), para a determinação da composição centesimal. As porções das amostras destinadas à quantificação dos macros e microelementos, identificação e quantificação de bioativos fenólicos foram congeladas a -40 °C no freezer (Vertical Fricon Dupla Ação Porta de Chapa VCED 284 L) e, em seguida liofilizadas (Liofilizador Terroni LS 3000), no Laboratório de Análises Química do DCV/UNEB. As amostras destinadas a atividade antimicrobiana após a lavagem e secagem foram expostas ao solvente (etanol).

4.3. Procedimentos para Análise centesimal das PANC

Os procedimentos experimentais para a determinação da composição centesimal foram baseados na literatura, especificamente nas publicações do Instituto Adolfo Lutz (LUTZ, 2018), que fornecem aos analistas de alimentos, metodologias físico-químicas de confiabilidade e de fácil acesso.

4.3.1. Umidade

Para a determinação de umidade, foi determinada a massa de uma cápsula de porcelana e, em seguida colocada em uma estufa (Quimis®-Q 317M33, Diadema, São Paulo, Brazil) a 105 °C por 1h para secar. Após resfriar em um dessecador, a massa da cápsula foi novamente determinada e, transferiu-se, aproximadamente, 5g de amostra de PANC triturada para cápsula. Em seguida, levou-se a cápsula à estufa a 105 °C por 24h.

Ao final desse tempo determinou-se a massa seca e, por diferença, foram obtidos os valores de umidade.

4.3.2. Resíduo mineral fixo (cinzas)

Para avaliar a quantidade de cinzas das amostras, determinou-se a massa de um cadinho de porcelana que, em seguida, foi seco em uma mufla (Quimis® Q318 M24, Diadema, São Paulo, Brazil) a 550 °C por uma hora; após esfriar em um dessecador, foi determinada a massa do cadinho. Em seguida, adicionou-se, aproximadamente 5 g, de amostra de PANCruturadas, levando-se à mufla a 550 °C por 6h; ao final desse tempo, determinou-se a massa seca e, por diferença, foram obtidos os valores de cinzas.

4.3.3. Extrato etéreo (lipídios)

Na determinação dos lipídeos utilizou-se amostras de PANC sem a presença de umidade; dessa forma, as amostras foram utilizadas após a quantificação da umidade. Determinou-se a massa de um balão com fundo chato; adicionou-se, aproximadamente, 250 mL de éter de petróleo e, em seguida colocou-se a amostra na câmara de extração, e acoplou-se um Soxhlet. Deixou-se o balão sob aquecimento em chapa elétrica (Fisatom® Bateria de Chapa Aquecedora, 6 provas, 18 cm, Modelo: 503-6) a (\pm 80 °C) com a amostra à extração contínua por 8h. Após esse período, recuperou-se o éter de petróleo e, em seguida transferiu-se o balão (já seco, sem éter) com o resíduo extraído para uma estufa (Quimis®-Q 317M33, Diadema, São Paulo, Brazil) a 105 °C por 24h. Após resfriamento, determinou-se a massa e, por diferença, foram obtidos os valores de lipídios.

4.3.4 Resíduos nitrogenados (proteínas)

Para a determinação de proteínas, pesou-se aproximadamente 0,2 g da amostra em um pedaço de papel manteiga e adicionou-se, em seguida, a um tubo de ensaio específico de digestão de amostras. Adicionou-se 7 mL de ácido sulfúrico e 0,1 g de mistura catalítica na proporção de 1:1 (Sulfato de potássio e sulfato de sódio anidro ou bissulfeto de potássio e Sulfato de cobre pentahidratado). Para o branco, foram adicionados 7 mL de ácido sulfúrico a mistura catalítica no tubo de ensaio. O padrão foi composto de 7 mL ácido sulfúrico a mistura catalítica com 1 mL de solução padrão (0,1 g de sulfato de amônio/100 mL de água destilada).

Todos os tubos contendo as amostras, os brancos e os padrões foram levados ao bloco digestor (MA-4025, Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brazil) a 330 °C, dentro da

capela, até a mistura se tornar azul-esverdeada-transparente e livre de materiais não digeridos (resíduos pretos). Após resfriamento, as amostras foram retiradas do bloco digestor e levada ao processo de destilação. Em um Erlenmeyer, foram adicionados 50 mL de ácido bórico a 4 % e 2 μ L da mistura do indicador (vermelho de metila com verde de bromocresol).

Aqueceu-se a água do destilador de nitrogênio (M-036, Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brazil) e, em seguida, colocou-se o Erlenmeyer no suporte de destilação automático, com a saída da amônia totalmente imersa ao ácido bórico. Colocou-se 25 mL de hidróxido de sódio a 40 % no destilador e, em seguida fixou-se o tubo de ensaio com a amostra já digerida no sistema de fixação de tubos do destilador, fechando o protetor móvel de segurança. Abriu-se a válvula para adicionar o hidróxido de sódio ao tubo de ensaio até que a coloração do líquido no tubo estivesse marrom-escuro/preto na mistura. Aguardou-se alguns minutos até que a coloração no Erlenmeyer com ácido bórico mudou-se de cor rosa para a verde claro. Retirou-se o Erlenmeyer do destilador e, em seguida, foi realizada a titulação com ácido clorídrico a 1 %. Através de cálculos matemáticos foi determinado o valor de proteínas.

4.3.5. Extrato não nitrogenado (carboidratos)

Os carboidratos foram determinados por diferença, após obter os dados dos resultados dos demais componentes das amostras, empregamos os cálculos de subtração dos valores obtidos por 100.

4.4. Análise multielementar e parâmetros de validação analítica

Na determinação multielementar foram utilizados os seguintes reagentes e soluções padrões: HNO₃ 65 % (m m⁻¹) (Merck[®], Germany), H₂O₂ 30 % (m m⁻¹) (Vetec[®], Brasil) e 1000 mg L⁻¹ da solução padrão (Specsol[®], Brasil) dos elementos Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P, As, Cd, Co, Pd, Sb, Se, V, Sn, Sr e Zn. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura, com resistividade específica de 18 M Ω cm pelo sistema de purificação Milli-Q[®] (Millipore, Bedford, MA, USA). As vidrarias e materiais foram descontaminados em solução de HNO₃ 10 % (v v⁻¹), em banho, durante 24 h, e lavados abundantemente com água ultrapura.

Para a determinação de macro e microelementos, os experimentos foram realizados usando o método validado e descrito por Santos Junior *et al.* (2017), no qual o processo de digestão ácida das amostras foi assistido por radiação de micro-ondas (Milestone Ethos 1600 Microwave Labstation, Sorisole, Italy).

Para a digestão no forno de micro-ondas, foi utilizada uma massa de aproximadamente 300 mg de cada amostra, em triplicata que foram pesadas diretamente no frasco de digestão. Em seguida, foram adicionados a amostra 1,0 mL de H₂O₂ 30% (m m⁻¹), 7,0 mL de HNO₃ 65 % (m m⁻¹). O forno de micro-ondas foi programado com sucessivas etapas de aquecimento à pressão constante de 35 bar (Tabela 2). As amostras foram digeridas em triplicata.

Tabela 2 Condições de operação do sistema de digestão por micro-ondas.

Estágio	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	6	750	90
2	4	750	90
3	8	1000	180
4	15	1000	180
Ventilação	20	0	-

Após a digestão ácida, as amostras foram avolumada para 25 mL com água ultrapura e analisadas, empregando o espectrômetro de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP OES), da Varian Vista (Mulgrave, Austrália), com configuração axial, para detectar e quantificar, simultaneamente, os macro e micro elementos, acoplado com um detector de estado sólido (CCD) usando as seguintes linhas de emissão (nm): Al (396,152), Ca (317,933), Cu (324,754), Fe (238,204), K (769,897), Mg (279,553), Mn (257,610), Na (589,592), P (213,618), Si (288,158), Sr (407,771), Zn (213,857), As (193,696), Pb (220,353), Cd (228,802), Co (228,802), Sb (231,146), Se (203,985) e V (311,837). As condições operacionais foram: para potência (1,3 kW), fluxo de gás de plasma (15,0 L min⁻¹), fluxo de gás auxiliar (1,5 L min⁻¹), fluxo de gás nebulizador (0,7 L min⁻¹) e sistemas pré-ópticos e o policromado (34 °C) purgados com argônio.

A curva analítica foi preparada em HNO₃ 2,0 mols L⁻¹. As concentrações dos analitos considerados microelementos Al, Cu, Fe, Mn, Mo, Sn, Sr e Zn, em mg L⁻¹, foram: 0,05; 0,10; 0,30; 0,50; 0,70; 1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00; 4,00. As concentrações dos analitos considerados macroelementos, foram obtidas para Mg, Na e P, em mg L⁻¹: 10,00; 50,00; 100,0; 150,0; 200,0; 300,0; 400,0; 500,0; 600,0; 800,0; 1000,0. E, para os elementos K e Ca, em mg L⁻¹, foram: 10,00; 50,00; 100,0; 150,0; 200,0; 300,0; 400,0; 600,0; 800,0; 1000,0; 1200,0.

4.4.1. Determinação da acidez e carbono orgânico dissolvido digeridos

A eficiência da digestão foi avaliada pela determinação do teor de carbono residual digeridos. Foram realizadas titulações ácido-base dos digeridos para determinar

a acidez final das amostras. A titulação foi realizada com uma solução padrão de hidróxido de sódio ($0,09983 \text{ mol L}^{-1}$) e fenolftaleína ($1,0 \% \text{ m v}^{-1}$ em etanol).

O carbono residual foi determinado empregando o ICP OES no comprimento de onda $193,027 \text{ nm}$.

4.4.2. Parâmetros de validação

Os principais parâmetros analíticos normalmente encontrados para validação de métodos são: linearidade, limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), precisão, exatidão (DARE *et al.*, 2015).

4.4.2.1. Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) é definido como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que um procedimento analítico específico pode detectar com segurança. Sendo também, definido como a concentração mínima na qual uma substância pode ser medida e declarada, a um determinado grau de confiança, de que a concentração do analito é maior que zero (SKOOG e NIEMAN, 2002).

O limite de quantificação (LOQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas, a um nível de confiança de 95 %. O valor de LOQ deve ser o primeiro ponto da curva de calibração, teoricamente (SILVA *et al.*, 2002).

No cálculo de LOD e LOQ, ao se utilizar ICP OES, deve-se considerar a concentração equivalente a radiação de fundo (BEC), definida como a concentração do analito que produz um sinal equivalente à intensidade de emissão de fundo para a linha medida, calculado a partir da razão sinal ruído (SBR), pois permite avaliar qualquer alteração nas condições operacionais (SCHIAVO *et al.*, 2005). O BEC, o LOD e LOQ são calculados usando conforme as equações a seguir:

$$\text{BEC} = C_{\text{padrão}} / \text{SBR};$$

$$\text{SBR} = (I_{\text{padrão}} - I_{\text{branco}}) / I_{\text{branco}}.$$

onde, $I_{\text{padrão}}$ e I_{branco} são as intensidades de emissão para o elemento de referência e soluções do branco, respectivamente, no comprimento de onda selecionado; $C_{\text{padrão}}$ é a concentração do elemento de referência na solução. Daí:

$$\text{LOD} = (3 \times \text{BEC} \times \text{RSD}_{\text{branco}}) / 100;$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{BEC} \times \text{RSD}_{\text{branco}}) / 100.$$

onde, RSD é o desvio padrão relativo para 10 medições da intensidade de emissão da solução do branco no comprimento de onda selecionado.

4.4.2.2. Precisão e exatidão

A precisão foi obtida através da avaliação da repetitividade do método, a partir do desvio padrão relativo (RSD) de um conjunto de medidas. A exatidão é a medida da aproximação entre o valor medido experimentalmente e o valor convencionalmente verdadeiro (SANTOS Jr *et al.*, 2016). Neste trabalho, a exatidão foi avaliada a partir do uso do material de referência certificado (CRM) - NIST 1570a: folhas de espinafre.

A precisão e exatidão das análises por ICP OES são consideradas suficientes para análises elementares em níveis traço. Mesmo na presença de interferências, modernas técnicas de compensação de sinal são utilizadas para realizar análises com notável precisão (geralmente menor de 1 %) (BOSS e FREDEEN, 1997).

4.5. Determinação de Compostos bioativos fenólicos e parâmetros de validação analítica

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica de separação físico-química no qual os componentes da amostra, a serem separados, são distribuídos entre a fase estacionária e a fase (SKALICKA-WOŹNIAK; GARRARD, 2014). O CLAE pode ser empregado para análises químicas quantitativa e qualitativa de diferentes compostos em uma grande variedade de matrizes, nas mais diversas áreas, sendo elas, química, forense, toxicológica, clínica e ambiental, para solucionar inúmeros problemas analíticos (DERNICK *et al.*, 2011).

Para preparar os extratos determinou-se a massa das amostras de PANC em triplicata, sendo de aproximadamente 0,5 g de cada planta. Adicionou-se 30 mL de metanol acidificado com 100 µL de ácido clorídrico concentrado e, em seguida agitou-se por 30 minutos em uma mesa agitadora (QUIMIS Q-225-M) a 100 rpm. Os extratos foram filtrados e concentrados em um evaporador rotativo (IKA RV 10) a 40 °C e 40 mbar. O material resultante foi solubilizado em 1,5 mL de metanol, armazenado a -20 °C e filtrado através de um filtro de seringa de Politetrafluoretileno - PTFE (0,45 µm). (SÁ *et al.*, 2018).

Após adquirir o extrato filtrado, no sistema do CLAE, foi realizado uma mistura binária na fase móvel com ácido acético (A) (v v⁻¹) e metanol (B). Configurou-se a taxa de fluxo para 10 mL min⁻¹, deixando a taxa de gradiente de 0 a 5 minutos, 100 % A; 5 a 10 minutos, 70 % A; 10 a 15 minutos, 10 % A; 15 a 17 minutos, 70 % A e 17 a 20 minutos,

100 % A. Em seguida, injetou-se 20 µL da amostra e manteve-se a temperatura de 40 °C no cromatógrafo.

O método empregado para separação, identificação e quantificação dos compostos ácidos fenólicos bioativos (ácidos caféico, clorogênico, elágico, ferúlico, gálico, p-cumarico, siríngico, transcinâmico e vanílico) e flavonoides bioativos (catequina, kaempferol e quercetina) foi desenvolvido por Sá e colaboradores (2018). Os dados foram analisados a partir do tempo de retenção e espectros de UV, para identificar e confirmar os picos e, calcular as concentrações dos bioativos fenólicos. Os comprimentos de ondas (nm) para cada ácido avaliado foram: 260 nm para os ácidos elágico e vanílico; 272 nm para ácido sérico; 280 nm para ácido ferúlico, ácido gálico, ácido transcinâmico e para catequina; 310 nm para ácido p-coumarico; 330 nm para ácidos clorogênico e cafeico; 360 nm para kaempferol, quercetina (PAWAR *et al.*, 2018).

O método foi validado em termos de linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão (teste de adição), efeitos da matriz e eficiência do processo. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram estimados experimentalmente através da injeção de soluções padrão diluídas em metanol até que a relação sinal/ruído para os padrões atingisse uma proporção de 3:1 para LOD e 10:1 para LOQ. A linearidade foi determinada pelos coeficientes de correlação das curvas analíticas geradas pelas injeções (triplicado) das soluções de trabalho em cinco níveis de concentração.

4.6. Perfil filogenético

A crescente quantidade de dados dos projetos do genoma exigiu bancos de dados de computadores que apresentassem rápida assimilação, formatos e programas de *software* de algoritmos para o gerenciamento eficiente de dados biológicos e, devido à natureza desses dados, não existe um único banco de dados abrangente para acessar todas essas informações. As informações fornecidas pela maioria desses bancos de dados são gratuitas para acadêmicos, embora alguns sites exijam assinatura e usuários industriais paguem uma taxa de licença para sites específicos. Para as análises do perfil filogenético, neste estudo, foi usado o banco de dados do Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia.

Em seguida, a ferramenta básica de pesquisa de alinhamento (BLAST), disponível em (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) foi aplicada. Este software algoritmo é capaz de pesquisar bases de dados de genes com a estrutura semelhante de nucleótidos e permite a comparação de uma sequência desconhecida de DNA ou aminoácido, com centenas ou

milhares de sequências de organismos humanos ou outros, até que uma correspondência seja encontrada (ALTSCHUL *et al.*, 1997).

Foram selecionados os dados que apresentaram *score* de identificação de 90 a 100 %, pois quanto mais elevado o valor do *score*, em princípio, o pareamento é melhor e o alinhamento apresenta melhor qualidade. Em seguida, para alinhar os dados encontrados das PANC foram usados os seguintes programas: BioEdit[®] 7.2, Clustal X[®] e o jModelTest. Para a criação a formação da árvore filogenética foi usado o Mega X[®] 10.1.

4.7. Obtenção dos extratos para atividade biológica e bioensaios

Os materiais vegetais foram, separadamente, submetidos à extração sucessiva pelo processo de maceração com o solvente etanol (Vetec[®] e Synth[®], grau analítico), com três trocas sucessivas, a cada 72 horas. Após cada etapa de extração, procedeu-se a separação da torta do solvente extrator através de filtração por gravidade. Posteriormente, os solventes foram removidos utilizando rotaevaporador sob pressão reduzida (IKA[®] RV 10 digital, IKA[®] HB 10 Basic), em temperatura de 30-55 °C, para obtenção dos respectivos extratos brutos.

A capacidade antimicrobiana e antifúngica dos extratos das plantas fora avaliada pelo Método de Microdiluição em Caldo (MDC), de acordo com as normas técnicas do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), antiga NCCLS com modificações (CLSI, 2003).

Para o preparo das soluções estoques, as amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido (DMSO). No final do experimento, as concentrações máximas testadas para os extratos foram de 50 µg mL⁻¹. Os testes antimicrobianos foram realizados contra as bactérias: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538); *Bacillus subtilis* (ATCC 6633); *Escherichia coli* (ATCC 94863); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853); e os fungos: *Candida albicans* (ATCC =18804) e *Candida glabrata* (CCT 0728).

A Concentração Mínima Inibitória (MIC) foi estabelecida a partir de uma placa de Elisa com 96 poços, onde se adicionou-se 100 µL do meio de cultivo: caldo nutriente, para bactéria e caldo de levedura e malte para os fungos. Em seguida, adicionou-se um volume 100 µL da solução estoque das amostras de PANC, conforme as concentrações dessas soluções, nos poços da fileira A, em triplicata, realizando a diluição seriada.

No poço A10, adicionou-se o antibiótico: benzilpenicilina (2,5 µg mL⁻¹ e 5,0 µg mL⁻¹) e cloranfenicol (25 µg mL⁻¹) para as bactérias Gram-positiva, Garamicina (20 µg mL⁻¹) para as bactérias Gram-negativa e ciclopirox olamina (50 µg mL⁻¹), para os fungos. O controle do diluente foi adicionado no poço A11. Para o controle negativo foi usado o

solvente usado no preparo das soluções estoques das amostras, preparados nas mesmas concentrações usadas para solubilização das amostras.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi realizada após o procedimento e leitura do MIC. Foram preparados meios de cultivos com ágar (respectivos para cada micro-organismo) com a finalidade de distribuir 20 mL, em cada placa de Petri. Após o resfriamento do meio de cultivo com ágar, cada placa foi submetida a um risco vertical (com o auxílio da espátula) na sua parte interna, sendo dividida em duas partes. As concentrações que inibiram o crescimento microbiano no procedimento do MIC, foram pipetadas em duas alíquotas de 10 µL, em cada poço das placas de Elisa. Em seguida, adicionados nas placas de Petri e espalhados com auxílio da alça de platina. Depois dessas etapas, as placas de Petri foram levadas para a incubadora pelo período de 72 h a 26 °C para o fungo e 24 h a 36 °C para as bactérias.

Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.8. Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram expressos como intervalo de confiança, no nível de 95 %. O software STATISTICA 10.0 (StatSoft® Inc., Tulsa, EUA) foi utilizado para avaliar a composição centesimal, multielementar e biofenolicas. O teste de Tukey (*honestly significant difference*) foi usado para testar diferenças entre as médias da amostra quanto à significância e foi utilizado para comparar as médias dentro de um delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 % de probabilidade (SHEWHART e STATISTICAL, 1986).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A realização das análises e a obtenção dos dados permitiram avaliar a composição centesimal das PANC estudadas e comparar com dados da TBCA, 2019. Ainda, foi possível quantificar os macros e micronutrientes das plantas, empregando a técnica ICP OES e, também, comparar com dados da TBCA, 2019. Ferramentas quimiométricas, PCA e HCA, foram empregadas para análise dos resultados por ICP OES. Além desses dados, foi possível identificar e quantificar bioativos fenólicos empregando a técnica de CLAE. Ainda, foi possível traçar o perfil filogenético das PANC, neste estudo, através da ferramenta básica de pesquisa de alinhamento (BLAST) e, finalmente, testar os extratos etanólicos dessas PANC frente à alguns microorganismos para avaliar seu poder citotóxico.

5.1. Análise da Composição centesimal

A composição nutricional das PANC foi determinada e os resultados estão apresentados na Tabela 3.

Ao aplicar o teste estatístico de Tukey, as plantas estudadas foram agrupadas por semelhança. Comparando a composição centesimal das plantas estudadas, as folhas de Hortelã grossa (*P. amboinicus*) apresentaram maiores teores de umidade, extrato etéreo (lipídeos). As folhas de Taioba (*X. sagittifolium*) mostraram o teor mais elevado de extrato nitrogenado (proteínas). Já, as folhas de Coentrão (*E. foetidum* L.) mostraram maiores teores de resíduo mineral fixo (cinzas) e extrato não nitrogenado (carboidratos). Ainda, de acordo com o Teste de Tukey, as folhas de Coentrão (*E. foetidum*) apresentaram valores comparáveis de extratos nitrogenado (proteínas) que a beldroega (*P. oleracea*), Língua de vaca (*T. paniculatum*), Erva de jabuti (*P. pellucida*), Alfavaca fina (*Ocimum basilicum*), Caruru (*A. viridis*) e Hortelã miúdo (*M. spicata*).

Através dos resultados obtidos, pode-se inferir que os teores de umidade (Água) mais elevados (> 94 %) foram observados para as folhas de Língua de vaca (*Talinum paniculatum* L.), Beldroega (*P. oleracea*), Erva de jabuti (*P. pellucida*) e Hortelã grosso (*P. amboinicus*), quando comparado às demais PANC. Já, as folhas de Coentrão (*E. foetidum*) e Alfavaca fina (*O. basilicum*), são semelhantes entre si e diferem das demais plantas. As demais PANC estudadas não apresentaram semelhança com nenhuma do grupo estudado. Os resultados obtidos nas análises demonstraram que as PANC analisadas, nesse estudo, mostraram teores de umidade entre 84,85 a 95,27 % em massa, sendo que as folhas de Hortelã grosso (*P. amboinicus*) e de Língua de vaca (*T.*

paniculatum) apresentaram maiores teores de umidade com 95,27 e 95,16 %, respectivamente.

Tabela 3 Composição centesimal das amostras de PANC analisadas ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$); valores médios (\pm RSD) de triplicata ($n=3$).

PANC	Teor de umidade (Água)	Resíduo mineral fixo (Cinzas)	Extrato etéreo (Lipídeos)	Extrato nitrogenado (Proteínas)	Extrato não nitrogenado (Carboidratos)
Flor chanana (<i>Turnera ulmifolia</i>)	90,66 ^c \pm 0,02	0,59 ^e \pm 0,12	0,31 ^{bc} \pm 0,02	1,44 ^b \pm 0,02	7,01 ^d \pm 0,35
Lingua de vaca (<i>Talinum paniculatum</i> L.)	95,16 ^a \pm 0,02	1,27 ^d \pm 0,02	0,54 ^b \pm 0,03	0,69 ^c \pm 0,02	2,34 ^g \pm 0,30
Beldoega (<i>Portulaca oleracea</i> L.)	92,75 ^b \pm 0,20	1,37 ^{cd} \pm 0,02	0,04 ^c \pm 0,02	0,65 ^c \pm 0,10	5,20 ^e \pm 0,15
Erva de jabuti (<i>Peperomia pellucida</i>)	94,71 ^a \pm 0,27	0,71 ^e \pm 0,02	0,04 ^c \pm 0,02	0,65 ^c \pm 0,07	3,88 ^f \pm 0,30
Afavaca fina (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	85,30 ^f \pm 0,05	1,94 ^b \pm 0,02	0,49 ^b \pm 0,07	0,61 ^c \pm 0,02	11,66 ^b \pm 0,30
Coentrão (<i>Eryngium foetidum</i> L.)	84,85 ^f \pm 0,05	2,41 ^a \pm 0,02	0,40 ^b \pm 0,05	0,54 ^c \pm 0,05	11,79 ^b \pm 0,22
Caruru (<i>Amaranthus viridis</i>)	88,20 ^e \pm 0,12	2,08 ^b \pm 0,07	0,10 ^c \pm 0,02	1,41 ^c \pm 0,02	8,20 ^c \pm 0,20
Taioba (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>)	90,77 ^c \pm 0,15	1,57 ^c \pm 0,02	0,51 ^b \pm 0,05	3,08 ^a \pm 0,52	4,07 ^f \pm 0,20
Horteã miúdo (<i>Mentha spicata</i>)	89,52 ^d \pm 0,05	1,89 ^b \pm 0,02	0,31 ^{bc} \pm 0,12	0,68 ^c \pm 0,02	7,60 ^{cd} \pm 0,50
Horteã grosso (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	95,27 ^a \pm 0,02	1,24 ^d \pm 0,05	0,99 ^a \pm 0,05	1,44 ^b \pm 0,7	1,06 ^a \pm 0,20

O teor de umidade é empregado para avaliar a estabilidade dos componentes alimentares, bem como a resistência microbiana (PIRMORADI *et al.*, 2013). Estudos realizados por García-Herrera e colaboradores (2014), com seis PANC: Dente-de-leão (*Taraxacum obovatum*), Leituga-branca (*Chondrilla juncea* L.), Serralha ou Chicória-brava (*Sonchus oleraceus* L.), Almeirão ou Chicória (*Cichorium intybus* L.), Cardo-de-ouro ou Cangarinha (*Scolymus hispanicus* L.) e Cardo-mariano ou Cardo-leiteiro (*Silybum marianum* L.) mostraram teores de umidade flutuando entre 71,8 a 93,8 %, concordando com os resultados deste estudo e, demonstrando que as plantas apresentam em sua composição altos teores de umidades.

Espera-se que o teor de umidade produza um efeito de diluição nos nutrientes, pois as plantas apresentaram elevados teores de umidade e reduzidos teores de lipídios,

proteínas, carboidratos e cinzas, quando comparados entre si. No entanto, as variações de umidade não são as únicas responsáveis pela alta variabilidade encontrada no conteúdo de nutrientes, dentro de cada espécie. Estudos indicam que a variabilidade da composição das plantas pode estar associada a múltiplos fatores, tais como temperatura, precipitação, exposição solar, composição do solo, estado de crescimento e interação de outras plantas ou animais no ecossistema (SCHERER *et al.*, 2016; GALABOVA *et al.*, 2014).

Um elevado teor de umidade implica que as PANC podem ter uma vida útil curta e elevada possibilidade de contaminação microbiana; contudo, fornece propriedades positivas, como palatabilidade e textura (PIRMORADI *et al.*, 2013). Entretanto, os mecanismos de sobrevivência dos microrganismos dependem da temperatura e das espécies. Além disso, as contaminações alimentares podem ocorrer em baixo teor de umidade, o que pode ser observada pela exposição ambiental, ou por manipulação inadequada (THILAKARATHNA *et al.*, 2013).

Nas PANC estudadas, o resíduo mineral fixo quantificado apresentou variação de 0,59 a 2,41 % em massa, sendo que as folhas de Coentrão (*E. foetidum* L.) e as folhas de Beldroega (*P. oleracea*), Erva de Jabuti (*P. pelúcida*) e as folhas de Coentrão (*E. foetidum*) mostraram maiores teores de cinzas. O resíduo mineral fixo é uma indicação da composição de minerais totais dos alimentos. Quando quantificados valores elevados desses resíduos, é sugerido que a planta é uma rica fonte de minerais, pois esses resíduos contém todos os ingredientes nutricionais importantes, especialmente, os minerais (KIBAR e TEMEL, 2016).

A quantificação dos resíduos minerais é importante e, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, os valores são adequados para uma dieta alimentar segura, corroborando com Tuzen e colaboradores (2018), que, ao quantificarem os resíduos minerais fixo de outras PANC: Cariru ou Beldroega-graúda (*Talinum triangulare*), Cabaça canelada ou Abóbora canelada (*Telfairia occidentalis*), Mamão Formosa ou Mamão papaia (*Carica papaya*) e Boldo, Boldo-bahiano ou Aluam (*Vernonia amygdalina*). Estes autores encontraram valores semelhantes aos achados no presente estudo. A diferença de resíduos minerais fixo nas plantas ocorre, principalmente, devido aos fatores genéticos, condições de crescimento, variação geográfica, diferença de métodos de análises e a fase de crescimento durante a coleta (BARROS *et al.*, 2017).

Ao agrupar as plantas pelo teor de extrato etéreo (lipídeos) os resultados demonstraram que a flores de Chanana (*T. ulmifolia*) e o Hortelã miúdo (*M. spicata*), Beldroega, e Erva de Jabutitem o teor de 0,04 % de lipídeos e as demais amostra > 0,3 %, exceto o Hortelã grosso (*P. amboinicus*), que diferiu de todas as plantas do grupo,

apresentando a maior concentração de lipídeos. Os extratos etéreos compreendem a fração solúvel em solvente orgânico e são também chamados de lipídeos (RYE *et al.*, 2014). Sua quantificação é importante devido ao valor energético que os alimentos contribuem para a dieta. Além disso, os lipídeos dietéticos melhoram e preservam os sabores dos alimentos. Entretanto, o excesso na ingestão desses lipídeos pode resultar em doenças cardiovasculares, câncer e envelhecimento (BOURGOIGNIE *et al.*, 2017).

De acordo com a Tabela 3, os valores dos extratos etéreos (lipídeos) das PANC em estudo foram de 0,04 a 0,99 %. Os valores reduzidos de lipídeos (cerca de 0,05 %) foram encontrados em folhas de beldroega (*P. oleracea*) e folhas de erva de jabuti (*P. pellucida*). Conforme discutido por Guil-Guerrero *et al.* (1998), que determinaram lipídeos em outras espécies de PANC, esta variação pode ser característica intrínseca de cada planta. Este fato está de acordo com um estudo de Morales *et al.* (2012), que mostraram uma distribuição diferente entre os ácidos graxos saturados e insaturados em duas espécies de Cardo (plantas pertencentes ao gênero *Cynara*, da família das Asteraceae), em comparação com outros vegetais folhosos.

Os extratos nitrogenados (proteínas) são fundamentais para o desenvolvimento das funções vitais dos animais (ERKAN *et al.* 2016). A presença de maiores teores de proteínas nas plantas aumenta seu valor nutricional (RIBEIRO *et al.*, 2018). Em geral, o conteúdo de proteínas, nas plantas, varia de acordo com cada espécie, além do clima e propriedades do solo (KIBAR e TEMEL, 2016). Em humanos, a deficiência de proteínas contribui para a baixa massa corporal, retardando o crescimento em crianças e deficiência de desenvolvimento durante a gravidez (HARDY *et al.*, 2015; KIBAR; TEMEL, 2016). As flores de Chanana (*T. ulmifolia*) e as folhas de Hortelã grosso (*P. amboinicus*) apresentaram teores de proteínas de 1,44 %, enquanto as demais 0,65 % exceto a Taioba (*X. sagittifolium*) com 3,08 %, que diferiu de todas as plantas apresentando maior concentração de proteínas.

Para as concentrações de carboidratos, as concentrações variaram de 1,06 % para as folhas de hortelã grosso (*P. amboinicus*) a 11,79 % para as folhas de Coentrão (*E. foetidum*) as demais folhas apresentaram variações entre si.

As folhas de Coentrão (*E. foetidum*) diferiram de todas as plantas do conjunto estudado, apresentando maiores teores de resíduos de minerais fixos (cinzas) e extrato não nitrogenado (carboidratos) em concordância com Caruru (*A. viridis*) e Alfavaca fina (*O. basilicum*), respectivamente. Logo, quando comparadas com as demais PANC estudadas, podem ser indicadas como uma fonte alternativa de nutrientes, sendo seu consumo indicado para indivíduos que necessite de ingestão de minerais e carboidratos.

As folhas de Beldroega (*P. oleracea*) por apresentarem maiores teores de proteínas, podem fazer parte da dieta proteica de indivíduos.

5.2. Análise Multielementar

Os minerais são responsáveis pelas funções estruturais que envolvem o esqueleto e tecidos moles e, por funções reguladoras, incluindo transmissão neuromuscular, coagulação sanguínea, transporte de oxigênio e atividade enzimática (MOGHAMES *et al.*, 2016). Com isso, são essenciais na nutrição humana, para o bem-estar mental e físico geral.

As concentrações de elementos potencialmente tóxicos nos alimentos dependem da rota pelos quais os alimentos são expostos aos elementos tóxicos (MENENDEZ-BACETA *et al.*, 2012). Esses elementos podem ser inseridos nos alimentos pelo meio ambiente em diferentes vias, como água, ar e solo contaminados. O acúmulo de elementos tóxicos, incluindo metais potencialmente tóxicos tais como Cd e Pb em alimentos, podem ser originados de fontes antropogênicas (BOURGOIGNIE *et al.*, 2017). No presente estudo, as concentrações de As, Cd, Co, Pd, Sb, Se e V empregando a técnica ICP OES, mostraram-se abaixo do limite de detecção.

As variações no conteúdo mineral das PANC estudadas podem estar associadas a fatores genéticos, condições de crescimento, variações geográficas, diferentes métodos analíticos e estágio de crescimento da planta durante a coleta, dentre outros fatores (MENENDEZ-BACETA *et al.*, 2012). As PANC estudadas apresentaram concentrações de minerais, em mg kg⁻¹, variando de 0,30 para o zinco e 34.509 para o potássio. A tabela 4 apresenta os valores de concentrações para macro e micronutrientes determinados por ICP OES, para as PANC estudadas. Ainda, a Tabela 5 foi construída visando comparar os valores obtidos com os valores de minerais recomendados para o consumo adulto (Tabela 5), a partir da dose diária de ingestão, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005).

Embora os efeitos do alumínio sobre a saúde humana não estejam definidos, (REZNIKOV *et al.*, 2014), a absorção de alumínio pode resultar em riscos para a saúde, pois este elemento está associado aos efeitos neurotóxicos, além da capacidade de produzir estresse oxidativo e de interromper as funções mitocondriais (SANTANGELO *et al.*, 2016).

De todas as PANC estudadas, as folhas de Coentrão (*E. foetidum*) e de Hortelã miúdo (*M. spicata*) apresentaram as maiores concentrações de alumínio sendo de 657 ± 27 e 487 ± 32 mg Kg⁻¹, respectivamente. Por outro lado, a flor de Chanana (*T. ulmifolia*)

apresenta o menor teor de alumínio com cerca de $122 \pm 4 \text{ mg Kg}^{-1}$. Vale ressaltar que a absorção de alumínio pelas plantas reflete o conteúdo do solo e água, resultante do ciclo deste elemento no vegetal (SATO *et al.*, 2014).

Os elementos sódio, potássio, cálcio, magnésio e fósforo são macronutrientes importantes para as plantas e seres humanos. As folhas de Beldroega (*P. oleracea*) foram as que apresentaram teores mais elevados de Na. As folhas de Coentrão (*E. foetidum*), Beldroega (*P. oleracea* L.) e Taioba (*X. sagittifolium*) foram as que mostraram os teores mais elevados de K ($> 30.000 \text{ mg Kg}^{-1}$). Os teores de potássio encontrados nas PANC podem indicar que as mesmas têm potencial contribuição na dieta alimentar, com cerca de 139 % a mais que a dose de 450 mg/dia considerada ideal para os seres humanos (Tabela 5). A manutenção da concentração do potássio entre o meio intracelular e o extracelular é de suma importância para a homeostase de eletrólitos e líquidos, regulando a transmissão neural, a contração muscular e os tônus vasculares (LEE *et al.*, 2010; GUMZ *et al.*, 2015).

Dentre todas as PANC estudadas, foi observado que a relação de sódio para potássio é inferior a 1, sendo adequada para reduzir a pressão arterial (GARCIA-ORTIZ *et al.*, 2012). Isto sugere, portanto, que essas plantas podem ser consumidas como suplemento dietético para pacientes hipertensos. O sódio está envolvido na manutenção da pressão osmótica dos fluidos corporais, irritabilidade dos músculos e permeabilidade celular (LEE *et al.*, 2013).

Tabela 4 Resultados de composição mineral (mg Kg⁻¹ e K %) obtidos nas amostras de PANC analisadas por ICP OES após procedimento de digestão ácida assistida por micro-ondas.

PANC	Concentração do elemento (mg Kg ⁻¹)											
	Al	Ca	Cu	Fe	K (%)	Mg	Mn	Na	P	Si	Sr	Zn
<i>Flor chanana</i> (<i>Turnera ulmifolia</i>)	122 ± 4	582 ^d ± 59	9,08 ^b ± 0,05	205 ^{cd} ± 76	13,90 ^e ± 0,17	828 ^g ± 26	18,21 ^{ef} ± 2,01	1107 ^g ± 170	2963 ^{cd} ± 390	189 ^e ± 64	25,56 ^g ± 3,31	31,69 ^{cd} ± 6,30
<i>Língua de vaca</i> (<i>Talinum paniculatum</i>)	434 ^b ± 9	1971 ^b ± 137	8,30 ^b ± 0,99	398 ^b ± 13	29,13 ^{abc} ± 0,08	157 ^a ± 13	84,96 ^a ± 11,84	5225 ^e ± 192	2549 ^d ± 57	518 ^b ± 28	87,49 ^{cd} ± 2,45	39,20 ^{bc} ± 1,62
<i>Beldroegra</i> (<i>Portulaca oleracea</i>)	225 ^d ± 3	14229 ^c ± 113	18,38 ^a ± 2,13	247 ^{cd} ± 21	34,50 ^a ± 0,02	1547 ^{ab} ± 65	40,5 ^c ± 3,43	23775 ^a ± 528	2535 ^d ± 249	268 ^{de} ± 6	100,72 ^{bc} ± 9,16	40,49 ^b ± 3,23
<i>Erva de jabuti</i> (<i>Peperomia pellucida</i>)	331 ^c ± 22	1403 ^c ± 165	10,90 ^b ± 0,81	269 ^c ± 35	15,56 ^{de} ± 0,13	1552 ^{ab} ± 9	31,96 ^d ± 5,76	11099 ^c ± 1644	3529 ^c ± 550	1695 ^a ± 70	62,18 ^f ± 9,31	72,31 ^a ± 7,12
<i>Alfavaca fina</i> (<i>Ocimum basilicum</i>)	135 ^e ± 10	1488 ^c ± 97	17,89 ^a ± 0,29	177 ^d ± 18	21,97 ^{bcd} ± 0,07	1445 ^{bc} ± 110	16,85 ^f ± 1,25	3378 ^f ± 180	3285 ^{cd} ± 128	230 ^e ± 17	66,21 ^{ef} ± 1,82	26,56 ^d ± 0,11
<i>Coentrão</i> (<i>Eryngium foetidum</i>)	657 ^a ± 27	1275 ^c ± 69	18,81 ^a ± 3,43	586 ^a ± 12	31,33 ^{ab} ± 0,14	1227 ^e ± 70	68,58 ^b ± 2,63	8881 ^d ± 160	4982 ^b ± 205	279 ^{de} ± 14	61,29 ^f ± 3,23	42,90 ^b ± 0,64
<i>Caruru</i> (<i>Amaranthus viridis</i>)	152 ^e ± 3	2184 ^b ± 70	11,34 ^b ± 0,69	250 ^{cd} ± 14	19,71 ^{cde} ± 0,07	1478 ^{abc} ± 17	23,74 ^{ef} ± 1,72	5374 ^e ± 174	6127 ^a ± 516	286 ^{de} ± 21	104,63 ^b ± 6,82	41,01 ^b ± 1,53
<i>Taioba</i> (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>)	137 ^e ± 6	1351 ^c ± 75	9,56 ^b ± 1,04	200 ^{cd} ± 12	30,33 ^{ab} ± 0,08	1096 ^f ± 15	24,28 ^e ± 1,41	1290 ^g ± 126	3239 ^{cd} ± 144	204 ^e ± 27	35,10 ^g ± 3,81	29,42 ^d ± 1,84
<i>Hortelã miúdo</i> (<i>Mentha spicata</i>)	487 ^b ± 32	145 ^c ± 101	16,41 ^a ± 1,79	238 ^{cd} ± 12	12,46 ^e ± 0,14	1302 ^{de} ± 13	72,29 ^b ± 3,22	13565 ^b ± 120	5753 ^{ab} ± 273	420 ^{bc} ± 107	79,48 ^{de} ± 1,24	0,30 ^e ± 0,01
<i>Hortelã grosso</i> (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	429 ^b ± 42	2828 ^a ± 248	16,08 ^a ± 0,60	354 ^b ± 22	24,47 ^{bcd} ± 0,06	1394 ^{cd} ± 33	24,35 ^e ± 2,13	10368 ^c ± 105	3777 ^c ± 395	365 ^{cd} ± 11	216,18 ^a ± 3,91	0,30 ^e ± 0,01

Tabela 5 Comparativo entre os dados encontrados com a tabela IRD de composição mineral (unidade) da Anvisa (BRASIL, 2010), obtidos nas amostras de PANC (Lingua de vaca, Hortelã Grosso, Alfavaca fina, Taioba, Caruru) analisadas por ICP OES após procedimento de digestão ácida assistida por micro-ondas.

PANC	EE	EN	ENN	Al	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Si	Sr	Zn
IRD (ANVISA, 2010)	0,077	0,075	0,3	0,33	1.000	0,9	14	0,705	260	2,3	2,4	700	ND	ND	7
Valores encontrados neste estudo (mg Kg ⁻¹)															
Lingua de vaca	0,31	1,44	7,01	434	1971	8,3	39,8	29,13	157	84,96	5225	2549	ND	87,49	39,2
Hortelã Grosso	0,99	1,44	1,06	429	2829	16,08	354	24,47	1394	24,35	10368	3777	ND	216	0,3
Alfavaca fina	0,49	0,61	11,66	135	1488	17,89	177	21,97	1445	16,85	3378	3286	ND	66,21	26,56
Taioba	0,53	3,17	4,2	137	1.396	9,61	204	30.568	1.069	25	1.314	3.358	ND	34,4	30,4
Caruru	0,1	1,41	8,2	152	2184	11,34	250	19,71	1478	23,74	5374	6127	ND	105	41,01
Dados de contribuição das PANC (em %), comparados com a tabela IRD de composição mineral da ANVISA BRASIL (2010).															
Lingua de vaca	402,60	1920,00	2336,67	131,52	197,10	922,22	284,29	4131,91	60,38	3693,91	217,71	364,14	ND	NI	560,00
Hortelã Grosso	319,35	100,00	15,12	98,85	143,53	193,73	889,45	84,00	887,90	28,66	198,43	148,18	ND	246,89	0,77
Alfavaca fina	49,49	42,36	1100,00	31,47	52,60	111,26	50,00	89,78	103,66	69,20	32,58	87,00	ND	30,65	885,33
Taioba	108,16	519,67	36,02	101,48	93,82	53,72	115,25	139,14	73,98	148,37	38,90	102,19	ND	51,96	1,14
Caruru	20,41	231,15	70,33	112,59	146,77	63,39	141,24	89,71	102,28	140,89	159,09	186,46	ND	158,59	1,54

EE: Extrato Etéreo; EN: Extrato nitrogenado; ENN: Extrato não nitrogenado; ND: não determinado

Desempenha um papel importante na manutenção de potenciais de membrana, transmissão de impulsos nervosos e também na absorção de monossacarídeos, aminoácidos, pirimidinas e sais biliares (AHMED *et al.*, 2014; LEE *et al.*, 2013). As folhas de Caruru (*A. viridis*) apresentaram os maiores teores de Ca ($2148 \pm 70 \text{ mg Kg}^{-1}$) e a Beldroega (*P. Oleracea*) $14229 \pm 70 \text{ mg Kg}^{-1}$. A partir dos resultados encontrados neste estudo, pode-se inferir que as folhas de Hortelã grosso (*P. amboinicus*) e de Caruru (*A. viridis*) são potenciais fontes de cálcio, um elemento útil na contração muscular; crescimento e manutenção dos ossos e dentes (PRAVINA *et al.*, 2013).

O fósforo é um mineral importante que auxilia a absorção de cálcio, que é necessário para o crescimento, manutenção dos ossos, dentes e músculos. O fósforo associado ao cálcio contribui para o reforço dos ossos e dentes, especialmente em crianças e mães que amamentam (WANG *et al.*, 2017). As folhas de Caruru (*A. viridis*) evidenciaram os maiores teores de P ($6127 \pm 516 \text{ mg Kg}^{-1}$).

A elevada ingestão de alguns minerais pode desencadear inúmeras reações inesperadas, como por exemplo, a demasiada ingestão de fósforo, que pode levar à hiperfosfatemia e, afetar consideravelmente a absorção de cálcio resultando em osteodistrofia. A grande ingestão de sódio e potássio pode implicar em variações da pressão arterial (LEE *et al.*, 2013; GARCIA-ORTIZ *et al.*, 2012). Devido à escassez de estudos que indique sobre os problemas da alta ingestão de minerais não foi possível descrever sobre os demais elementos identificados nas plantas.

Os teores de magnésio e fósforo variaram, significativamente, entre as espécies estudadas. O magnésio aumenta as funções das células beta, prevenindo o surgimento de diabetes e hipertensão (KOTLINSKA-HASIEC *et al.*, 2017). Tendo em vista que as concentrações de magnésio, em todas as PANC estudadas, foram superiores aos valores de ingestão diária recomendado pela Anvisa (2010), estas plantas podem ser consumidas e, portanto, ter um potencial benefício, ao auxiliar no combate a diabetes e hipertensão. Além disso, o magnésio tem sido implicado como necessário para uma série de reações enzimáticas, como metabolismo oxidativo de nutrientes, síntese de constituintes celulares, transmissão de impulsos nervosos, regulação da temperatura corporal, desintoxicação, produção de energia e formação de ossos e dentes fortes (BALANDA *et al.*, 2013; GODFRAY *et al.*, 2010).

O silício é um dos componentes majoritários do solo e, embora não seja considerado um elemento essencial para a maioria das plantas, conferem-nas maior resistência a estresses bióticos e abióticos (RIBEIRO *et al.*, 2011). As folhas de Erva de jabuti (*P. pellucida*) apresentaram maiores teores ($1695 \pm 70 \text{ mg Kg}^{-1}$) deste elemento quando comparada com as

demais PANC estudadas. Em humanos, o Si foi determinado como um nutriente essencial, pois funciona como um agente biológico de reticulação, contribuindo para a estrutura e resiliência do tecido conjuntivo. A deficiência de silício pode estar envolvida em várias doenças ou condições humanas, como a osteoartrite, hipertensão e o processo de envelhecimento (NIELSEN, 2014).

O estrôncio é um elemento abundante na crosta terrestre, sendo encontrado em quase todas as matrizes biológicas (REZNIKOV *et al.*, 2014). A Beldroega (*P. oleracea*), Hortelã Grosso (*P. amboinicus*) e o Caruru (*A. viridis*) apresentaram concentrações acima de 100 mg Kg⁻¹ deste elemento.

O cobre é importante para a saúde pois auxilia na coagulação sanguínea e no controle da pressão arterial, reticulação de tecidos conjuntivos em artérias, ossos e coração, defesa contra danos oxidativo, transformação de energia, mielinização do cérebro e medula espinhal, reprodução, e síntese de hormônios (CHOW e CHOW, 2013). O cobre está envolvido na eritropoiese, na função eritrocitária e na regulação da sobrevivência dos eritrócitos (ALTUNDAG *et al.*, 2011). As flores de Chanana (*T. ulmifolia*), Língua de vaca (*T. paniculatum* L.) e Taioba (*X. sagittifolium*) apresentaram reduzidos teores de cobre (entre 9,56 ± 1,04 e 8,30 ± 0,99 mg Kg⁻¹). Por outro lado, as folhas de Coentrão (*E. foetidum*), beldroega (*P. oleracea*) e Alfavaca fina (*O. basilicum*) mostraram as maiores concentrações para este elemento (18,81 ± 3,43, 18,38 ± 2,13 e 3,56 ± 1,04 mg Kg⁻¹). Os teores de cobre encontrados nas PANC foi cerca de 1067,78 e 2024,44 % a mais do que o recomendado pela Anvisa (2010), nas folhas de Taioba (*X. sagittifolium*) e nas folhas de Beldroega (*P. oleracea*) respectivamente (Tabela 4).

O teor de ferro variou de 586,12 ± 12 mg Kg⁻¹ para as folhas de Coentrão (*E. foetidum*) e 176,77 ± 18 mg Kg⁻¹ para as folhas de Alfavaca fina (*O. basilicum*). A quantidade de ferro encontrada, neste estudo, indica que as PANC podem ser consumidas como fonte suplementar de ferro na dieta, contribuindo com quase (Tabela 4) 1.457,14 e 1.778,57 % a mais do que o recomendado pela Anvisa (2005), para as folhas de Taioba (*X. sagittifolium*) e as folhas de Beldroega (*P. oleracea*), respectivamente. A deficiência de ferro é um problema nutricional comum que afeta muitas pessoas, em todo o mundo; principalmente, como resultado de sangramento crônico, infecções, ingestão inadequada, deficiências de ácido fólico, vitamina A ou vitamina B12, gravidez, aumento das necessidades durante períodos de crescimento e perdas menstruais em mulheres durante a idade reprodutiva (FIBACH e RACHMILEWITZ, 2017; THEIDEL *et al.*, 2017).

Para zinco, as folhas de Hortelã miúdo (*M. spicata*) e de Hortelã grosso (*P. amboinicus*) foram as espécies que apresentaram os menores teores deste mineral, com concentrações de $0,30 \pm 0,01 \text{ mg Kg}^{-1}$. O zinco é um elemento traço vital e desempenha um papel importante em vários processos celulares, incluindo crescimento normal, desenvolvimento cerebral, resposta comportamental, formação óssea e cicatrização de feridas. Além disso, é crucial no metabolismo de carboidratos e proteínas, armazenamento de vitamina A e síntese de ácidos nucleicos nas células. A deficiência de zinco está associada a doenças como a doença de Crohn, hipotireoidismo e algumas infecções virais. Tem sido relatado que o zinco estimula o sistema imunológico, ajuda na cicatrização de feridas, reduz o aumento da próstata e o estresse (AKHTAR, 2013; CORBO, 2013). O teor de zinco encontrado nas PANC foi de, aproximadamente, (Tabela 4) 434,29 e 578,57 % a mais do que o recomendado pela Anvisa (2010) nas folhas de Taioba (*X. sagittifolium*) e nas de Beldroega (*P. oleracea*) respectivamente.

As folhas de Língua de vaca (*T. paniculatum*) e de Hortelã miúdo (*M. spicata*) apresentaram maiores concentrações para Mn ($84,96 \pm 11,8$ e $72,29 \pm 3,2 \text{ mg Kg}^{-1}$), respectivamente. O manganês desempenha um papel crucial no crescimento e desenvolvimento do esqueleto e, também, funciona com a vitamina K na formação da protrombina. Atua como catalisador e cofator em muitos processos enzimáticos, envolvidos na síntese de ácidos graxos e colesterol, sendo também necessário para a síntese de mucopolissacarídeos e glicoproteínas (OMOTAYO *et al.*, 2018; DORMAN *et al.*, 2006). De acordo com os resultados obtidos, o teor de manganês nas folhas de Taioba (*X. sagittifolium*) podem contribuir com cerca de 1.086,96 % e nas folhas de Beldroega (*P. oleracea*) com 1.760,87 % a mais que o valor recomendado pela Anvisa (2010) (Tabela 4).

Dessa forma pode-se considerar que essas PANC se apresentam como fontes alternativas de nutrientes, quando comparado com os valores de minerais recomendados para o consumo adulto (Tabela 5), a partir da dose diária de ingestão, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em mg: cálcio (1000); potássio (4700); magnésio (260); sódio (1500); fosforo (1000); alumínio (7); cobre (0,9); manganês (2,3); estrôncio e zinco (7) e ferro (14) (ANVISA, 2010).

As PANC estudadas ao serem comparadas com a tabela da IRD da ANVISA (2010), apresentaram contribuição acima do recomendado variando de 0,77 a 4131,91 %. Na tabela 5 pode-se observar que a língua de vaca e a taioba contribuem em concentração de cálcio acima do recomendado (197,10 e 93,82 % respectivamente). Já para o magnésio a taioba contribui com 73,98 % e o hortelã grosso com 887,90 %. O hortelã grosso contribui com 0,77 % de zinco e a alfavaca fina com 885,33 %. Esses valores quando comparados com a tabela de IRD da

ANVISA (2010) apresentam concentrações de minerais superiores ao recomendado para o consumo, e, pode-se inferir que as PANC estudadas podem ser considerada como fonte suplementar e ou alternativa alimentar portenciais para a alimentação.

De acordo com Santos Júnior *et al.* (2016), a eficiência da digestão da amostra para a determinação de minerais por técnicas analíticas tal como o ICP OES, é um passo crítico, que afeta os resultados para determinações multielementares. Neste estudo, a eficiência da digestão foi avaliada a partir do teor de carbono residual (< 2.5%); pela determinação da acidez residual das digestões (< 3,0 mol L⁻¹); pela precisão (RSD <10%) e, através da exatidão, a partir da análise de material de referência certificado CRM/NIST 1570a – folhas de espinafre.

Os resultados obtidos para os testes de exatidão demonstraram concordância com os valores certificados do CRM/NIST 1570a – folhas de espinafre (Tabela 6), com valores de valores de recuperação na faixa de 94 a 102 %.

Tabela 6 Análise de folhas de espinafre (material de referência certificado CRM 1570a) pelo ICP OES (média ± desvio padrão, n = 3, nível de confiança de 95%).

Elementos	Valor Certificado*	Valor Observado (µg g ⁻¹)	Recuperação (%)
Cd	2,89 ± 0,07	2,72 ± 0,12	94
Cu	12,2 ± 0,60	12,3 ± 0,05	101
Mn	75,9 ± 1,90	75,6 ± 0,80	100
Ni	2,14 ± 0,10	2,12 ± 0,06	99
Zn	82,00 ± 3,00	83,7 ± 0,15	102

Na precisão, foram avaliados os valores de RSD e os mesmos se mostraram inferiores a 2 %, indicando que o método apresenta a boa precisão. Os valores de LOD e LOQ obtidos para os analitos determinados pelo ICP OES (Tabela 7) são comparáveis aos descritos na literatura. A linearidade foi avaliada por regressão linear e, uma boa linearidade foi obtida (Tabela 7) para todas as linhas observadas com coeficiente de correlação (R²) na faixa de 0,9995-0,9999.

As pesquisas realizadas no banco de dados da TBCA (2019), foram feitas com o objetivo de comparar os dados obtidos neste estudo, com os dados presentes na tabela supracitada. Entretanto, das plantas estudadas foram encontrados, na TBCA (2019), dados de apenas das folhas de Língua de vaca (*T. paniculatum*), Hortelã Grosso (*P. amboinicus*), Alfavaca fina (*O. basilicum*) e Taioba (*X. sagittifolium*), Caruru (*A. viridis*). Ao comparar os dados encontrados dessas PANC com os dados das folhas de alface (*L. Sativa*), selecionado aleatoriamente, na TBCA (2019), conforme a tabela 8, pode-se observar que as PANC apresentaram concentrações de minerais variáveis de 30 a 800 % a mais que a alface.

Tabela 7 Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para macro e microelementos determinados pelo ICP OES. Equação e coeficiente de determinação.

Elemento	Equação da reta	Coefficiente de determinação	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Alumínio	$y = 4651,8x + 66,319$	0,9997	0,037	0,124
Cálcio	$y = 4114,2x + 8154,8$	0,9960	0,083	0,280
Cobre	$y = 7189,3x + 235,16$	0,9992	0,006	0,020
Ferro	$y = 3268,4x + 155,65$	0,9985	0,992	3,308
Potássio	$y = 5761,8x + 1843,9$	0,9997	0,021	0,072
Magnésio	$y = 35258x + 3762,3$	0,9956	0,016	0,054
Manganês	$y = 18369x + 611,55$	0,9999	0,083	0,077
Sódio	$y = 3399x + 4833,5$	0,9954	0,059	0,195
Fósforo	$y = 308,21x + 99,384$	0,9999	1,259	4,197
Silício	$y = 327,38x - 43,011$	0,9956	0,517	1,723
Estrôncio	$y = 356486x + 29540$	0,9936	0,002	0,005
Zinco	$y = 7434,5x + 236,58$	0,9997	0,117	0,390

Tabela 8 Comparação entre a composição centesimal (umidade, em %; resíduo mineral fixo, extrato etéreo, extrato nitrogenado e não nitrogenado, em g) e multielementar (mg kg⁻¹) em PANC (taioba, língua de vaca, hortelã grosso, alfavaca fina e caruru) e e alimento convencional (alface), conforme dados extraídos da TBCA, (2019).

Composição	Taioba	Taioba	Língua de vaca	Língua de vaca	Hortelã Grosso	Hortelã Grosso	Alfavaca fina	Alfavaca fina	Caruru	Caruru	Alface
	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)	(B)	(A)
Umidade	83,0	90,77	95,4	95,16	85,6	95,27	90,2	85,30	87,6	88,22	96,4
Resíduo mineral fixo	1,03	1,57	1,20	1,27	2,03	1,24	1,42	1,94	2,62	2,08	0,56
Extrato etéreo	1,34	0,51	0,29	0,54	0,73	0,99	0,48	0,49	0,58	0,10	0,12
Extrato nitrogenado	3,65	3,08	1,62	0,69	3,29	1,44	2,66	0,61	3,20	1,41	1,08
Extrato não nitrogenado	7,69	4,07	1,48	2,34	8,40	1,06	5,24	11,66	5,97	8,20	0,00
Alumínio	NI	137	NI	434	NI	429	NI	135	NI	152	NI
Cálcio	1300	1351	6130	1971	2000	2829	2580	1488	4550	2184	37,5
Cobre	2	9,56	7,4	8,30	109	16,08	15	17,89	3,7	11,34	0,03
Ferro	24,3	200	249	398	119	354	126	177	446	250	0,75
Potássio	3700	3032	3970	29130	4580	24,47	2600	2197	2780	19707	311
Magnésio	377	1096	9150	157	630	1394	842	1445	1970	1478	12,7
Manganês	NI	24,28	NI	84,96	NI	24,35	NI	16,85	NI	23,74	NI
Sódio	14,8	1290	249	5225	300	10368	455	3378	137	5374	4,20
Fósforo	673	323	2220	2549	600	3777	497	3286	773	6127	26,0
Silício	NI	204	7,4	518	NI	365	NI	230	NI	286	NI
Estrôncio	NI	3510	NI	87,49	NI	21	NI	66,21	NI	105	NI
Zinco	8,1	29,42	44,2	39,20	NI	0,30	7,1	26,56	60,3	41,01	0,29

NI: não informado; A - encontrado na TBCA (2019); B – valores encontrados neste estudo

5.2.1. Análise multivariada dos dados

A avaliação de resultados empregando a Análise de Componentes Principais (PCA), permitem a redução da dimensionalidade do conjunto de dados, proporcionando uma análise estatística com menor número de variáveis, em que as principais informações são mantidas (TUZEN *et al.*, 2018). Tendências de separação e formação de grupos, correlações entre as variáveis e “outliers” podem ser visualizadas de uma forma mais simples e rápida quando a avaliação é feita empregando PCA (LATIF *et al.*, 2015). Dessa forma, em virtude do grande número de dados obtidos a partir da análise mineral das PANC a PCA foi empregada como ferramenta de análise estatística multivariada para avaliar os resultados de composição multielementar.

Como resultado desta análise multivariada, as três primeiras componentes principais (PC's) foram responsáveis por descrever 63,73% da variância total dos dados. A primeira PC apresentou 30,29%, enquanto a segunda PC apresentou 17,81% e a terceira PC 15,63% da variância total. Considerando as duas primeiras PC's, um gráfico de pesos foi gerado, sendo mostrado na Figura 1B. De acordo com análise desse gráfico, os elementos que apresentaram os maiores pesos na PC1 foram Al, Sr, Fe, Ca, Mn, Na, Mg e Cu; todos com pesos negativos, as quais foram as variáveis dominantes e, que contribuíram para a maior variabilidade dos dados nessa PC. Em relação à PC2, pode ser observado que Zn e Si foram os elementos que apresentaram os maiores pesos, ambos com valores negativos, sendo estas, as variáveis dominantes e, que contribuíram para a maior variabilidade dos dados para essa PC. Os valores dos pesos atribuídos para cada variável são apresentados na Tabela 9, considerando as três primeiras PC's.

Tabela 9 Valores dos pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais.

Variável	PC1	PC2	PC3
Al	-0,7890	-0,3071	0,4200
Ca	-0,6376	0,4358	-0,4133
Cu	-0,5730	0,2638	0,1427
Fe	-0,6853	-0,3747	0,4232
K	-0,3811	-0,0955	0,0314
Mg	-0,6053	-0,1656	-0,6620
Mn	-0,5859	-0,4502	0,4307
Na	-0,5983	-0,0870	-0,2732
P	-0,2966	0,1894	0,2839
Si	-0,0651	-0,6404	-0,5450
Sr	-0,6862	0,5274	-0,3644
Zn	0,1782	-0,8202	-0,3450
Variância total	30,29	17,81	15,63
Variância acumulada	30,29	48,10	63,73

Uma correlação pode ser estabelecida entre os pesos das variáveis (elementos) e escores dos objetos (PANC), de acordo com a análise dos gráficos de escores e pesos exibidos nas Fig. 1A e 1B, respectivamente. Assim, com base nesta correlação, hortelã grosso - *Plectranthus amboinicus* (Pa); coentrão - *Eryngium foetidum* L. (Ms); língua de vaca - *Talinum paniculatum* L. (Ro); hortelã miúdo - *Mentha spicata* (Ms) e beldroega - *Portulaca oleracea* L. (Po) foram as PANC que apresentaram os maiores teores de Al, Sr, Fe, Ca, Mn, Na, Mg e Cu, enquanto que as PANC alfavaca fina - *Ocimum basilicum* L. (Ob); flor de chanana - *Turnera ulmifolia* (Tu) e taioba - *Xanthosoma sagittifolium* (Xs) apresentaram os menores teores destes mesmos elementos, em relação à PC1. Considerando a PC2, as PANC erva de jabuti - *Peperomia pellucida* (Pp); coentrão - *Eryngium foetidum* L. (Ef) e língua de vaca - *Talinum paniculatum* L. (Ro) apresentaram os maiores teores de Zn e Si, enquanto que as outras PANC tiveram teores mais baixos destes dois elementos, de uma forma geral.

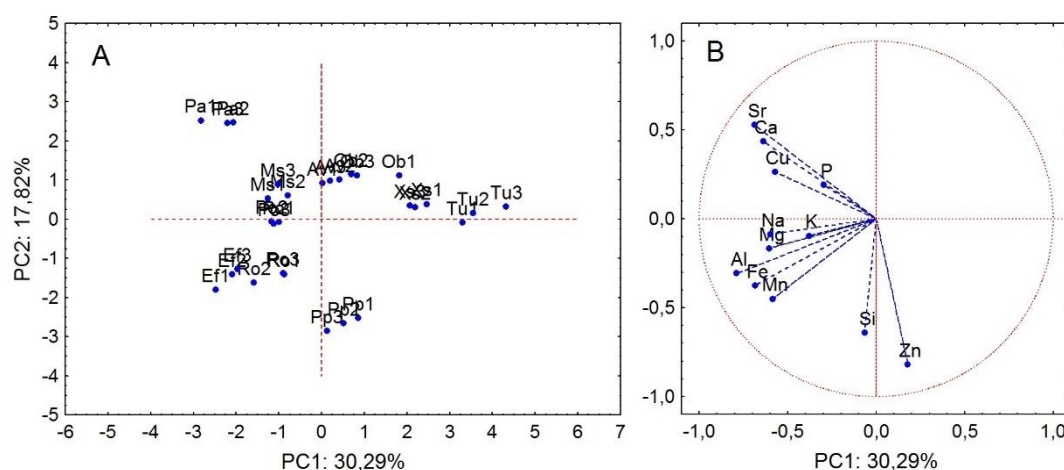


Figura 1 Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição mineral em PANC.

O HCA foi gerado pela distância euclidiana e pelo método de ligação simples. E os resultados foram obtidos através do dendrograma. As tendências de correlações observadas através do PCA foram confirmadas a partir do dendrograma criado com a aplicação do HCA, utilizando o método de Ward's com objetivo de obter a mínima variância entre os vetores que compõem cada grupo, e as distâncias euclidianas, para verificar as semelhanças entre amostras, cujo dendrograma obtido é mostrado na Figura 2, onde se observou a tendência de separação em dois grupos como demonstrado no PCA. A partir destes dados, conclui-se que as PANC: hortelã grosso - *Plectranthus amboinicus* (Pa); coentrão - *Eryngium foetidum* L. (Ms); língua de vaca - *Talinum paniculatum* L. (Ro); hortelã miúdo - *Mentha spicata* (Ms) e beldroega - *Portulaca oleracea* L. (Po) apresentaram os teores mais elevados de Al, Sr, Fe, Ca, Mn, Na, Mg e Cu, enquanto que *Ocimum basilicum* L. (Ob); flor de chanana - *Turnera ulmifolia* (Tu) e

taioaba - *Xanthosoma sagittifolium* (Xs) apresentaram os teores mais reduzidos destes mesmos elementos.

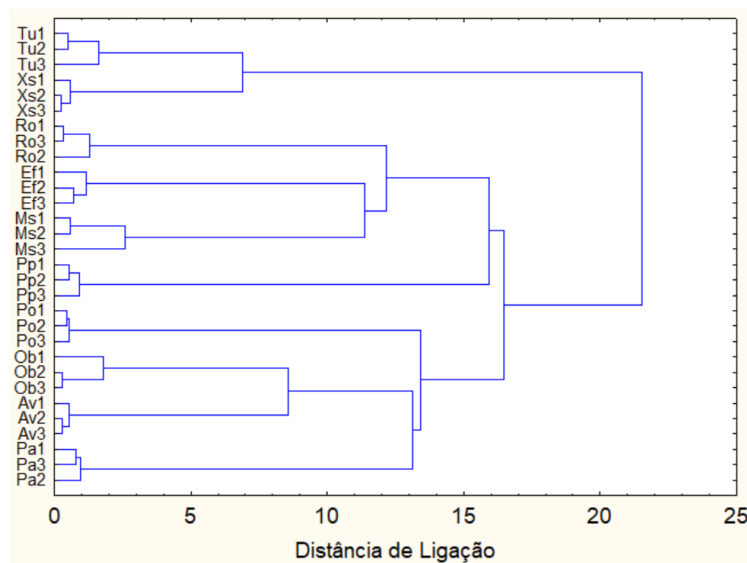


Figura 2 Dendrograma das amostras de PANC.

5.3. Determinação de Compostos bioativos fenólicos por CLAE

As PANC apresentaram variações de compostos fenólicos e flavonoides, na faixa de concentração de 1 a 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A linearidade foi mantida com $r = 0,9995$ (Tabela 10) e os coeficientes de correlação ($r > 0,99$) indicaram que todas as curvas de calibração apresentaram linearidade dentro dos intervalos de teste. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) para os compostos bioativos fenólicos, nos extratos finais, foi estimado através do desvio padrão e do coeficiente linear. A faixa de LOD e LOQ obtidos para ácidos fenólicos foi de 0,06–0,275 e 0,168 – 0,832 mg kg^{-1} e, para flavonoides, 0,082 – 0,134 e 0,248 - 0,405 - mg kg^{-1} , respectivamente, como pode ser observado na Tabela 10.

A precisão foi avaliada através do desvio padrão relativo (RSD, %) das medidas, que se apresentou abaixo de 0,3%. Foram obtidas a precisão intra (RSD <5%) e entre dias (RSD <8%). As curvas de calibração construídas foram consideradas satisfatórias, uma vez que os de (RSD) foram todos inferiores a 10 %. Os dados referentes aos parâmetros de validação analítica estão apresentados na Tabela 10.

Para garantir que não houvesse conteúdo de ácidos fenólicos bioativos e flavonoides nas amostras após a extração, o resíduo sólido inicial foi tratado com 100 μL de ácido clorídrico concentrado e solubilizado em 1,5 mL de metanol e, injetados no sistema CLAE e, nenhum pico em 4,5 min foi detectado. A recuperação média obtida ficou na faixa de 95,0 a 102,0 % para ácidos fenólicos bioativos e flavonoides, o que indicou a boa exatidão do método.

Tabela 10 Equação da reta, coeficientes de determinação, limites de detecção e quantificação para os compostos biofenólicos, em mg kg⁻¹, por CLAE.

Bioativos fenólico	Equação da reta	Coefficiente de determinação	LOD (mg kg ⁻¹)	LOQ (mg kg ⁻¹)
Ácido Vanílico	$y = 89113x - 1553,1$	0,9993	0,095	0,288
Ácido Elágico	$y = 17803x - 2862,7$	0,9994	0,275	0,832
Ácido Siringico	$y = 66621x - 1175,1$	0,9997	0,066	0,199
Ácido Gálico	$y = 54239x - 22464$	0,9968	0,254	0,770
Catequina	$y = 12726x - 417,86$	0,9995	0,082	0,248
Ácido Ferúlico	$y = 54238x + 1847,9$	0,9998	0,055	0,168
Ácido Trans-Cinâmico	$y = 149100x - 634,34$	0,9997	0,062	0,187
Ácido P-Cumárico	$y = 162544x + 812,95$	0,9997	0,061	0,185
Ácido Clorogenico	$y = 54804x - 809,04$	0,9996	0,071	0,216
Ácido Cafeico	$y = 106892x - 655,21$	0,9997	0,065	0,198
Quercetina	$y = 36322x - 3352$	0,9983	0,146	0,442
Kaempferol	$y = 32537x - 1657,3$	0,9986	0,134	0,405

Após realização das corridas, integrou-se os picos e, por cálculos matemáticos obteve-se os resultados. Nas análises utilizou-se o metanol como solvente orgânico e o pico foi simétrico, com tempo de retenção livre de interferências. No programa de gradiente selecionado, os fenólicos bioativos eluíram em 9,92; 11,20; 10,53; 13,75; 12,69; 6,53; 15,68; 12,39; 14,78; 11,55; 14,98 e 12,24 min para a catequina, ácido cafeico, ácido clorogênico, ácido elágico, ácido ferúlico, ácido gálico, kaempferol, ácido p-cumarico, quercetina, ácido seringa, ácido transcinâmico e vanílico, respectivamente. O espectro UV destes picos mostraram bandas, em diferentes comprimentos de onda, conforme mostra a Tabela 11. Estes dados sobre tempo de retenção e espectro de UV foram utilizados para identificar e confirmar os picos dos bioativos fenólicos. O Anexo II apresenta os cromatogramas obtidos para as PANC estudadas.

Os baixos valores de desvio padrão (< 2 %) obtidos sugerem que os resultados foram homogêneos para amostras em diferentes análises, demonstrando que o método desenvolvido obedeceu às figuras de mérito. De acordo com o teste de Tukey, conforme mostra a Tabela 12, as folhas de Hortelã grosso (*P. amboinicus*) apresentaram diferença significativa para a concentração média de ácido vanílico, ferúlico e cafeico e, as amostras obtidas de folhas de Hortelã miúdo (*M. spicata*) apresentaram diferenças para o ácido cafeico, trans-cinâmico e quercetina.

As folhas de taioba (*X. sagittifolium*) apresentaram diferença significativa para a concentração média do ácido siringico; as amostras de folha de caruru (*A. viridis*) para o ácido clorogênico; as de amostras de folha de língua de vaca (*T. paniculatum*) para o ácido cafeico; as flores chanana (*T. ulmifolia*) apresentaram diferença significativa para a concentração média

para o ácido gálico; as de amostras de folha de alfavaca fina (*O. basilicum*) para a catequina e kaempferol; as folhas de coentrão (*E. foetidum*) para o ácido elágico, gálico e ácido p-cumárico. Da mesma forma, as amostras de erva de jabuti (*P. pellucida*) apresentaram diferença significativa para a concentração média de ácido vanílico, sinrígico e cafeico.

Tabela 11 Comprimento de onda (nm) e tempos de retenção (min) dos biofenólicos.

Bioativos fenólico	Comprimento de onda (nm)	Tempo de retenção (min)
Ácido Elágico	260	13,756
Ácido Siringico	272	11,558
Ácido Gálico	280	6,539
Catequina	280	9,921
Ácido Ferúlico	280	12,692
Ácido Trans-Cinâmico	280	14,987
Ácido P-Cumárico	310	12,397
Ácido Clorogenico	330	10,538
Ácido Cafeico	330	11,202
Quercetina	360	14,789
Ácido Vanílico	260	11,247
Kaempferol	360	15,687

Esse estudo apresentou ineditismo, pois o conjunto de PANC e os biofenólicos analisados ainda não estão descritos na literatura, exceto para a Beldroega (*P. oleracea*) que se destacou das demais, por serem quantificados apenas os ácidos vanílico, p-cumárico e o ácido cafeico, com as concentrações de 5,10; 1,56 e 7,64 mg kg⁻¹, respectivamente e, para os demais fenólicos, as concentrações estavam abaixo do limite de detecção. Os dados obtidos neste estudo, corroboram com os achados de Erkan (2012), que analisou as frações de extratos de Beldroega (*P. oleracea*) empregando CLAE-DAD quanto aos seus teores de compostos fenólicos, usando compostos de referência padrão, a saber, ácidos clorogênico, cafeico, p-coumarico e ferúlico, encontrando as concentrações de 5,37; 7,98; 4,31 e 2,03 mg kg⁻¹, respectivamente. O autor não encontrou os flavonoides quercetina e kaempferol, nas amostras de Beldroega (*P. oleracea*) analisadas.

Tabela 12 Concentrações de Biofenólicos em (mg Kg⁻¹) determinados e quantificado em PANCpor CLAE (média ± SD, n = 3).

PANC	Ácido Vanílico	Ácido Elágico	Ácido Siringico	Ácido gálico	Ácido Ferúlico	Ácido Trans-cinâmico	Ácido p-cumárico	Ácido Clorogênico	Ácido Cafeico	Quercetina	Kaempferol	Catequina
Hortelã grosso (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	184 ^b ± 4,25	42 ^c ± 0,31	<LOD ^d	<LOD ^d	161 ^b ± 5,11	<LOD ^b	1 ^d ± 0,14	12 ^d ± 3,40	496 ^b ± 3,42	411 ^{cd} ± 15,47	11 ^b ± 0,95	16 ^b ± 1,63
Hortelã miúdo (<i>Mentha spicata</i>)	97 ^{cd} ± 10,11	37 ^c ± 1,44	<LOD ^d	<LOD ^d	950 ^a ± 61,68	3673 ^a ± 469,23	2 ^d ± 0,56	33 ^d ± 0,42	364 ^c ± 27,88	2042 ^a ± 339,17	157 ^{bc} ± 16,09	14 ^{bc} ± 2,39
Taioba (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>)	40 ^f ± 4,07	19 ^c ± 3,36	522 ^b ± 70,95	4 ^b ± 0,75	37 ^{cd} ± 4,06	<LOD ^b	20 ^c ± 0,79	18 ^d ± 1,62	379 ^c ± 94,98	5 ^d ± 0,54	3 ^{def} ± 0,21	3 ^{def} ± 0,35
Caruru (<i>Amaranthus viridis</i>)	2 ^g ± 0,42	7 ^b ± 0,16	5 ^{cd} ± 0,80	<LOD ^d	9 ^d ± 1,91	<LOD ^b	6 ^d ± 0,09	250 ^c ± 43,40	5 ^e ± 0,06	3 ^{cd} ± 0,66	9 ^{ef} ± 2,55	1 ^{ef} ± 0,13
Língua de vaca (<i>Talinum paniculatum</i>)	77 ^{de} ± 7,07	167 ^b ± 7,75	76 ^c ± 29,32	<LOD ^d	82 ^c ± 26,12	<LOD ^b	19 ^c ± 3,92	<LOD ^d	149 ^d ± 28,42	51 ^d ± 3,62	4 ^{ef} ± 0,15	2 ^{ef} ± 0,36
Flor de chanana (<i>Turnera ulmifolia</i>)	7 ^s ± 0,47	200 ^b ± 12,23	1 ^d ± 0,17	6 ^a ± 0,87	38 ^{cd} ± 2,87	74 ^b ± 0,75	74 ^b ± 2,39	<LOD ^d	7 ^e ± 2,61	22 ^{bc} ± 0,73	24 ^{de} ± 0,14	6 ^{de} ± 0,31
Alfavaca fina (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	123 ^c ± 8,11	139 ^b ± 10,55	<LOD ^d	<LOD ^d	<LOD ^d	175 ^b ± 16,34	3 ^d ± 0,87	347 ^b ± 3,37	397 ^{bc} ± 11,57	43 ^b ± 1,40	36 ^a ± 4,46	88 ^a ± 5,50
Erva de jabuti (<i>Peperomia pellucida</i>)	700 ^a ± 39,57	139 ^b ± 14,92	1042 ^a ± 24,87	<LOD ^d	<LOD ^d	<LOD ^b	24 ^c ± 0,12	6 ^d ± 1,07	819 ^a ± 99,40	<LOD ^d	<LOD ^{cd}	9 ^{cd} ± 1,35
Coentrão (<i>Eryngium foetidum</i>)	51 ^{ef} ± 2,50	1777 ^a ± 100,99	63 ^{cd} ± 4,33	1 ^c ± 0,01	41 ^{cd} ± 1,33	211 ^b ± 20,25	94 ^a ± 6,61	2147 ^a ± 11,09	<LD ^e	125 ^d ± 0,35	20 ^{bc} ± 0,74	13 ^{bc} ± 0,16
Beldroega (<i>Portulaca oleracea</i>)	5 ^g ± 0,61	<LOD ^c	<LOD ^d	<LOD ^d	<LOD ^d	<LOD ^b	1 ^d ± 0,30	<LOD ^d	8 ^e ± 2,24	<LOD ^d	<LOD ^f	<LOD ^f

A Tabela 12 mostra, ainda, que as folhas de Taioba (*X. sagittifolium*) e Coentrão (*E. foetidum*), bem como as flores de Chanana (*T. ulmifolia*) podem ser caracterizadas como plantas com elevados teores fenólicos dentro do conjunto das estudadas, com 12 compostos fenólicos determinados.

Nas plantas em estudo, observou-se que não há similaridade, para todos compostos analisados. Essa variação demonstrou que as PANC apresentam características químicas intrínsecas, apresentando variações nas concentrações quando comparadas às amostras de mesma planta, devido a fatores climáticos, solo e tempo de colheita (THILAKARATHNA *et al.*, 2015).

Os compostos fenólicos em alimentos e nutracêuticos são originários de uma das principais classes de metabólitos secundários em plantas, derivadas de fenilalanina e, em menor grau, em algumas plantas, derivadas também de tirosina (SANTANGELO *et al.*, 2016). Os fenólicos contribuem para a pigmentação de alimentos vegetais e, ainda, podem funcionar como: antibióticos, pesticidas naturais, substâncias sinalizadoras para o estabelecimento de simbiose com rizóbias (bactérias diazotróficas que fixam nitrogênio), atrativos para polinizadores, agentes de proteção contra a luz ultravioleta (UV), materiais isolantes para tornar as paredes das células impermeáveis ao gás e à água e, como materiais estruturais para fornecer estabilidade das plantas (DRAGAN *et al.*, 2015).

Os compostos fenólicos têm recebido crescente interesse nos últimos anos, uma vez que grande parte deles pode ser encontrada em plantas e, o consumo de vegetais com alta concentração desses compostos pode reduzir o risco de desenvolvimento de várias doenças devido ao seu poder antioxidante, entre outros fatores. Inúmeras propriedades estão associadas à presença e o tipo dos compostos fenólicos, como por exemplo, a adstringência dos alimentos, os efeitos benéficos à saúde e propriedades antinutricionais potenciais (HARRINGTON *et al.*, 2014).

Para avaliar a contribuição relativa de cada componente na variabilidade total dos biofenólicos, foi empregado o PCA e HCA. De acordo com os resultados aplicados, o PCA foi autoescalado em virtude das grandezas. Assim, as duas primeiras componentes principais foram responsáveis por 60% da variabilidade total dos dados. A interpretação da PCA é, frequentemente, realizada por análise gráfica das pontuações. Os gráficos obtidos representam a amostras em um sistema cartesiano, cujos eixos são os PCs.

De acordo com a Figura 3 foi possível observar uma tendência à separação dos níveis de processamento. Observou-se, no gráfico de peso, as variáveis: ácido trans-cinâmico (TCA), kaempferol (KEM) e quercetina (QUE), foram as dominâncias para a PC1, apresentando valores de peso negativo. Sendo responsável pela maior variabilidade

dos dados nessa PC. Para a PC2, as variáveis que foram responsáveis pela maior variabilidade dos dados foram: ácido clorogênico (AC), ácido vanílico (VA), ácido siríngico (AS) com pesos negativos, seguida das variáveis: ácido gálico (Ga), ácido P-cumárico (PCA), ácido elágico (CE) e ácido cafeico (CA), aos quais apresentaram peso positivo, demonstrando que essas variáveis se anticorrelacionam.

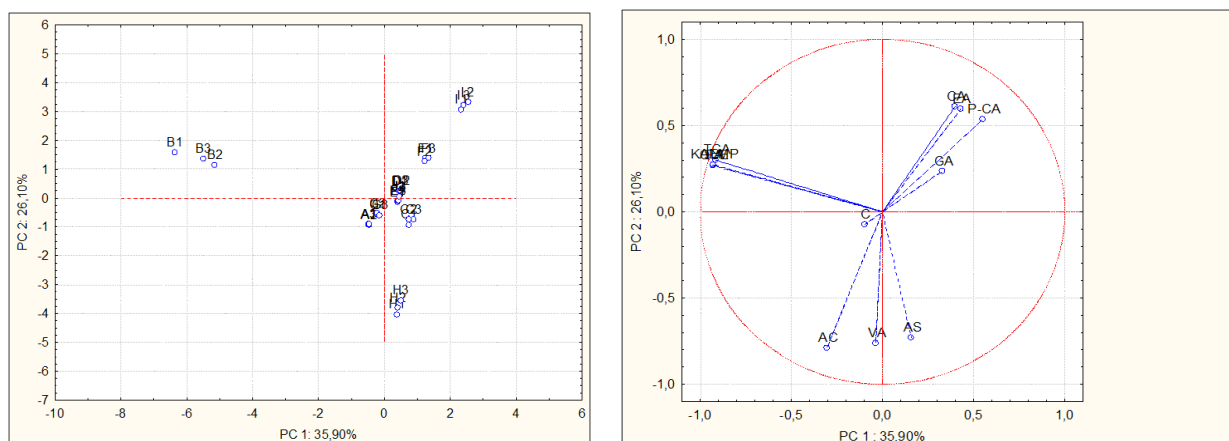


Figura 3 Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição biofenólicos em PANC.

A partir da análise do gráfico de escores, as amostras de Hortelã miúdo (*M. spicata*) apresentaram baixos valores de escore negativo, em relação a PC1, indicando que essas amostras apresentaram elevados valores de concentração de ácido trans-Cinâmico (TCA), kaempferol (KEM) e quercetina (QUE). Enquanto, que as amostras de Erva de jabuti (*P. pelúcida*) apresentaram baixos valores de escores em relação ao PC2, indicando que essas amostras têm altas concentrações de ácido clorogênico (AC), ácido vanílico (VA) e ácido siríngico (AS). Tendo em vista que as amostras de Coentrão (*E. foetidum*), apresentaram valores de escore significativo e positivo para a PC2, demonstrou-se que essas amostras possuem valores precisos das variáveis ácido gálico (Ga), ácido P-cumárico (PCA), ácido elágico (CE) e ácido cafeico (CA).

Em análise ao dendograma (Figura 4) observa-se a tendência de formação de dois grupos homogêneo, no qual o Hortelã miúdo (*M. spicata*) (B), encontra-se isolados das demais plantas corroborando com os dados encontrados no PCA.

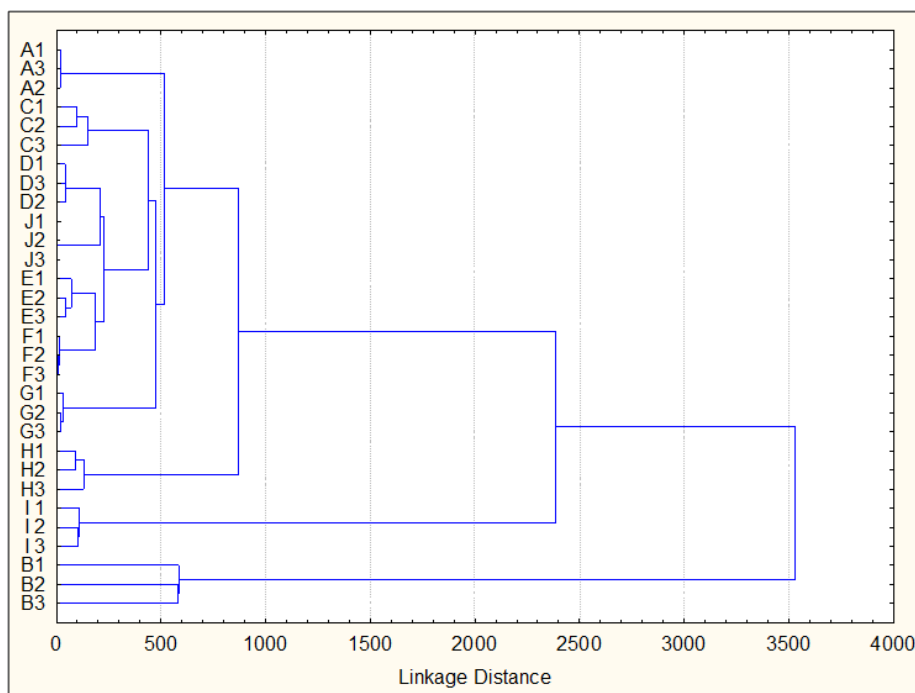


Figura 4 Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição biofenólicos em PANC.

5.4. Perfil filogenético

Após o tratamento dos dados, aplicando e explorando as ferramentas de bioinformática, observou-se a reunião por semelhança genômica das PANC, em estudos. Embora as ferramentas de bioinformática sejam, atualmente, aplicadas na biologia molecular, ainda, na literatura não foram encontrados estudos que correlacionassem um conjunto de PANC para traçar uma árvore filogenética. A criação de uma árvore filogenética, no presente estudo, auxilia no entendimento das semelhanças gênicas, através de ancestrais comuns.

De acordo com a árvore em formato de estrela e o fenograma pode-se perceber a tendência na formação de três grupos de ancestrais, no qual a Taioba, (*X. sagittifolium*) (EU886500.1) e a Erva de jabuti, (*P. pelúcida*) (MF287510.1) têm o ancestral comum e, mais recente, do que a Língua de vaca, *T. paniculatum* (JF508755.1). A Beldroega, (*P. oleracea*) (MK397889.1) e o Hortelã miúdo, (*M. spicata*) (MG256495.1) apresentaram um ancestral comum, porém muito distante. O Caruru, (*A. viridis*) (KT833346.1) e o Hortelã grosso, (*P. amboinicus*) (KC347565.1) apresentaram ancestral comum recente. Coentrão, (*E. foetidum*) (EU070438.1) e a Afavaca fina, (*O. basilicum*) (JF289049.1) apresentaram ancestral comum recente, enquanto que a Flor de Chanana, (*T. ulmifolia*) (JX662690.1) não apresentou ancestral comum.

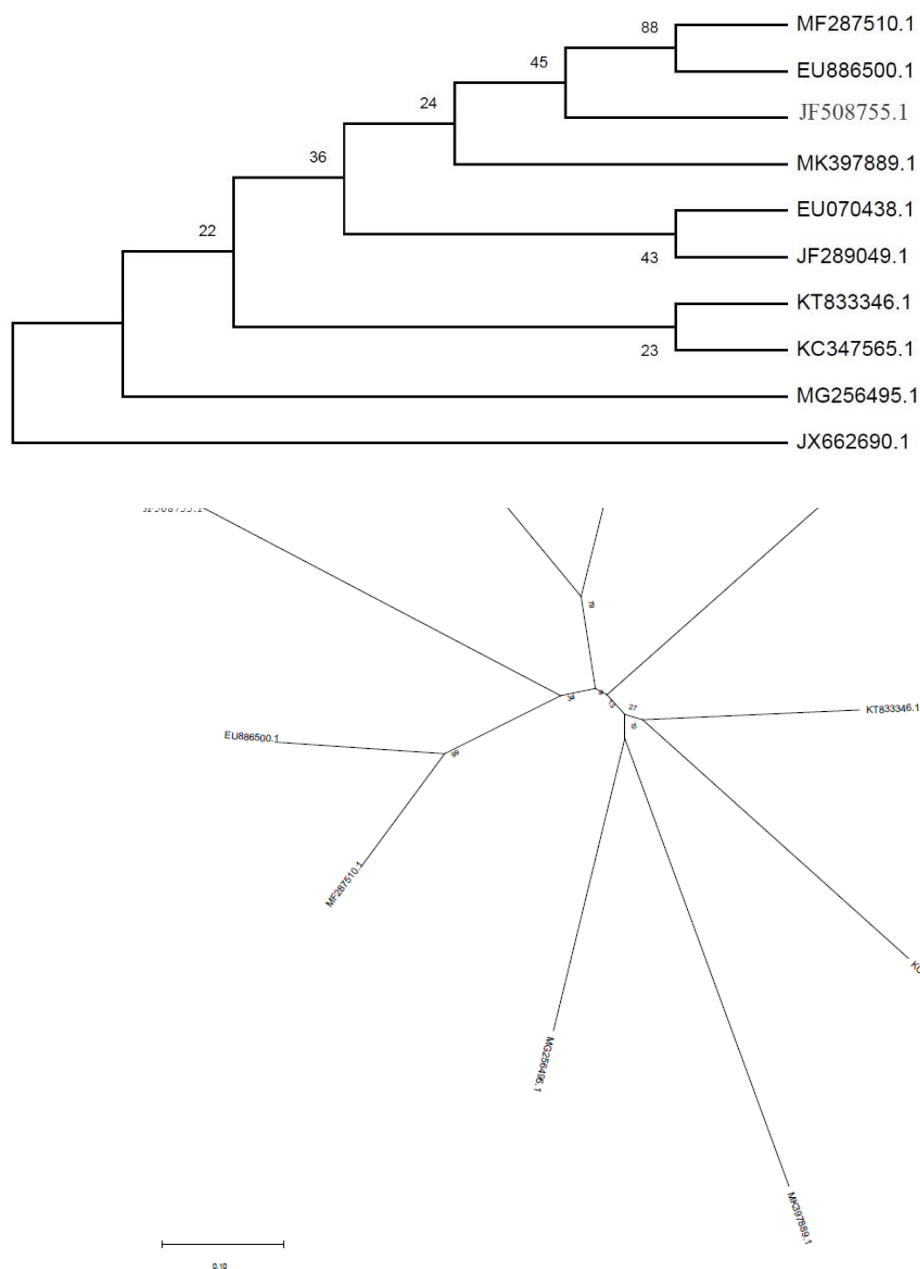


Figura 5 Árvores filogenética das PANC. (A) fenograma e (B) estrela. Erva de jabuti, *P. pellucida* (MF287510.1); Taioba, *X. sagittifolium* (EU886500.1); Língua de vaca, *T. paniculatum* (JF508755.1); Beldroega, *P. oleracea* (MK397889.1); Coentrão, *E. foetidum* L. (EU070438.1); Afavaca fina, *O. basilicum* (JF289049.1); Caruru, *A. viridis* (KT833346.1); Hortelã grosso, *P. amboinicus* (KC347565.1); Hortelã miúdo, *M. spicata* (MG256495.1) e Flor de Chanana, *T. ulmifolia* (JX662690.1).

5.5. Avaliação da atividade antimicrobiana

Os resultados obtidos demonstraram que os extratos etanólicos das PANC, na sua maioria, apresentaram alguma atividade antimicrobiana para bactérias e fungos (Tabela 13). O extrato de folhas coentrão (*E. foetidum*) apresentou atividade antimicrobiana para

a *B. subtilis* na concentração de 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$; já, o extrato das folhas de língua de vaca (*T. paniculatum*) apresentou atividade antimicrobiana para a *S. aureus* e *B. subtilis*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para as folhas de Beldroega (*P. oleracea*) e flores de Chanana (*T. ulmifolia*), os extratos apresentaram atividade antimicrobiana, nas concentrações de 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para *S. aureus* e *B. subtilis*. Ainda, o extrato de folhas de Caruru (*A. viridis*) apresentou atividade contra *S. aureus*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e, de Erva de jabuti (*P. pellucida*) apresentou atividade antimicrobiana para *E. coli* na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Tabela 12).

Adicionalmente, o extrato etanólico de flores de Chanana (*T. ulmifolia*) apresentou atividade antifúngica, na concentração de 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para a *C. albicans*. Os dados obtidos neste estudo corroboram com a literatura científica, pois em um estudo com extratos etanólicos brutos de Alfavaca fina (*O. basilicum*) foi observada inibição de 10 % do crescimento da *Candida albicans* na concentração de 1 mg mL^{-1} (AHMAD *et al.*, 2011).

Estudo com extratos etanólicos de Beldroega (*P. oleracea*) frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis* e *C. albicans*, mostraram atividade inibitória nas concentrações de 25.000 a 200.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (OLOYEDE, 2010). Ainda, Beldroega (*P. oleracea*) possui atividades antibacterianas, antifúngicas e antivirais. Estudos com extrato etanólico dessa planta mostrou atividade antibacteriana contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *B. subtilis* com halo de inibição de 14, 15, 13 e 14 mm, respectivamente; bem como atividade antifúngica contra *C. albicans* com zona de inibição de 12 mm (ELKHAYAT *et al.*, 2008). Estes dados são concordantes com o presente estudo, pois ao expor o *S. aureus* e *B. subtilis* ao extrato etanólicos da beldroega (*P. oleracea*), observou-se atividade bacteriostática e bactericida.

A concentração bactericida mínima (CBM) foi estabelecida após o procedimento da MIC. Foram utilizadas duas alíquotas de 10 μL das concentrações que inibiram o crescimento microbiano, em um novo meio de cultivo com ágar. Dessa maneira, foi possível compreender as concentrações que possibilitaram inibição bacteriostática/fungistática ou bactericida/fungicida, das bactérias e fungos testadas neste trabalho. Concentrações bactericidas são capazes de provocar a morte do agente infeccioso; porém, as concentrações bacteriostáticas não eliminam o agente infeccioso completamente, apenas inibem seu crescimento não permitindo a evolução do estado infeccioso (BEAUDOIN *et al.*, 2012). A Tabela 14, apresenta os resultados para as concentrações bactericidas/fungicidas mínimas (CBM), para os extratos de PANC estudadas.

Tabela 13.

Tabela 13 Avaliação (MIC), resultados obtidos para as PANC estudadas, a partir dos seus extratos etanólicos.

PANC	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>B.</i> <i>subtilis</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>P.</i> <i>auginosa</i>	<i>C.</i> <i>albicans</i>	<i>C.</i> <i>glabrata</i>
Coentrão (<i>Eryngium foetidum</i>)	>500	500	>500	>500	>500	>500
		250				
Beldroega (<i>Portulaca oleracea</i>)	500	500	>500	>500	>500	>500
	250	250				
Lingua de vaca (<i>Talinum paniculatum</i>)	500	500	>500	>500	>500	>500
Taioba (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>)	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Hortelã miúdo (<i>Mentha spicata</i>)	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Afavaca fina (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Erva de jabuti (<i>Peperomia pellucida</i>)	>500	>500	500	>500	>500	>500
Hortelã grosso (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	500	>500	>500	>500	>500	>500
Flor chanana (<i>Turnera ulmifolia</i>)	500	>500	>500	>500	500	>500
	250	>500			250	
Caruru (<i>Amaranthus viridis</i>)	500	>500	>500	>500	>500	>500
Benzilpenicilina		0,08				
Garamicina				1,25		
Ciprolorpox clamina					12,5	12,5

Os resultados demonstraram que o extrato etanólico de Coentrão (*E. foetidum* L.) apresentou atividade bactericida para *B. subtilis*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e bacteriostática na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Para Língua de vaca (*Talinum paniculatum*), o extrato apresentou atividade bactericida para *S. aureus* e *B. subtilis*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Tabela 14 Avaliação (CBM), resultados obtidos para as PANC estudadas, a partir dos seus extratos etanólicos.

PANC	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>B.</i> <i>subtilis</i>	<i>E.</i> <i>coli</i>	<i>P.</i> <i>auginosa</i>	<i>C.</i> <i>albicans</i>	<i>C.</i> <i>glabrata</i>
Coentrão (<i>Eryngium foetidum</i>)	-----	500 > 250	-----	-----	-----	-----
Beldroega (<i>Portulaca oleracea</i>)	500 > 250	500 250	-----	-----	-----	-----
Língua de vaca (<i>Talinum paniculatum</i>)	500	500	-----	-----	-----	-----
Taioba (<i>Xanthosoma sagittifolium</i>)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Hortelã miúdo (<i>Mentha spicata</i>)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Alfavaca fina (<i>Ocimum basilicum</i>)	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Erva de jabuti (<i>Peperomia pellucida</i>)	-----	-----	> 500	-----	-----	-----
Hortelã grosso (<i>Plectranthus amboinicus</i>)	500	-----	-----	-----	-----	-----
Flor chanana (<i>Turnera ulmifolia</i>)	500 > 250	-----	-----	-----	500 > 250	-----
Caruru (<i>Amaranthus viridis</i>)	> 500	-----	-----	-----	-----	-----

Os extratos de folhas de beldroega (*P. oleracea*) e flor de chanana (*T. ulmifolia*) apresentaram atividade bactericida, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, para *S. aureus* e bacteriostática, na concentração de 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Esta PANC, também, mostrou-se bactericida para *B. subtilis*, nas concentrações de 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O extrato de folhas de Caruru (*A. viridis*) apresentou-se bactericida contra *S. aureus*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o de erva de jabuti (*P. pellucida*) apresentou-se bactericida frente a *E. coli*, na concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Além disso, o extrato de flores chanana (*T. ulmifolia*) apresentou-se fungicida e fungioestático, nas concentrações de 500 e 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente, para *C. albicans*.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos com PANC são oportunos e importantes para a sociedade, por fornecer dados da composição química, nutricional e biológica dessas plantas, que são consumidas como alternativa alimentar. No presente estudo, observou-se que, a maioria das PANC estudadas apresentaram, na sua composição, elevadas concentrações de nutrientes minerais, podendo ser inseridas na dieta diária, como por exemplo, a Taioba (*X. sagittifolium*), que apresentou elevadas concentrações de cálcio e a Beldroega (*P. oleracea*), rica em potássio ($34504 \pm 185 \text{ mg Kg}^{-1}$). Além disso, os dados mostraram que as PANC são fontes de compostos biofenólicos, variando de $1,09 \pm 0,17 \text{ mg Kg}^{-1}$ para o ácido siríngico, nas flores de Chanana (*T. ulmifolia*) a $1042 \pm 25 \text{ mg Kg}^{-1}$ para o ácido clorogênico, nas folhas de Coentrão (*E. foetidum* L.). Tais dados servem de base para os profissionais da saúde e químicos, bem como para a sociedade, em geral, como melhor entendimento sobre a composição centesimal, mineral e de metabólitos secundários dessas plantas.

O emprego das metodologias e técnicas de análises químicas, na determinação dos constituintes dessas plantas, como o ICP OES e CLAE foram cruciais, pois apresentaram alta sensibilidade, baixos limites de detecção e quantificação, além de boa especificidade. A partir dos resultados obtidos, pode-se inferir que as técnicas empregadas no estudo geraram dados confiáveis, pois, ao analisar as figuras de méritos percebeu-se que estes estavam dentro dos padrões analíticos.

Essa pesquisa tem característica de ineditismo, pois pesquisas com as PANC abordadas aqui são escassas, na literatura científica. Por exemplo, para o Coentrão (*E. foetidum*) não foram encontrados dados que sejam relacionados ao presente estudo. Portanto, esta proposta de trabalho, além de contribuir com os dados para a sociedade, pode contribuir com a TBCA, pois os dados apresentados na tabela ainda são escassos, no que se refere às PANC; apenas, a Beldroega (*P. oleracea*) e a Taioba (*X. sagittifolium*) constam nesta importante fonte de consulta.

O emprego das ferramentas da bioinformática ainda não foi descrito na literatura com estudos que relacionem a ancestralidade de PANC, embora existam, no banco de dados do BLAST, os sequenciamentos genômicos de inúmeras plantas. Não foi observado nenhum estudo na literatura com a proposta de traçar o perfil filogenético das PANC estudadas.










Os dados referentes aos estudos de suscetibilidade antimicrobiana com os extratos etanólicos dessas PANC mostraram potencialidades, pois, em baixas concentrações, foi

observado a atividade bactericida de algumas espécies, sendo, portanto, indicado seu potencial uso para a citotoxicidade dessas bactérias e fungos.

Neste contexto, o estudo contribuiu para o crescimento acadêmico dos envolvidos, para a ciência e tecnologia do Estado da Bahia e do país, bem como, para a sociedade, em geral, por apresentar dados importantes acerca das PANC, sendo um ponto de partida o consumo “seguro” das plantas estudadas, contribuindo como fonte alternativa de nutrientes para a dieta diária das pessoas.

APÊNDICE I.

Identificação botânica das PANC por comparação com a caracterização descrita em revisões taxonômicas e literatura botânica científica (atlas botânicos e fotos das espécies).

Fotos das PANC estudadas (Imagens do autor)	Imagens descrita em revisões taxonômicas	Imagens Atlas of Florida Plants (<i>Institute for Systematic Botany</i>).
 <p data-bbox="277 1048 619 1077"><i>Caruru (Amaranthus viridis)</i></p>	 <p data-bbox="719 1048 1061 1077"><i>Caruru (Amaranthus viridis)</i></p>	 <p data-bbox="1161 1048 1503 1077"><i>Caruru (Amaranthus viridis)</i></p>
 <p data-bbox="252 1541 651 1570"><i>Coentrão (Eryngium foetidum L.)</i></p>	 <p data-bbox="692 1541 1091 1570"><i>Coentrão (Eryngium foetidum L.)</i></p>	 <p data-bbox="1134 1541 1533 1570"><i>Coentrão (Eryngium foetidum L.)</i></p>
 <p data-bbox="256 2040 639 2069"><i>Hortelã miudo (Mentha spicata)</i></p>	 <p data-bbox="699 2040 1080 2069"><i>Hortelã miudo (Mentha spicata)</i></p>	 <p data-bbox="1139 2040 1520 2069"><i>Hortelã miudo (Mentha spicata)</i></p>



Alfavaca fina (*Ocimum basilicum*).



Alfavaca fina (*Ocimum basilicum*).



Alfavaca fina (*Ocimum basilicum*).



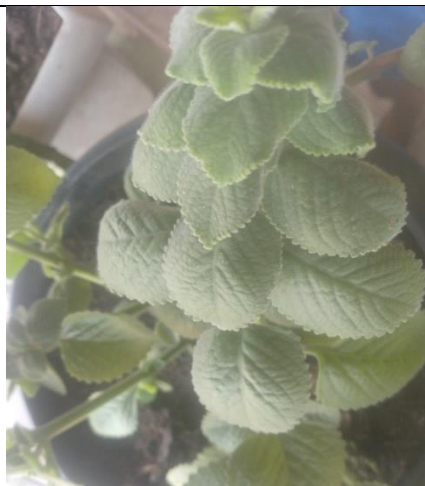
Erva de Jabuti (*Peperomia pellucida*).



Erva de Jabuti (*Peperomia pellucida*).



Erva de Jabuti (*Peperomia pellucida*).



Hortelã Grosso (*Plectranthus amboinicus*).



Hortelã Grosso (*Plectranthus amboinicus*).



Hortelã Grosso (*Plectranthus amboinicus*).



Beldroega (*Portulaca Oleracea*).



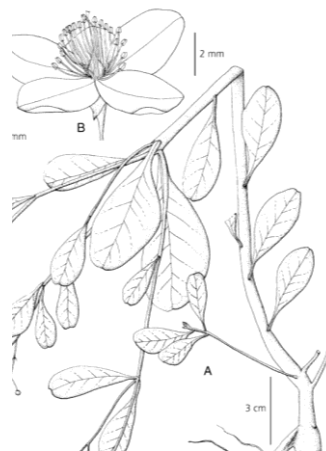
Beldroega (*Portulaca Oleracea*).



Beldroega (*Portulaca Oleracea*).



Língua de vaca (*Talinum paniculatum*).



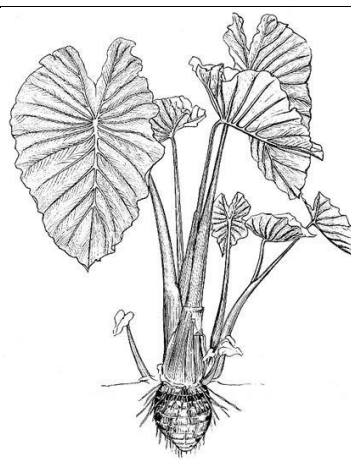
Língua de vaca (*Talinum paniculatum*).



Língua de vaca (*Talinum paniculatum*).



Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*).



Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*).



Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*).



Chanana (*Turnera ulmifolia*).



Chanana (*Turnera ulmifolia*).



Chanana (*Turnera ulmifolia*).

APÊNDICE II.

Cromatogramas das PANC estudadas: Preto (língua de vaca); rosa (taioba); azul (hostelã miúdo); verde (hortelã grosso); vermelho vinho (afavaca fina); laranja (coentrão); roxo (erva de jabuti); cinza (flor chanana); azul petróleo (caruru); marrom (beldroega).

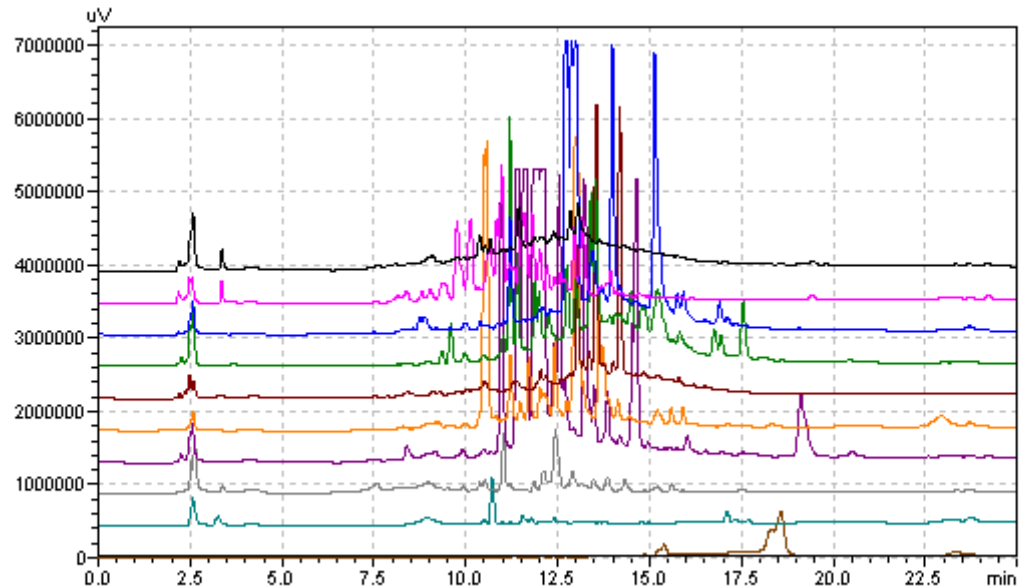


Figura 5. Cromatograma das plantas estudadas: Preto (língua de vaca); rosa (taioba); azul (hostelã miúdo); verde (hortelã grosso); vermelho vinho (afavaca fina); laranja (coentrão); roxo (erva de jabuti); cinza (flor chanana); azul petróleo (caruru); marro (beldroega).

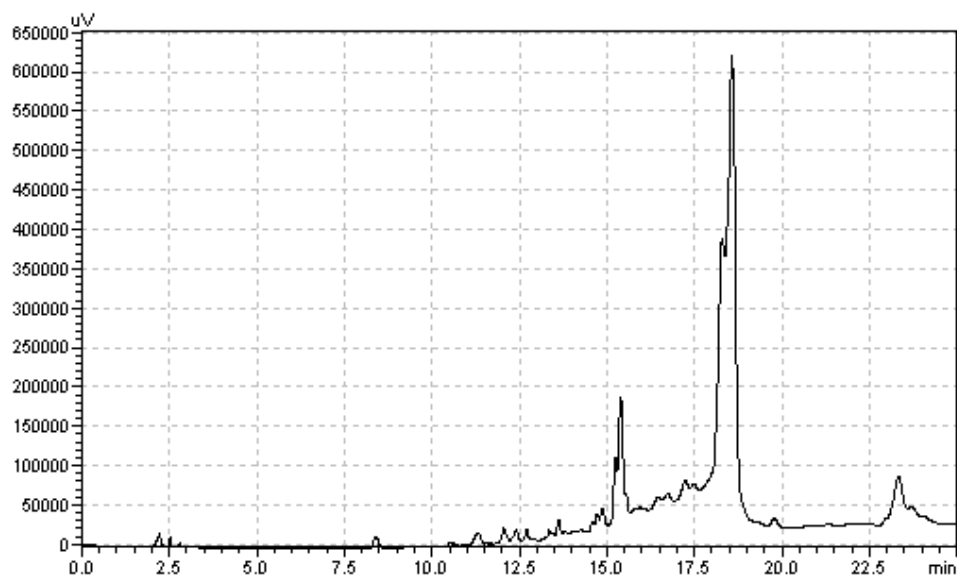


Figura 6. Cromatograma Beldroega – (*Portulaca oleracea*)

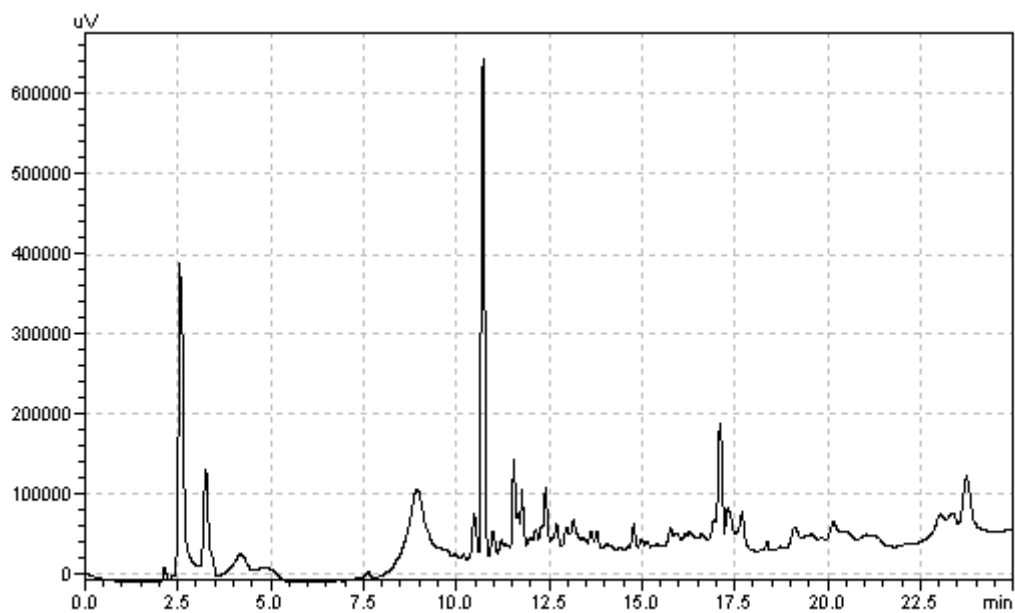


Figura 7. Cromatograma Caruru (*Amaranthus viridis*)

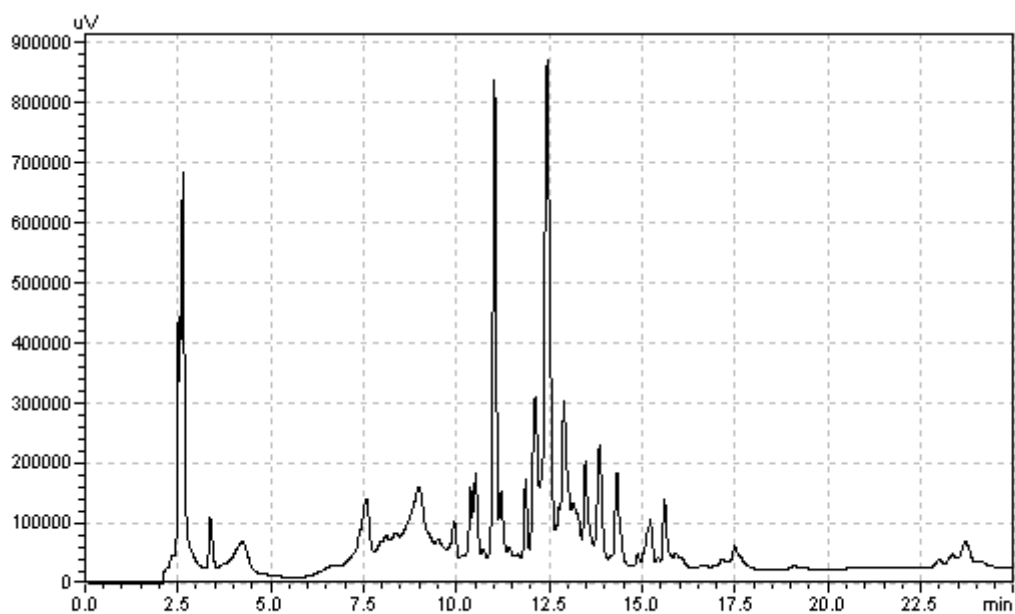


Figura 8. Cromatograma Flor chanana (*Turnera ulmifolia*)

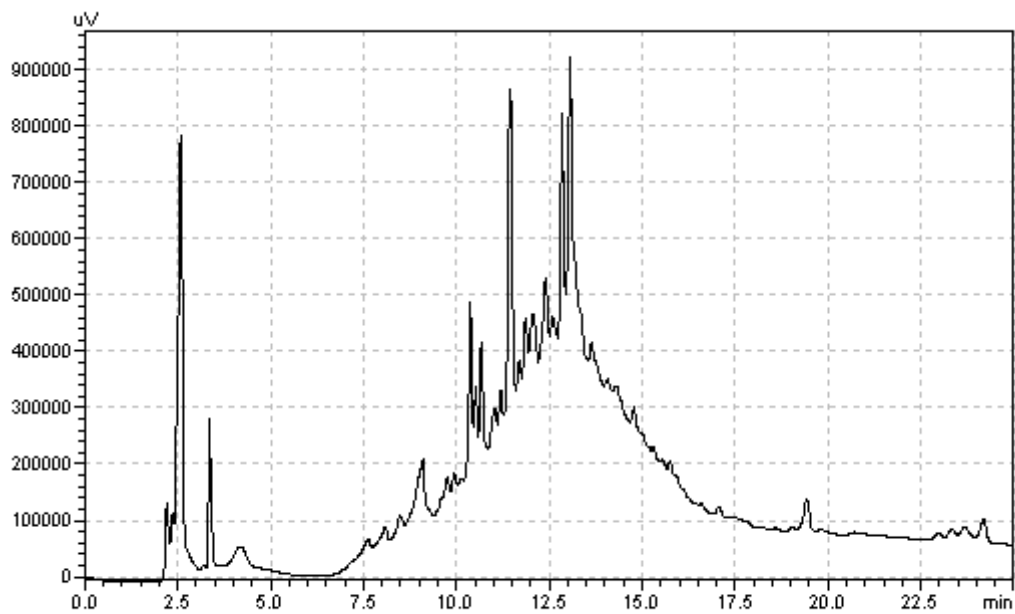


Figura 9. Cromatograma Lingua de vaca (*Talinum paniculatum*)

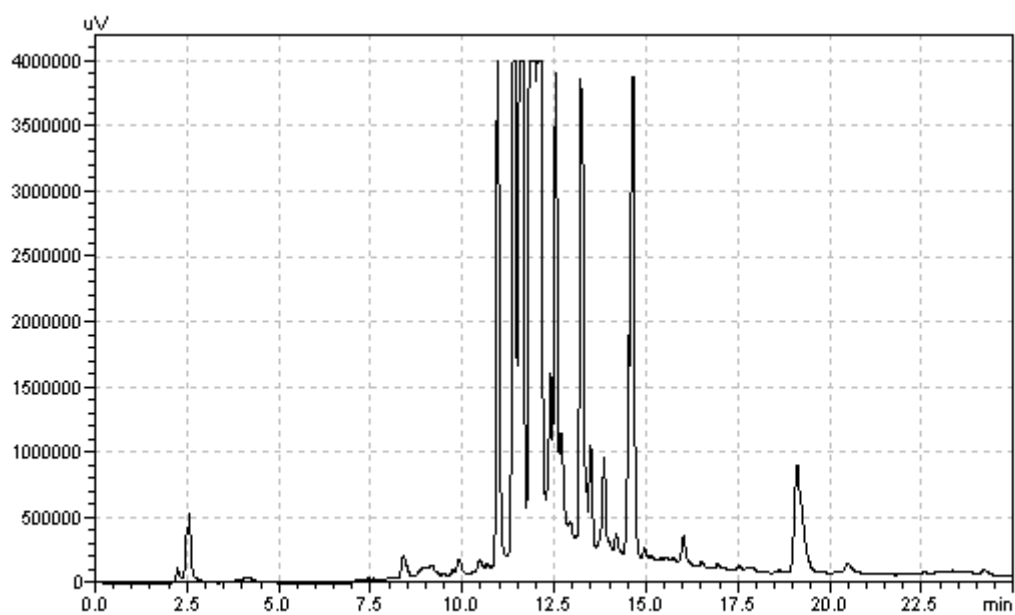


Figura 10. Cromatograma Erva de jabuti (*Peperomia pellucida*)

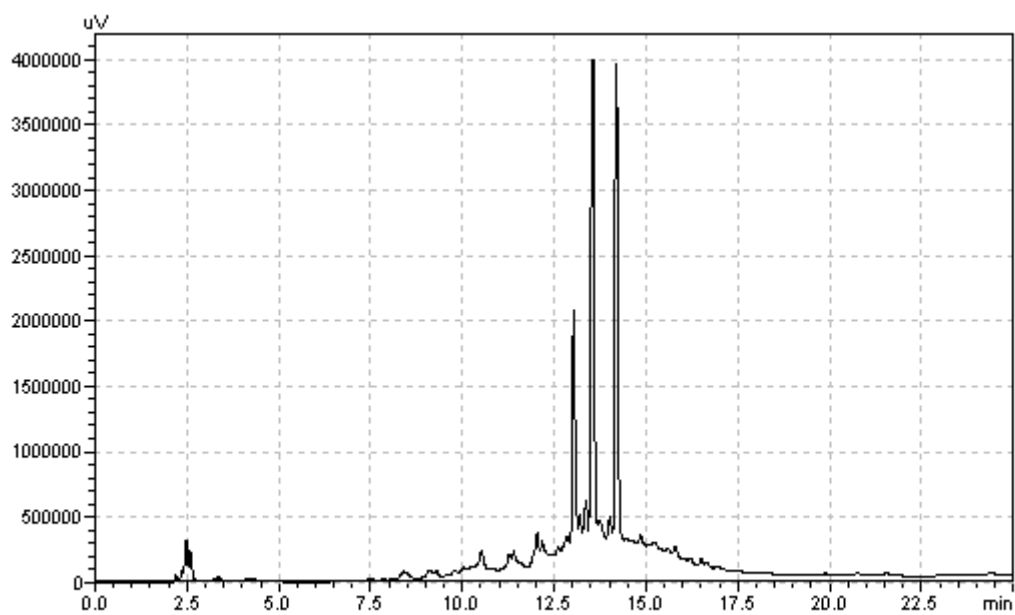


Figura 11. Cromatograma Afavaca fina (*Ocimum basilicum*)

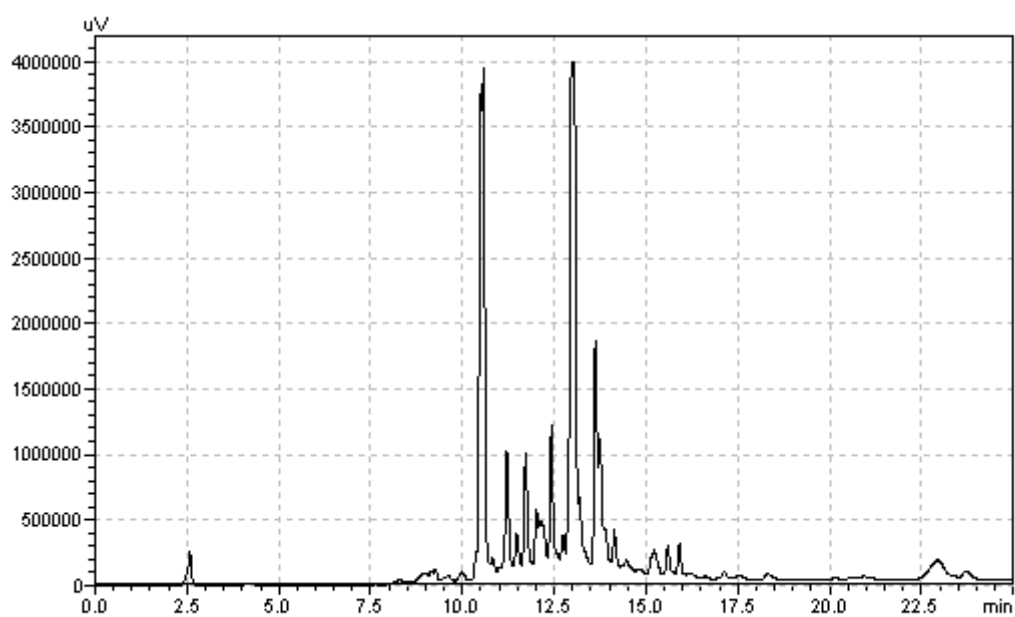


Figura 12. Cromatograma Coentrão (*Eryngium foetidum*)

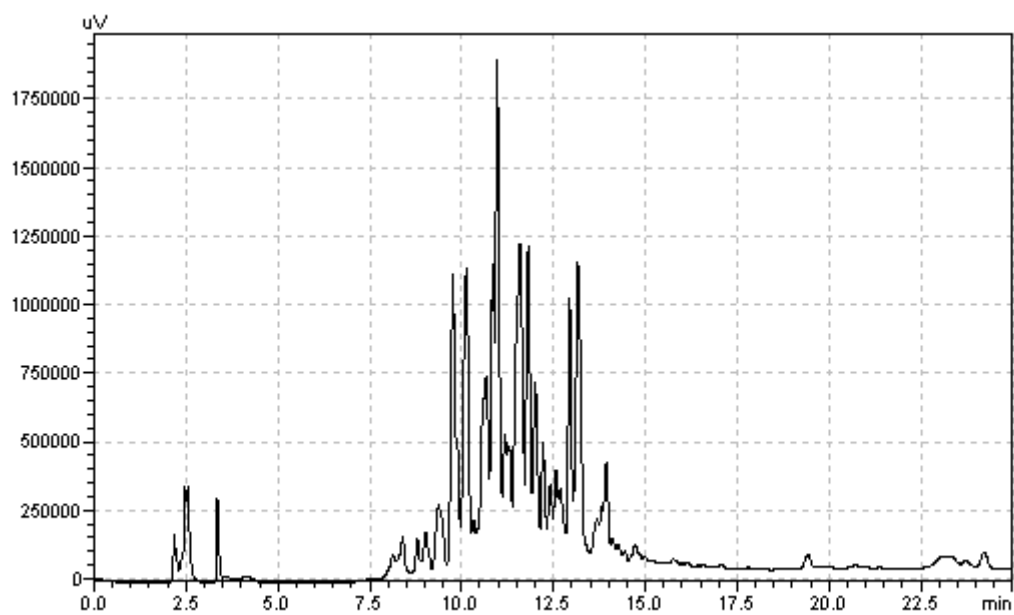


Figura 13. Cromatograma Taioba (*Xanthosoma sagittifolium*)

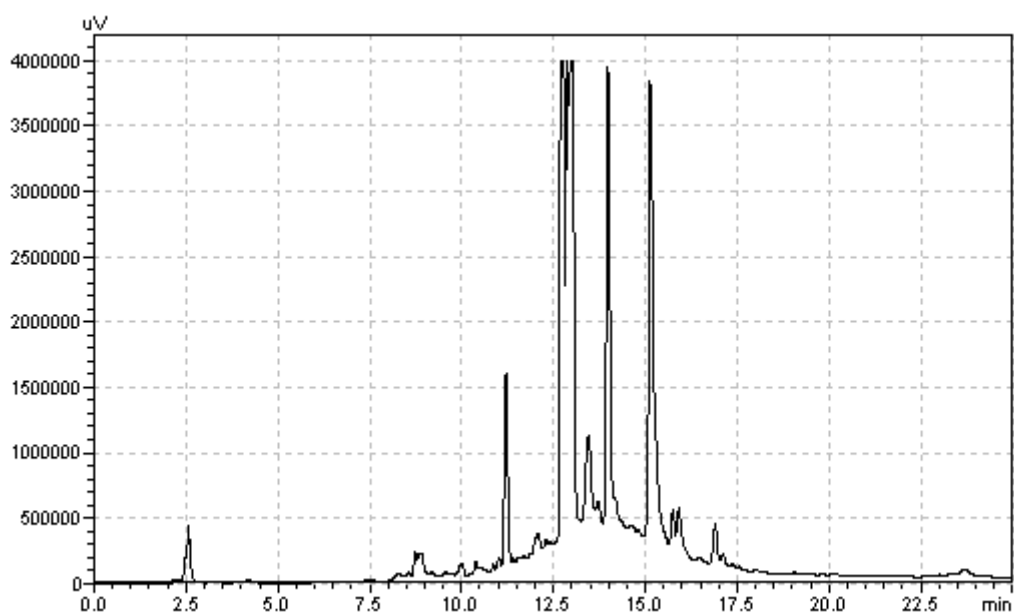


Figura 14. Cromatograma Horteã miúdo (*Mentha spicata*)

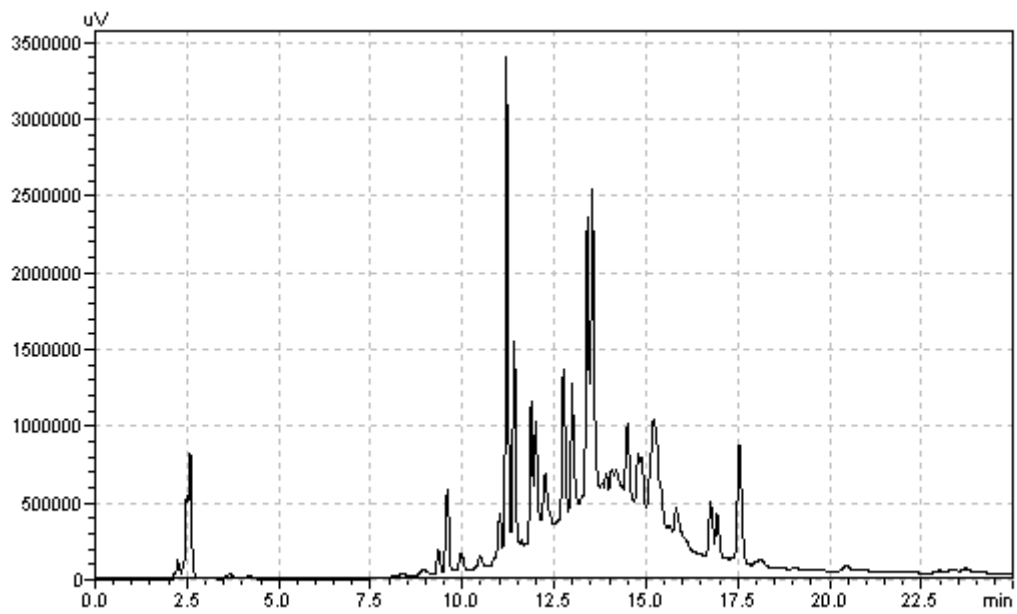


Figura 15. Cromatograma Horteã grosso (*Plectranthus amboinicus*)

REFERÊNCIAS

- ABEER, G.A., EMAN, S. Nutritional Quality of Purslane and its crackers. **Middle East Journal of Applied Sciences**. v.4, n.3, p.448-454. 2014.
- ABEROUMAND, A., DEOKULE, S.S. Studies on nutritional values of some wild edible plants from Iran and India. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, p.26–31. 2009
- Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Ingestão Diária Recomendada (IDR), 2010
- AHMAD, K., KHALIL, A.T., SOMAYYA, R. Antifungal, phytotoxic and hemagglutination activity of methanolic extracts of *Ocimum basilicum*, **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v.15, n.36, p.794-798. 2019
- AHMAD, M., MUDGIL, P., GANI, A., HAMED, F., MASOODI, F.A., MAQSOOD, S. Nano-encapsulation of catechin in starch nanoparticles: characterization, release behavior and bioactivity retention during simulated in-vitro digestion, **Food Chemistry**. v.270, p.95–104, 2019.
- AKHTAR, S. Zinc status in South Asian populations—An update. *Journal of Health, Population, and Nutrition*, v.31, p.139–149, 2013.
- ALTSCHUL, S.F., GISH, W., MILLER, W., MYERS, E.W., LIPMAN, D.J. Basic Local Alignment Search Tool. **Journal of Molecular Biology**. v.215, p.403–410. 1990.
- ALTSCHUL, S.F., MADDEN, T.L., SCHAFFER, A.A., ZHANG, J., ZHANG, Z., MILLER, W. LIPMAN D.J., Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. **Nucleic Acids Research**. v.25, p.3389–3402. 1997.
- ANDO, A., SUMIDA, Y., NEGORO, H., SUROTO, D.A., OGAWA, J., SAKURADANI, E., SHIMIZU, S. Establishment of *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of an oleaginous fungus, *Mortierella alpina* 1S-4, and its application for eicosapentaenoic acid producer breeding, **Applied and Environmental Microbiology**. v.75, p.5529–5535. 2009.
- ANTÔNIO, M.A., BRITO, A.R.M.S. Oral anti-inflammatory and anti-ulcerogenics activities of a hydroalcoholic extract and partitioned fractions of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). **Journal of Ethnopharmacology**. v.61, p.215–228. 1998.
- AYDIN, I., AYDIN, F., HAMAMCI, C., Vanadium fractions determination in asphaltite combustion waste using sequential extraction with ICP-OES, **Microchemical Journal**. v.108, p.64–67. 2013.
- BALANDA, K.P., BUCKLEY, C.M., BARRON, S.J., FAHY, L.E., MADDEN, J.M., HARRINGTON, J.M. Prevalence of diabetes in the Republic of Ireland: results from the National Health Survey (SLAN). **PloS One**, v.8, n.10, p.78426-78406. 2013.
- BARREIRA, J. C. M., FERREIRA, I. C. F. R., OLIVEIRA, B. M. P. P., PEREIRA, J. A. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. **Food Chemistry**, v.107, p.1106–1113, 2008.

- BARREIRA, J. C. M., FERREIRA, I. C. F. R., OLIVEIRA, B. M. P. P., Pereira, J. A. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. **Food Chemistry**, v.107, p.1106–1113, 2008.
- BARROS, J. A. V. A.; VIRGILIO, A.; SCHIAVO, D.; NÓBREGA, J. A. Determination of ultra-trace levels of Mo in plants by inductively coupled plasma tandem mass spectrometry (ICP-MS/MS). **Microchemical Journal**, n. 133, p. 567–571, 2017.
- BARROS, J.A.V.A., VIRGILIO, A., SCHIAVO, D., NÓBREGA, J.A. Determination of ultra-trace levels of Mo in plants by inductively coupled plasma tandem mass spectrometry (ICP-MS/MS), **Microchemical Journal**. V..133, p.567-571. 2014.
- BEAUDOIN, T, ZHANG, L, HINZ, A.J, PARR, C.J, MAH, T.F. The Biofilm-Specific Antibiotic Resistance Gene, ndvB, is Important for Expression of Ethanol Oxidation Genes in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. **Journal of Bacteriology**. v.194, n.12, p.3128–3136. 2012.
- BELAYNEH, A., BUSS, A N.F. Ethnomedicinal plants used to treat human ailments in the prehistoric place of Harla and Dengego valleys, eastern Ethiopia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. v.10, n.18, p.20-25 2014.
- BENMEHDI, H., HASNAOUI, O., BENALI, O., SALHI, F. Phytochemical investigation of leaves and fruit extracts of *Chamaerops humilis* L, **Journal of Materials and Environmental Science**. v.3, p.320–337. 2012.
- BERILA, N., HYROŠŠOVÁ, P., ŠUBÍK, J. Oxidative stress response and virulence factors in *Candida glabrata* clinical isolates. **Folia Microbiol**. v.56, p.116–121. 2011.
- BHARATHI, V., RENGARAJAN, R. L., RADHAKRISHNAN, R., HASHEM, A., ALLAH, E. F. A., ALQARAWI, A. A., ANAND, A. V. Effect of a medicinal plant *Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc. formulation (MUF) on obesity-associated oxidative stress-induced liver injury. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v.25, n.6, p. 123-130. 2018.
- BHARUCHA, Z., PRETTY, J. The roles and values of wild foods in agricultural systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society, B: Biological Sciences*, v.365, p.2913–2926. 2010.
- BOSS, C. B.; FREDEEN, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, 3^a ed. Perkin Elmer Corporation, USA, 2004.
- BOULYGA, S.F., CUNNINGHAM, J.A., MACSIK, Z., HIESS, J. "Development, Validation and Verification of An ICP-MS Procedure for a Multi-Element Analysis of Uranium Ore Concentrates". **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. v.32, n.11, p.2226–2237. 2017.
- BOURGOIGNIE, T. Regional Integration and Consumer Safety: An Emerging Concern in the Gulf Region. *Consum. Law and Socioeconomics*.v.3, p.139–144. 2017.
- BRUMANO, G. Composição química e valores de energia metabolizável de alimentos proteicos determinados com frangos de corte em diferentes idades. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.6, p.2297 – 17. 2006

CASTELLÓ, A., BUIJSSE, B., MARTÍN M. Evaluating the Applicability of Data-Driven Dietary Patterns to Independent Samples with a Focus on Measurement Tools for Pattern Similarity. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**. v.116, p.1914-6. 2016.

CAVA, R., NOWAK, E., TABOADA, A., MARIN-INIESTA, F. Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. **J. Food Prot.** v.70, n.12, p.2757–2763. 2007.

CHANG, C., LAHTI, T., TANAKA, T., NICKERSON, M. T. Egg proteins: Fractionation, bioactive peptides and allergenicity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.98, n.15, p.5547–5558. 2018.

CHANG, W.C., HSIEH, C.H., HSIAO, M.W., LIN, W.C., HUNG, Y.C., YE, J.C. Caffeic acid induces apoptosis in human cervical cancer cells through the mitochondrial pathway. **Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology**, v.49, n.4, p.419-424, 2010.

CHEN, B., QIU, Z. Consumers' attitudes towards wild edible plants. A case study of Noto Peninsula, Ishikawa, Prefecture, Japan. **International Journal of Research in Medical Sciences**. v.5, p.1-16. 2011.

CHEN, H., FUJITA, M., FENG, Q., CLARDY, J., FINK GR. Tyrosol is a quorum-sensing molecule in *Candida albicans*. **Proceedings of the National Academy of Sciences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)**. v.101, p.5048–52. 2004.

CHEN, H., ZUO, Y., DENG, Y. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.913, p.387–395. 2001

CHEN, P., DEWITT, M. R., BORNHORST, J. Age- and manganese-dependent modulation of dopaminergic phenotypes in a *C. elegans* DJ-1 genetic model of Parkinson's disease. **Metallomics**. v.7, n.2, p.289–310. 2015.

CHISTERMAN, E.F., PERKINS, N.J., MUMFORD, S.L. Collinearity and Causal Diagrams: A Lesson on the Importance of Model Specification. **Epidemiology**, v.28, p.47-53. 2017.

CHOW, C.K., CHOW-JOHNSON, H.S. Antioxidant function and health implication of vitamin E. **Open Nutrition**. J. v.6, p.1–6. 2013.

CHU, M., DING, R., CHU, Z.Y., ZHANG, M.B., LIU., XIE, S.H., ZHAI, Y.J., WANG, Y.D. Role of berberine in anti-bacterial as a high-affinity LPS antagonist binding to TLR4/MD-2 receptor, BMC Compl. **Alternative Medicine**. V.14, p.1-9. 2014

CLSI, Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 7th ed., CLSI document M02-A11. Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

COELHO, F.C., TIRLONI, C.A.S., MARQUES, A.A.M., GASPAROTTO, F.M., LÍVERO, F.A.R., GASPAROTTO JUNIOR, A. Traditional plants used by remaining

healers from the region of Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Journal of Religion & Health**, V.58, n.2, p.572-588. 2018.

COSTA, L. B.; TSE, M. L. P.; MIYADA, V. S. Extratos vegetais como alternativas aos antimicrobianos promotores de crescimento para leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 3, p. 589-595, jun. 2007

DAGNAS, S., GOUGOULI, M., ONNO, B., KOUTSOUMANIS, K. P., & MEMBRÉ, J. M. Quantifying the effect of water activity and storage temperature on single spore lag times of three moulds isolated from spoiled bakery products. **International Journal of Food Microbiology**, v.240, p.75-85. 2017.

DARE, M., JAIN, R., PANDEY, A. Method Validation for Stability Indicating Method of Related Substance in Active Pharmaceutical Ingredients Dabigatran Etxilate Mesylate by Reverse Phase Chromatography. **Journal of Chromatography and Separation Techniques**, v.6, p.263-276. 2015.

DEBNATH, B., UDDIN, M.J., PATARI, P., DAS, M., MAITI, D., MANNA, K. Estimation of alkaloids and phenolics of five edible cucurbitaceous plants and their antibacterial activity, **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v.7, p. 223-227. 2015

DEKA, S.J., GORAI, S., MANNA, D., TRIVEDI, V. Evidence of PKC binding and translocation to explain the anticancer mechanism of Chlorogenic acid in breast Cancer cells. **Current Molecular Medicine**, v.17, p.79–89, 2017.

DETMANN, E., SOUZA, M.A, VALADARES, FILHO. S.C., QUEIROZ, A.C., BERCHIELLI, T.T., SALIBA, E.O.S., CABRAL, L.S., PINA. D.S., LADEIRA, M.M, AZEVEDO, J.Á.G. Methods for feed analysis. **Brazilian Institute of Science and Technology in Animal Science**; Visconde do Rio Branco, Minas Gerais, Brazil. v.20, p.313-318. 2012.

DEY, P., ROY, S.C., SARKAR, M.P., CHAUDHURI, T.K. Evaluation of anti-inflammatory activity and standardisation of hydro-methanol extract of underground tuber of *Dioscorea alata*, **Pharmaceutical Biology**. v.54, p.1474–1482. 2016.

D'LUGOS, A.C., LUDEN, N.D., FALLER, J.M., AKERS, J.D., MCKENZIE, A.I., SAUNDERS, M.J. Supplemental protein during heavy cycling training and recovery impacts skeletal muscle and heart rate responses but not performance. **Nutrients**. v.8, n.9. p.35-42 2016.

DORMAN, D.C., STRUVE, M.F., CLEWELL, H.J. Application of pharmacokinetic data to the risk assessment of inhaled manganese. **Eurotoxicology**, v.27, n.5, p.752-764, 2006.

DOS REIS, L.F.C., CERDEIRA, C.D., DE PAULA, B.F., SILVA, J.J., COELHO, L.F.L., SILVA, M.A., MARQUES, V.B.B., CHAVASCO, J.K., ALVES-DA-SILVA, G., 2015. Chemical characterization and evaluation of antibacterial, antifungal, antimycobacterial, and cytotoxic activities of *Talinum paniculatum*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.57, p.397–405. 2015.

DRAGAN, S., ANDRICA, F., SERBAN, M.C., TIMAR, R. Polyphenols-rich natural products for treatment of diabetes. **Current Medicinal Chemistry**. v.22, p.14–22. 2015.

DÜRR, C.; DICKIE, J.B.; YANG, X.-Y.; PRITCHARD, H.W. Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: Contribution to a seed trait database. **Agricultural and Forest Meteorology**. v.200, p.222–232. 2015.

EGWUCHE, R.U., ODETOLA, A.A., Erukainure, O.L. Preliminary Investigation into the chemical properties of *Peperomia pellucida* (L.). **Research Journal of Phytochemistry** v.5, n.1, p.48-53. 2011.

ELABIDA, B, EDWARDS, A, SALHI, A. Chronic potassium depletion increases adrenal progesterone production that is necessary for efficient renal retention of potassium. **Kidney International**.v.80, p.256–262. 2011.

ERKAN, N. Antioxidant activity and phenolic compounds of fractions from *Portulaca oleracea* L. **Food Chemistry**, v.133, p.775–781. 2012.

ERNY, M.N.S., RAZALI, M., A.H.S. MIRFAT, M.A. Mohd Shukri, “Antimicrobial activity and bioactive evaluation of *Plectranthus amboinicus* essential oil,” **American Journal of Research Communication**, v.2, n.12, p.121–127, 2014.

FALADE K. O., OKAFOR C. A. Physical, functional, and pasting properties of flours from corms of two Cocoyam (*Colocasia esculenta* and *Xanthosoma sagittifolium*) cultivars. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, p.3440–3448. 2014.

FAO statistical yearbook. World food and agriculture. Rome, Italy: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2012.

FAQUIM, V. Nutrição mineral de plantas. **Curso de pós-graduação “lato sensu” (especialização) à distância solos e meio ambiente**. Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2005.

FERGUSON, L.R., LIM, I.F., PEARSON, A.E., RALPH, J., HARRIS, P.J. Bacterial antimutagenesis by hydroxycinnamic acids from plant cell walls. **Mutation Research** v.542, p.49-58, 2003.

FERNÁNDEZ, L., GONZÁLEZ, S., CAMPELO, A.B., MARTÍNEZ, B., RODRÍGUEZ, A., GARCÍA. Low-level predation by lytic phage phiIPLA-RODI promotes biofilm formation and triggers the stringent response in *Staphylococcus aureus*, **Scientific Reports**. v.7, p.40979-40965. 2017.

FIBACH, E., RACHMILEWITZ, E.A. Iron overload in hematological disorders, **Presse Medicine**, v.46, p.296-305, 2017.

FRANCISCHINI, A.C., CONSTANTIN, J., OLIVEIRA, J.R., SANTOS, G., BRAZ, G.B.P., DAN, H.A. FIRST REPORT OF *Amaranthus viridis* RESISTANCE TO HERBICIDES. **Planta Daninha**, Viçosa-MG, v. 32, n. 3, p. 571-578, 2014

FRANZ, C. H. M. A.P., M. HUCH, H. ABRIOUEL, W. HOLYAPFEL, GÁLVÉZ, A. Enterococci as probiotics and their implications in food safety. **International Journal of Food Microbiology**. v.151, p.125–140. 2011.

FUKAI, T., OKU, Y., HANO, Y., TERADA, S. Antimicrobial activities of hydrophobic 2-arylbenzofurans and an isoflavone against vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Planta Medica**. v.70, p.685–687. 2016.

GALABOVA, G., BRUNNER, S., WINSAUER, G. Peptide-based anti-PCSK9 vaccines—an approach for long-term LDLc management. **PLoS ONE**. V.12, p.59–69. 2014.

GAO, T., YAO, H. SONG, J., LIU, C., ZHU, Y., MA, X., PANG, X., XU, H., CHEN S. Identification of medicinal plants in the family Fabaceae using a potential DNA barcode ITS2. **Journal of Ethnopharmacol**, v.130, 116–121, 2010.

GARCIA-ORTIZ, L., RECIO-RODRIGUEZ, J.I., RODRIGUEZ-SANCHEZ, E., PATINO-ALONSO, M.C., AGUDO-CONDE, C., RODRIGUEZ-MARTIN, C. Sodium and potassium intake present a J-shaped relationship with arterial stiffness and carotid intima-media thickness. **Atherosclerosis**.v. 225, p.497–503, 2012.

GASQUEZ, J. A., LIMA, E., OLSINA, R. A., MARTINEZ, L. D., GUARDIA, M. A fast method for apatite selective leaching from granitic rocks followed through rare earth elements and phosphorus determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Talanta**. v.67, p.824–828. 2005.

GESSNER, D.K., RINGSEIS, R., EDER, K. Potential of plant polyphenols to combat oxidative stress and inflammatory processes in farm animals, **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**. v.101, n.4, p. 605–628. 2017.

GIL, R. A., PASINI-CABELLO, S., TAKARA. A., SMICHOWSKI, P., OLSINA, R. A., MARTINEZ, L. D. A novel on-line preconcentration method for trace molybdenum determination by USN-ICP OES with biosorption on immobilized yeasts, **Microchemical Journal**, v.86, p.156–160. 2007.

GILL, N.S., ARORA, R., KUMAR, S.R. Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory and analgesic potential of *Luffa acutangula* Roxb. var. *amara*. **Research Journal of Phytochemistry**, v.5, p.201–208, 2011.

GODFRAY, H.C.J., BEDDINGTON, J.R., CRUTE, I.R., HADDAD, L., LAWRENCE, D., MUIR, J.F., PRETTY, J., ROBINSON, S., THOMAS, S.M., TOULMIN, C. Food security: the challenge of feeding 9 billion people. **Science**, v.327, p.812–818. 2010.

GONZALEZ-MOLINA, E., MORENO, D. A., GARCÍA-VIGUERA, C. Aronia-enriched lemon juice: a new highly antioxidant beverage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, n.4, p.11327–11333. 2008.

GORISSEN, S. H.M., CROMBAG, J.J.R., SENDEN, J.M.G., WATERVAL, W.A.H., BIERAU, J., VERDIJK, L.B., VAN LOON, L.J.C. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. **Amino Acids**, v.50, n.12, p.1685–1695. 2017.

GRZESIK, M., NAPARLO, K., BARTOSZ, G., SADOWSKA-BARTOSZ, I. Antioxidant properties of catechins: comparison with other antioxidants. **Food Chemistry**, v.241, p.480–492, 2018.

GUMZ, M.L., STOW, L.R., LYNCH, I.J. The circadian clock protein Period 1 regulates expression of the renal epithelial sodium channel in mice. **Journal of Clinical Investigation**. v.119:2423–2434. 2009.

- HALL, R.A., TURNER, K.J., CHALOUPKA, J., COTTIER, F., DE SORDI, L., SANGIARD, D. The quorum-sensing molecules farnesol/homoserine lactone and dodecanol operate via distinct modes of action in *Candida albicans*. **Eukaryot Cell**. v.10, p.1034–1042. 2011.
- HALLIN, M., PAINDAVEINE, D., VERDEBOUT, T. Efficient R-estimation of principal and common principal components. **Journal of the American Statistical Association**. v.109, p.1071–1083. 2014.
- HARDAWAY, C.J., SNEDDON, J., SNEDDON, E.J., KIRAN, B., BRENT, J. LAMBERT, TALIA, C., MCCRAY, D.Q., BOWSER, C.D. Study of selected metal concentrations in sediments by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry from a metropolitan and more pristine bayou in Southwest Louisiana, United States, **Microchemical Journal**. V.127, P.213–219. 2016.
- HARDY, K., BRAND-MILLER, J., BROWN, K.D., THOMAS, M.G., COPELAND, L. The importance of dietary carbohydrate in human evolution. **The Quarterly Review of Biology on JSTOR**, v.90, p.251-268. 2015.
- HARRINGTON, J.M., YOUNG, D.J., ESSADER, A.S., SUMNER, S.J., LEVINE, K.E. Analysis of human serum and whole blood for mineral content by ICP-MS and ICP-OES: development of a mineralomics method, **Biological Trace Element Research**. v.160, n.1, p.132–142, 2014.
- HARVEY, C., SCHOFIELD, G., WILLIDEN, M. The lived experience of healthy adults following a ketogenic diet: A qualitative study. **Journal Holist Perfect**. v.7782018, n.1, p.3638.-3642. 2018.
- HOCHFELLNE, RC, EVANGELOPOULOS, D., ZLOH, M., WUBE, A., GUZMAN, J.D., MCHUGH, T.D. Antagonistic effects of indoloquinazoline alkaloids on antimycobacterial activity of evocarpine. **Journal of Applied Microbiology**. v.118, n.4, p.864–872. 2015.
- HOIBY, N., BJARNSHOLT, T., GIVSKOV, M., MOLIN, S., CIOFU, O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v.35, n.4, p.322–332. 2010.
- HOLMES, E., LI, J.V., MARCHESI, J.R., NICHOLSON J.K. Gut Microbiota Composition and Activity in Relation to Host Metabolic Phenotype and Disease Risk. **Cell Metabolism**. V.16, p.559–564. 2013.
- HU, B., WANG, Y., XIE, M., HU, G., MA, F., & ZENG, X. Polymer nanoparticles composed with gallic acid grafted chitosan and bioactive peptides combined antioxidant, anticancer activities and improved delivery property for labile polyphenols. **Journal of Functional Foods**, v.15, p.593–603. 2015.
- HU, Q.J., LI, Y.P., LIU, C., HUANG, L.P., ZENG, L.M., WANG, S.H., SONG, H., PENG, H.L., HUANG, J.H., CHEN, C., YAO, L.H. Effects of polysaccharide from *Portulaca oleracea* L. On voltage-gated Na⁺ channel of INS-1 cells, **Biomedicine & Pharmacotherapy**. v.101, p.572–578, 2018.

HUANG, J.Z., LIN, S., HUANG, Z., BOLGAR, M.S. Enablement of the direct analysis of excipients in monoclonal antibody formulations through the incorporation of a wide pore C18 protein trap with hydrophilic interaction liquid chromatography, **Journal of Chromatography B**, v.1068, p.131–135. 2017.

HWANG, S.J., KIM, Y.W., PARK, Y., LEE, H.J., KIM K.W. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. **Inflammation Research**, v.1, p.1–10, 2013

IMRAN, M., TALPUR, F.N., JAN, M.S., KHAN, A., KHAN, I. Analysis of nutritional components of some wild edible plants. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v.295, p.500–508. 2007.

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

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC); IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). **Biochemical Journal**, v.153, p.23, 1976.

IRTIKAR, K.R.; BASU, B.D. Indian Medicinal Plants. **Dehradun: Oriental Enterprises**, v.1, p.3598–3602. 2011.

IWASHYNA, T.J, BURKE, J.F, SUSSMAN, J.B. Implications of Heterogeneity of Treatment Effect for Reporting and Analysis of Randomized Trials in Critical Care. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**. v.192, p.1045-1051. 2015.

JIANG, L., HE, P., CHEN, J., LIU, Y., LIU, D., QIN, G., TAN, N. Magnesium Levels in Drinking Water and Coronary Heart Disease Mortality Risk: A Meta-Analysis. **Nutrients**. v.2, n.8, p.4-9. 2016.

JIN, C.F., LI, B., LIN, S.M., YADAV, R.K., KIM, H.R., CHAE, H.J. Mechanism of the Inhibitory Effects of *Eucommia ulmoides* Oliv. Cortex Extracts (EUCE) in the CCl₄-Induced Acute Liver Lipid Accumulation in Rats. **International Journal of Endocrinology**, v.2013, p. 21-31, 2013.

JIOFACK, T., FOKUNANG, C., GUEDJE, N., KEMEUEZE, V., FONGNZOSSIE, E., NKONGMENECK, B.A., MAPONGMETSEM, P.M., TSABANG, N. Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *Int. J. Med. Med. Sci.* v.2, p.60–79. 2010.

KALITA, P., TAG, H., SARMA, H.N., DAS, A.K. Evaluation of Nutritional Potential of Five Unexplored Wild Edible Food Plants from Eastern Himalayan Biodiversity Hotspot Region (India). **International Journal of Biological, Veterinary, Agricultural and Food Engineering**. v.8, n.3, p.209-212. 2014.

KALPANA, K., KAPIL, S., HARSH, P.S., BIKRAM, S. Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. **Food Chemometrics**. v.56, p.10129–10134. 2008.

KARAK, T., SONAR, I., PAUL, R.K., FRANKOWSKI, M., BORUAH, R.K., DUTTA, A.K., DAS, D.K. Aluminium dynamics from soil to tea plant (*Camellia sinensis* L.): is it enhanced by municipal solid waste compost application? **Chemosphere**. v.119, p.917–926. 2015.

KARUNANIDHI, A., THOMAS, R., VAN, B.A, NEELA, V. In vitro antibacterial and antibiofilm activities of chlorogenic acid against clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* including the trimethoprim/sulfamethoxazole resistant strain. **BioMed Research Internationa**, v.2, p.1–7, 2013.

KIBAR, B., TEMEL, S. Evaluation of mineral composition of some wild edible plants growing in the Eastern Anatolia Region grasslands of Turkey and consumed as vegetable. **Journal of Food Processing and Preservation** 40, 56–66. 2016.

KIM, K.H., TSAO, R., YANG, R., CUI, S.W. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. **Food Chemistry**. 95, 466- 473, 2006.

KLAUNIG, J.E., KAMENDULIS, L.M. The role of oxidative stress in carcinogenesis. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.44, p.239-267. 2004.

KLAUSMEYER, P., CHMURNY, G.N., MCCLOUD, T.G., TUCKER, K.D., SHOEMAKER, R.H. A novel antimicrobial indolizinium alkaloid from *Aniba panurensis*. **Journal of Natural Products**, v.67, p.1732–1735. 2004

KORKUC, P., SCHIPPERS, J.H., WALTHER D. Characterization and identification of cis-regulatory elements in *Arabidopsis* based on single-nucleotide polymorphism information. **Plant Physiology**. v.164, p.181–200. 2014.

KOTLINSKA-HASIEC, E., MAKARA-STUDZINSKA, M., CZAJKOWSKI, M. Plasma magnesium concentration in patients undergoing coronary artery bypass grafting. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**. v.24, n.2, p.181–184. 2017.

KUBRAKOVA, I.V., TOROPCHENOVA, E.S. Microwave Sample preparation for Geochemical and Ecological Studies. **Journal of Analytical Chemistry**, v.68, n.6, p.467-476, 2013.

KUMAR, N., PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. **Biotechnology Reports**, v.4, p.86–93, 2014.

KUNERT, O., SWAMY, R.C., KAISER, M., PRESSER A., BUZZI S., RAO, A.A.V.N., SCHUHLY W. Antiplasmodial and leishmanicidal activity of bisflavonoids from Indian *Selaginella bryopteris*. **Phytochemistry**. v.1, p.171–174. 2008.

LAMONTAGNE, B.M, ISABELLE, C, GUAY, I, BROUILLETTE, E, LANGLOIS, J.P, JACQUES, P.E. Tomatidine Is a Lead Antibiotic Molecule That Targets *Staphylococcus aureus* ATP Synthase Subunit C. **Antimicrob Agents Chemother**. v.62, n.6, p.12-20. 2018.

LATIF, S., MÜLLER, J. Potential of cassava leaves in human nutrition: a review, **Trends in Food Science and Technology**. v.44. p.147–158, 2015.

LEE, B.Y., BACON, K.M., CONNOR, D.L., WILLIG, A.M., BAILEY, R.R. The Potential Economic Value of a *Trypanosoma cruzi* (Chagas Disease) Vaccine in Latin America. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.4, n.916, p.1-8, 2010.

LEE, H.S, DUFFEY, K.J., POPKIN, B.M. Sodium and potassium intake patterns and trends in South Korea. **Journal of Human Hypertension**. v.27, p.298–303. 2013.

LEE, J., JEONG, K., SHIN, S. Antimicrobial natural products as β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase III inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.17, p.5408–5413. 2011.

LEE, J., ZHANG, L. The hierarchy quorum sensing network in *Pseudomonas aeruginosa*. **Protein Cell**, v.6. p.26-41. 2015.

LEITE, D.P. Estudo de métodos para determinação de As, Cd, Pb, Cr e Se em fertilizantes base orgânica por AAS e ICP OES. 2015, 107f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

LI, H., LI, J., PRASAIN, J. K., TEZUKA, Y., NAMBA, T., MIYAHARA, T., KADOTA, S. Antiosteoporotic activity of the stems of *Sambucus sieboldiana*. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.21, n.6, p.594–598. 1998.

LIU, S.Y., YANG, L.Y., MU, S., FU, Q. Epigallocatechin-3-gallate ameliorates glucocorticoid-induced osteoporosis of rats in vivo and in vitro, **Frontiers in Pharmacology**. v.9, p.23-32. 2018.

LOHSE, M., NAGEL, A., HERTER, T., MAY, P., SCHRODA, M., ZRENNER, R. Mercator: a fast and simple web server for genome scale functional annotation of plant sequence data. **Plant, Cell & Environment**. v.37, p.1250–1258. 2014.

MAGNANI, C., ISAAC, V.L.B., CORRÊA, M.A., SALGADO, H.R.N. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics, **Ana. Methods**, v.6, p.3203-3210, 2014.

MAH, T.F., O'TOOLE, G.A. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. **Trends Microbiol.** v.9, n.1, p.34–39. 2001.

MANECCA, A. J., STENNER, R., MATHARU, A. S., CLARK, J. H., MATUBAYASI, N., SHIMIZU, S. Water activity in liquid food systems: A molecular scale interpretation. **Food Chemistry**, 237, 1133–1138. 2017.

MARCHIORE, N. G., MANSO, I. J., KAUFMANN, K. C., LEMES, G. F., PIZOLLI, A. P. D. O., DROVAL, A. A., & LEIMANN, F. V. Migration evaluation of silver nanoparticles from antimicrobial edible coating to sausages. **LWT – Food Science and Technology**, v.76, p.203–208. 2017.

MARQUES, T.L., WILTSCHKE, H., NÓBREGA, J.A., WINKLER, M., KNAPP, G. Performance evaluation of a high-pressure microwave-assisted flow digestion system for juice and milk sample preparation, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v.409, p.4449-4458. 2017.

MARTÍNEZ, D., RODULFO, H.E., RODRIGUEZ, L., CAÑA, L.E., MEDINA, B., GUZMAN, M. Primeiro relato de metalo- β -lactamases produtoras de *Enterobacter* spp. estirpes da Venezuela. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. V.56, P.67–69. 2014.

MATERSKA, M. Quercetin and its Derivatives: Chemical Structure and Bioactivity—A Review. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**. v.58, p.407–413. 2008.

MAURYA, D.K., DEVASAGAYAM, T.P.A. Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v.48 n.12, p.3369-3373, 2010.

MAURYA, D.K., DEVASAGAYAM, T.P.A. Antioxidant and prooxidant nature of hydroxycinnamic acid derivatives ferulic and caffeic acids. **Food and Chemical Toxicology**, v.48 n.12, p.3369-3373, 2010.

MCCLELLAND, S.C., ARNDT, C., GORDON, D.R., THOMA, G. Type and number of environmental impact categories used in livestock life cycle assessment: a systematic review. **Livestock Science**. v.209, 39-45. 2018.

MENENDEZ-BACETA, G., ACEITUNO-MATA, L., TARDÍO, J., REYES-GARCÍA, V., PARDO-DE-SANTAYANA, M. Wild edible plants traditionally gathered in Gorbeialdea (Biscay, Basque Country). **Genetic Resources and Crop Evolution**. 59, 1329–1347. 2012.

MERGHACHE, D., BOUCHERIT-OTMANI, Z., MERGHACHE, S., CHIKHI, I., SELLES, C., BOUCHERIT, K. Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. essential oil. **Natural Product Research**. v.28, p.795–807. 2014.

MIRA, S.; VEIGA-BARBOSA, L.; GONZÁLEZ-BENITO, M.E.; PÉREZ-GARCÍA, F. Inter-population variation in germination characteristics of *Plantago lanceolata* seeds: effects of temperature, osmotic stress and salinity. **Mediterranean Sea** .v.39, p.89–96. 2018.

MISTURA, L., D'ADDEZIO, L., TURRINI, A. Beverage Consumption Habits in Italian Population: Association with Total Water Intake and Energy Intake. **Nutrients**. v.9, n.8 p.26-32. 2016.

MOGHAMES, P., HAMMAMI, N., HWALLA, N., YAZBECK, N., SHOAI, H., NASREDDINE, L., NAJA, F. Validity and reliability of a food frequency questionnaire to estimate dietary intake among Lebanese children. **Nutrition Journal**. v.15, n.4. p.12-25. 2016.

MORAN, D., KANEMOTO, K. Identifying species threat hotspots from global supply chains. **Nature Ecology and Evolution**. V.1, p.23-35. 2017.

MOREIRA, M.M., BARROSO, M.F., BOEYKENS, A., WITHOUCK, H., MORAIS, S., DELERUE-MATOS C. Valorization of apple tree wood residues by polyphenols extraction: Comparison between conventional and microwave-assisted extraction. **Industrial Crops and Products**. v.104, p.210–220. 2017.

- NASCIMENTO, M.A., SILVA, A.K., FRANCA, L.C., QUIGNARD, E.L., LÓPEZ, J.A., ALMEIDA, M.G. *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae): preliminary study of its antioxidant activity. **Bioresource Technology**. v.97, p.1387–1391. 2006.
- NIELSEN, F.H. Update on the possible nutritional importance of silicon. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. v.28, p.379–382. 2014.
- NIELSEN, S.P, BÄRENHOLDT, O, BÄRENHOLDT-SCHIØLER, C., MAURAS, Y., ALLAIN, P. Noninvasive Measurement of Bone Strontium. **Journal of Clinical Densitometry**. v.7, n.3, p.262–268. 2004.
- NIGGEWEG, R., MICHAEL, A.J., MARTIN, C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. **Nature Biotechnology**, v.22, p.746–754, 2004.
- NISHIMURO, H., OHNISHI, H., SATO, M., OHNISHI-KAMEYAMA, M., MATSUNAGA, I., NAITO, S., IPPOUSHI, K., OIKE, H., NAGATA, T., AKASAKA, H. Estimated daily intake and seasonal food sources of quercetin in Japan. **Nutrients**, v.7, p.2345–2358. 2015.
- OMOTAYO, M.O., MARTIN, S.L., STOLTZFUS, R.J., ORTOLANO, S.E., MWANGA, E., DICKIN, K.L. With adaptation, the WHO guidelines on calcium supplementation for prevention of pre-eclampsia are adopted by pregnant women. **Maternal & Child Nutrition**. v.14, p.1110-12521. 2018.
- ORECCHIO, S., Microanalytical characterization of decorations in handmade ancient floor tiles using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICPOES), **Microchemical Journal**. v.108, p.137–150. 2013.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Elementos traço na nutrição e saúde humanas. São Paulo: Roca, 1998.
- PAN, L.B., MA, J., HU, Y., SU, B.Y., FANG, G.L., WANG, Y., WANG, Z.S., WANG, L., XIANG, B. Assessments of levels, potential ecological risk, and human health risk of heavy metals in the soils from a typical county in Shanxi Province, China. **Environmental Science and Pollution Research**. v.23, p.19330–19340. 2011.
- PAOLI, A., RUBINI, A., VOLEK, J., GRIMALDI, K. Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.67, n.8, p.789-96. 2013.
- PAWAR, S.S., DASGUPTA, D. Quantification of phenolic content from stem-bark and root of *Hugonia mystax* Linn. using RP-HPLC. **Journal of King Saud University**. v.30, p.293–300. 2018.
- PEREIRA, C., BARROS, L., CARVALHO, A.M., FERREIRA, I.C. F.R. Use of UFLC-PDA for the analysis of organic acids in thirty-five species of food and medicinal plants. **Food Analytical Methods**, v.6, n.5, p.1337–1344. 2013.
- PEREIRA, C.M., HANSEL, F.A., RADOMSKI, M.I., VERDECKIN, M.G. Microondas como alternativa na abertura de amostras para dosagem de silício em tecido foliar de

- espécies florestais por determinação colorimétrica. **Pesquisa Florestal Brasileira, Colombo**, v.56, p.105-109, 2008.
- PETUSHKOVA, N.A, PYATNITSKIY, M.A, RUDENKO, V.A. Applying of hierarchical clustering to analysis of protein patterns in the human cancer-associated liver. **PLoS One**, v.9, p.10394-103950. 2014.
- PICKLER, L.; SANTIN, E.; SILVA, A. V. F. Alternativas aos antibióticos para equilibrar a microbiota gastrointestinal de frangos. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba, v.16, n.3, p.1-13, 2011
- PINELA, J., PRIETO, M.A., BARREIRO, M.F., CARVALHO, A.M., OLIVEIRA, M.B.P.P., CURRAN, T.P., FERREIRA, I.C.F.R. Valorisation of tomato wastes for development of nutrient-rich antioxidant ingredients: A sustainable approach towards the needs of the today's society. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 41, 160–171. 2017.
- PIRMORADI, M.R., MOGHADDAM, M., FARHADI, N. Chemotaxonomic analysis of the aroma compounds in essential oils of two different *Ocimum basilicum* L. varieties from Iran. **Chemistry & Biodiversity**. v.10, p.1361–1371. 2013.
- PIVANA, P., SAYAJI, D., AVINASH, M. Calcium and its Role in Human Body. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**. v.4, n.2, p.659-670. 2013.
- QUARLES, C.D., MANARD, B.T., WYLIE, E.M., XU. N. "Trace Elemental Analysis of Bulk Uranium Materials Using an Inline Automated Sample Preparation Technique for ICPOES". **Talanta**. v.190, p.460–465. 2018.
- RANDHIR R, LIN YT, SHETTY K. Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical elicitors. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v.13, p.295–307, 2004.
- REZNIKOV, N., SHAHAR, R., WEINER, S., 2014. Bone hierarchical structure in three dimensions. **Acta Biomater**. v.10, n.9, p.3815–3826, 2014.
- RIBEIRO, J. C., CUNHA, L. M., SOUSA-PINTO, B., & FONSECA, J. Allergic risks of consuming edible insects: A systematic review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.62, n.1, p.21-31. 2018.
- RIBEIRO, R.D.; SEI, F.B.; LEITE, M.S.P. Biological control mediated by *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**. v.4, n. 2, p.12-22, 2010.
- RODRIGUES, S.L., BALDO, M.P., MACHADO, R.C., FORECHI, L., MOLINA, MDEL, C., MILL, J.G. High potassium intake blunts the effect of elevated sodium intake on blood pressure levels. **Journal of the American Society of Hypertension**. v.8, p.232–238. 2014.
- ROLEIRA, F.M.F., TAVARES-DA-SILVA, E.J, VARELA, C.L, COSTA, S.C., SILVA, T., GARRIDO, J., BORGES, F. Plant derived and dietary phenolic antioxidants: anticancer properties, **Food Chemistry**, v.15, n. 183, p.235-238, 2015.

ROOHANI, N., HURRELL, R., KELISHADI, R., SCHULIN, R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. **Journal of Research in Medical Sciences**. v.18 p.144–57. 2013.

RYE, K.A., BARTER, P.J. Cardioprotective functions of HDLs. **Journal of lipid research**. v.55, n.2, p.168-79. 2014.

SÄDE, E., PENTTINEN, K., BJÖRKROTH, J., HULTMAN J. Exploring lot-to-lot variation in spoilage bacterial communities on commercial modified atmosphere packaged beef. **Food Microbiol**. v.62, p.147–152. 2017.

SAINA, J.K., GICHIRA, A.W., LI, Z., HU, G., WANG, Q., LIAO, K. The complete chloroplast genome sequence of *Dodonaea viscosa*: Comparative and phylogenetic analyses. **Genetica**, v.146, p.101–113. 2018.

SALTA, J., MARTINS, A., SANTOS, R. G., NENG, N. R., NOGUEIRAA, J. M. F., JUSTINO, J. Phenolic composition and antioxidant activity of Rocha pear and other pear cultivars – A comparative study. **Journal Functional Foods**, v.2, p.153–157, 2010.

SALTZMAN, E., KARL, J.P. Nutrient deficiencies after gastric bypass surgery. **Annual review of nutrition**. v.33, p.183-203, 2013

SÁNCHEZ-MATA, M.C., LOERA, R.D.C., MORALES, P., FERNÁNDEZ-RUIZ, V., CÁMARA, M., MARQUÉS, C.D., PARDO-DE-SANTAYANA, M., TARDÍO, J. Wild vegetables of the Mediterranean area as valuable sources of bioactive compounds. **Genetic Resources and Crop Evolution**. v.59, p.431–443. 2016.

SANTANGELO, C., ZICARI, A., MANDOSI, E., SCAZZOCCHIO, B., MARI, E., MORANO, S. Could gestational diabetes mellitus be managed through dietary bioactive compounds? Current knowledge and future perspectives. **British Journal of Nutrition**. v.2, n.115:p.1129–1144. 2016.

SANTANGELO, C., ZICARI, A., MANDOSI, E., SCAZZOCCHIO, B., MARI, E., MORANO, S. Could gestational diabetes mellitus be managed through dietary bioactive compounds? Current knowledge and future perspectives. **British Journal of Nutrition**. v.115, p.1129–1144. 2016.

SANTOS JÚNIOR, A. F.; MATOS, R. A.; ANDRADE, E. M. J.; SANTOS, W. N. L.; MAGALHÃES, H. I. F.; COSTA, F. N.; KORN, M. G. A. Multielement Determination of Macro and Micro Contents in Medicinal Plants and Phytomedicines from Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 00, n. 00, p. 1-9, 2016.

SANTOS JÚNIOR, A. F.; MATOS, R. A.; ANDRADE, E. M. J.; SANTOS, W. N. L.; MAGALHÃES, H. I. F.; COSTA, F. N.; KORN, M. G. A. Multielement Determination of Macro and Micro Contents in Medicinal Plants and Phytomedicines from Brazil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 00, n. 00, p. 1-9, 2016.

SANTOS, M. S.; CAVALCANTI, K. S.; CARVALHO, D. S. VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DE METAIS EM ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO USANDO ICP-OES. 2º Congresso Internacional-RESAG, Aracaju-SE, 2015.

SARKER, U., ISLAM, M.T., RABBANI, M.G., OBA, S. Phenotypic divergence in vegetable amaranth for total antioxidant capacity, antioxidant profile, dietary fiber, nutritional and agronomic traits. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**. v.68, p.67–76. 2018.

SARRIA, R., WAGNER, T.A., O'NEILL, M.A., FAIK, A., WILKERSON, C.G, KEEGSTR, K., RAIKHEL, N.V. Caracterização de uma família de genes de *Arabidopsis* relacionados à xiloglucana fucosiltransferase1. **Plant Physiol**. v.127, p.1595–1606. 2001.

SATO, A., ZHANG, T., YONEKURA, L., TAMURA, H. Antiallergic activities of eleven onions (*Allium cepa*) were attributed to quercetin 41-glucoside using quechers method and Pearson's correlation coefficient. **Journal of Functional Foods**, v.14, p.581–589. 2017.

SCHERER, L., PFISTER, S. Global biodiversity loss by freshwater consumption and eutrophication from Swiss food consumption. **Environmental Science & Technology**. V.50, n.13, p.7019-7028. 2016.

SCHERER, R., LEMOS, M. F., LEMOS, M. F., MARTINELLI, G. C., MARTINS, J. D. L., & DA SILVA, A.G. Antioxidant and antibacterial activities and composition of Brazilian spearmint (*Mentha spicata* L.). **Industrial Crops and Products**, v.50, p.408–413. 2013.

SCHIAVO, D.; TREVIZAN, L.C.; FILHO, E.R.P.; NOBREGA, J.A. Evaluation of the use of multiple lines for determination of metals in water by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing, **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 64, p.544–548, 2009.

SCHULTHEISS, N., ROE, M., BOERRIGTER, S.X.M. Cocrystals of nutraceutical p-coumaric acid with caffeine and theophylline: polymorphism and solid-state stability explored in detail using their crystal graphs. **Crystal Engineering Communications**, v.13, p.611–619, 2011.

SÉGUREL, L., BON, C. On the evolution of lactase persistence in humans. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v.18, p.297-319. 2017.

SHACKLETON, C.M., HURLEY, P.T., DAHLBERG, A.C., EMERY, M.R., NAGENDRA, H. Urban foraging: A ubiquitous human practice overlooked by urban planners, policy, and research. **Sustainability**, v.9. n.10, p.12-22, 2017.

SHOPSIN, B., DRILICA-WAGNER, A., MATHEMA, B.L. Prevalence of agr dysfunction among colonizing *Staphylococcus aureus* strains. **The Journal of Infectious Diseases**. v.198, p.1171–1174. 2008.

SHUI, G., LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v.97, p.277–284, 2006.

SILINA, Y.E., FINK-STRAUBE, C., HANSELMANN, R.G.; HENRIKE PEUSCHEL, H.; VOLMER, D. A. p-Coumaric Acid, a Novel and Effective Biomarker for Quantifying Hypoxic Stress by HILIC-ESI-MS. **Journal of Chromatography B**. v.1020, p.6–13. 2016.

SILVA, F.V., TREVIZAN, L.C., SILVA, C.S., NOGUEIRA, A.R.A., NÓBREGA, J.A. Evaluation of inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometers With Axially and Radially Viewed Configurations. **Spectrochimica Acta**, v. 57, p. 1905-1913, 2002.

SILVEIRA, S. M. D.; CUNHA JÚNIOR, A.; SCHEUERMANN, G. N.; SECCHI, F. L.; VIEIRA, C. R. W. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from selected herbs cultivated in the South of Brazil against food spoilage and foodborne pathogens. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.7, p. 1300-1306, 2012.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental, 5ªed, p.35. **Editora Bookman**, Porto Alegre, 2002.

SKUNCA, N., BOŠNJAK, M., KRIŠKO, A., PANOV, P., DŽEROSKI, S., SMUC, T. Phyletic profiling with cliques of orthologs is enhanced by signatures of paralogy relationships. **PLOS Computational Biology**. v.9, p.1002852-1002879. 2013.

SMÝKAL, P.; COYNE, C.J.; AMBROSE, M.J.; MAXTED, N.; SCHAEFER, H.; BLAIR, M. W.; BERGER, J.; GREENE, S. L.; NELSON, M.N.; BESHARAT, N.; VYMYSLICKÝ, T.; TOKER, C.; SAXENA, R.; ROORKIWAL, M.; PANDEY, M.K.; HU, J.; LI, Y.H.; WANG, L. X.; GOU, Y.; QIU, L.J.; REDDEN, R.J.; VARSHNEY, R.K. Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for Science and Breeding. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.34, p.43-104. 2015.

SNOUSSI, M., NOUMI, E., TRABELSI, N., FLAMINI, G., PAPETTI, A. *Mentha spicata* essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities against planktonic and biofilm cultures of *Vibrio* spp. strains, **Molecules**, v.20, n.8, p.14402-14424. 2015.

Sorbo, A., Turco, A.C., Di Gregorio, M., Ciaralli L. Development and validation of an analytical method for the determination of arsenic, cadmium and lead content in powdered infant formula by means of quadrupole Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Food Control**, v.44, p.159–165, 2014.

SŔUKAND, R., QUAVE, C.L., PIERONI, A., PARDO-DE-SANTAYANA, M., TARDÍO, J., KALLE, R., ŁUCZAJ, Ł., SVANBERG, I., KOLOSOVA, V., ACEITUNO-MATA, L., MENENDEZ-BACETA, G., KOŁODZIEJSKA-DEGÓRSKA, I., PIROŹNIKOW, E., PETKEVIČIUS, R., HAJDARI, A., MUSTAFA, B. Plants used for making recreational tea in Europe: a review based on specific research sites. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**. V.9, p.58-65. 2013.

SOUZA, S.O; COSTA, S. S. L.; SANTOS, D. M.; PINTO, J. S.; GARCIA, C. A. B.; ALVES, J. P. H.; ARAUJO, R. G. O. *Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry*. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v.96, p.1-7, 2014.

STEYN, N.P., MCHIZA, Z., HILL, J., DAVIDS, Y.D., VENTER, I., HINRICHSEN, E., OPPERMAN, M., RUMBELOW, J., JACOBS, P. Nutritional contribution of street foods to the diet of people in developing countries: A systematic review. **Public Health Nutrition**. v.17, p.1363–1379. 2014.

- SUGIURA, S.H. BABBITT, J.K., HARDY, R.W. Utilization of fish and animal by-product meals in low-pollution feeds for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v.31, p.585-593, 2000.
- SUH, S.Y., BASKAR, T.B., KIM, H.H., AL-DHABI, N.A., PARK, S.U. Ethylene inhibitors promote shoot organogenesis of *Aloe arborescens* Miller. **South Indian Journal of Biological Sciences**, v.1, p.43–46. 2015.
- SUMATHI, G., SREENIVASULU, T., REDDY, J. Simultaneous spectrophotometric determination of Zirconium (IV) and Titanium(Iv) Using 2-Hydroxynaphthaldehyde-P-Hydroxybenzoic Hydrozone, **Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences**. v.6, n.1, p.001-006. 2016.
- SUSSA, V.F., DAMATTO, M.M., ALENCAR, M.M., MAZZILLI, P.B., SILVA, C.S.P. Natural radioactivity determination in samples of *Peperomia pellucida* commonly used as a medicinal herb. **Journal of Environmental Radioactivity**, v.116, p.148-151. 2013.
- TANASE, C., BOZ, I., STINGU, A., VOLF, I., POPA, V.I. physiological and biochemical responses induced by spruce bark aqueous extract and deuterium depleted water with synergistic action in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. **Industrial Crops and Products**. v.60 p.160–167. 2014.
- TANGNEY, C.C., RASMUSSEN, H.E. Polyphenols, inflammation, and cardiovascular disease, **Current Atherosclerosis Reports**. v.15, n.5, p.298-324.
- TAVARES, A., LOUREIRO, J., CAVALEIRO, C., SALGUEIRO, L., CANHOTO, J., PAIVA, J. Characterization and distinction of two subspecies of *Eryngium duriaei* J. Gay ex Boiss., an Iberian endemic Apiaceae, using flow cytometry and essential oils composition. **Plant Systematics and Evolution**. v.299, p.611–618. 2013.
- TEBKEW, M., ASFAW, Z., SOLOMON, Z. Underutilized wild edible plants in the Chilga District, northwestern Ethiopia: focus on wild woody plants. **Agriculture & Food Security**. v.3, n.12, p.1-16. 2014.
- THEIDEL, U., VAATAINEN, S., MARTIKAINEN, J., SOINI, E., HARDT, T., DOEHNER, W. Budget impact of intravenous iron therapy with ferric carboxymaltose in patients with chronic heart failure and iron deficiency in Germany, **ESC Heart Fail**, v.4, p.274-281, 2017.
- THILAKARATHNA, S.H., RUPASINGHE, H.P. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. **Nutrients**. v.5, n.5, p.3367–3387. 2013.
- THILAKARATHNA, S.H., RUPASINGHE, H.P. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. **Nutrients**. v.5, p.3367–3387. 2013.
- TORIJA-ISASA, M.E., MATA LLANA-GONZÁLEZ, M.C. A historical perspective of wild plant foods in the mediterranean area, in: *Mediterranean Wild Edible Plants*. **Springer New York**, New York, NY, v.1, p.3–13. 2016.
- TUZEN, M., ULUOZLU, O.D., MENDIL, D., SOYLAK, M., MACHADO, L.O.R., SANTOS, W.N.L., FERREIRA, S.L.C. A simple, rapid and green ultrasound assisted and

ionic liquid dis-persive microextraction procedure for the determination of tin in foods employing ETAAS, **Food Chemistry**. V.245, P.380–384. 2018.

TUZEN, M., ULUOZLU, O.D., MENDIL, D., SOYLAK, M., MACHADO, L.O.R., SANTOS, W.N.L., FERREIRA, S.L.C. A simple, rapid and green ultrasound assisted and ionic liquid dis-persive microextraction procedure for the determination of tin in foods employing ETAAS, **Food Chemistry**, v.245, p.380–384, 2018.

UMAR, A., ZHOU, W., ABDUSALAM, E., TURSUN, A., REYIM, N., TOHTI, I., MOORE, N. Effect of *Ocimum basilicum* L. on cyclo-oxygenase isoforms and prostaglandins involved in thrombosis. **Journal of Ethnopharmacology**, v.152, 151–155. 2014.

VARGAS-TAH, A., GOSSET, G. Production of cinnamic and p-hydroxycinnamic acids in engineered microbes, **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**. v.3, p.116-125. 2015.

VASANTHA, R., KATHIRVEL, H.P., HUBER, G.M. Ultrasonication-assisted solvent extraction of quercetin glycosides from 'Idared' apple peels. **Molecules**, v.16, p.9783–9791. 2011.

VASQUEZ, M.M., HU, C., ROE, D.J. Least absolute shrinkage and selection operator type methods for the identification of serum biomarkers of overweight and obesity: simulation and application. **BMC Medical Research Methodology**, v.16, p.154. 2016.

VASQUEZ, M.M., HU, C., ROE, D.J. Least absolute shrinkage and selection operator type methods for the identification of serum biomarkers of overweight and obesity: simulation and application. **BMC Medical Research Methodology**, v.16, 154. 2016.

VINCETI, B., TERMOTE, C., ICKOWITZ, A., POWELL, B., KEHLENBECK, K., HUNTER, D. The contribution of forests and trees to sustainable diets. **Sustainability**. v.5, n.2, p.4797–4824. 2013

VISWANATHA, C., RADHAKRISHNA, N. DEVANNA, R. A study on synthesis of novel chromogenic organic reagent 3,4-dihydroxy-5-methoxy benzaldehyde thiosemicarbazone and spectrophotometric determination of Ruthenium (III) in presences of Triton X-100. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**. v.6, n.1, p.1106-1111. 2015.

WANG M, LI K, NIE Y, WEI Y, LI X. Antirheumatoid arthritis activities and chemical compositions of phenolic compounds-rich fraction from *Urtica atrichocaulis*, an endemic plant to China. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v.2012, p.1–10, 2012.

WANG, F.Q., WANG, E.T., LIU, J., CHEN, Q., SUI, X.H., CHEN, W.F., CHEN, W.X. *Mesorhizobium albiziae* sp. nov., a novel bacterium that nodulates *Albizia kalkora* in a subtropical region of China. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, n. 57, p. 1192–1199, 2007.

WANG, L.; TU, Y.C.; LIAN, T.W.; HUNG, J.T.; YEN, J.H.; WU, M.J. Distinctive antioxidant and antiinflammatory effects of flavonols. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, 54, 9798-804.

WANG, P., SUN, H., LIU, D., JIAO, Z., YUE, S., HE, X., XIA, W., JI, J., XIANG, L. Protective effect of a phenolic extract containing indoline amides from *Portulaca oleracea* against cognitive impairment in senescent mice induced by large dose of D-galactose/NaNO₂, **Journal of Ethnopharmacology**, v.203, p.252–259. 2017.

WINKEL-SHIRLEY, B. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. **Current Opinion in Plant Biology**, v.5, p.218-23. 2002.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis. A colorful model for genetics, biochemistry, cell biology, and biotechnology. **Plant Physiol.**, 2001, 126, 485-93. 2001.

WINTER, L., PFLUGMACHER, S., BERGER, M., FINKBEINER, M. Biodiversity impact assessment (BIAP)emethodological framework for screening biodiversity. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v.14, n.2, p.282-297. 2018.

WOJCICKA, A. Cereal phenolic compounds as biopesticides of ceral aphids. **Polish Journal of Environmental Studies**, v.19, p.1337–1343, 2010.

WYLIE, E.M., MANARD, B.T., QUARLES, C.D., MEYERS, L.A. "An Automated MicroSeparation System for the Chromatographic Removal of Uranium Matrix for Trace Element Analysis by ICP-OES". **Talanta**, v.189, p.24–30. 2018.

XIE, M., HU, B., WANG, Y., & ZENG, X. Grafting of gallic acid onto chitosan enhances antioxidant activities and alters rheological properties of the copolymer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.62, n.37, p.9128–9136, 2014.

YUAN, Y., HUANG, M., PANG, Y.-X., YU, F.-L., CHEN, C., LIU, L.-W., CHEN, Z.-X. Variations in essential oil yield, composition, and antioxidant activity of different plant organs from *Blumea balsamifera* (L.) DC. at different growth times. **Molecules**, v.21, p.1024. 2016.

YUAN, Y., HUANG, M., PANG, Y.-X., YU, F.-L., CHEN, C., LIU, L.-W., CHEN, Z.-X. Variations in essential oil yield, composition, and antioxidant activity of different plant organs from *Blumea balsamifera* (L.) DC. at different growth times. **Molecules**, v.21: p.1024, 2016.

ZAIN, L., PEYCHEVA, K., STANCHEVA, M. Determination of some heavy metal of selected black sea fish species. **Food Control**, v.72, p.313-318. 2017.

ZAIN, S.M., BEHKAMI, S., BAKIRDERE, S., KOKI, I. B. Milk authentication and discrimination via metal content clustering – A case of comparing milk from Malaysia and selected countries of the world. **Food Control**, v.66, p.306–314, 2016.

ZHAO, R., ZHANG, T., ZHAO, H., CAI, Y. Effects of *Portulaca oleracea* L. polysaccharides on phenotypic and functional maturation of murine bone marrow derived dendritic cells, **Nutrition and Cancer**, v.67 p.987–993, 2015.

ZHAO, Y., GUAN, Y., XU, Y., LI, Y., WU, W. Sodium ferulate combined with bone marrow stromal cell treatment ameliorating rat brain ischemic injury after stroke. **Brain Research**, v.1450, p.157–165, 2012.