



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA – UNEB
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA I – DCET I
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA – PGQA

SÉRGIO COSTA DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DO ZIMBRO (*Juniperus communis L.*)
DE DIFERENTES ORIGENS**

Salvador, BA

2023

SÉRGIO COSTA DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E
ANTIMICROBIANA DO ZIMBRO (*Juniperus communis L.*)
DE DIFERENTES ORIGENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química Aplicada da Universidade do Estado da Bahia como requisito para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Ribeiro

Salvador, BA

2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Biblioteca Professor **Edivaldo Machado Boaventura - UNEB – Campus I**
Bibliotecária: Célia Maria da Costa – CRB5/918

S725a Sousa, Sérgio Costa de

Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do zimbro (*Jeniperus communis L*) de diferentes origens / Sérgio Costa de Sousa. – Salvador, 2023.
69f. : il.

Orientador: Paulo Ribeiro.

Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade do Estado da Bahia.
Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em
Química Aplicada – PGQA. Campus I. 2023.

Contém referências e apêndices.

1. Química vegetal. 2. Metabólitos. 3. Plantas medicinais. 4. Zimbro. 5.
Farmacologia. 6. *Jeniperus*. I. Ribeiro, Paulo. II. Universidade do Estado da
Bahia. Departamento de Ciências da Vida. Campus I. III. Título.

CDD: 5572.88

BANCA EXAMINADORA

(Orientador): Prof. Dr. Paulo Ribeiro
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Lourdes Cardoso de Souza Neta
Universidade do Estado da Bahia

Profa. Dra. Floricea Magalhães Araújo
Universidade Federal da Bahia

AGRADECIMENTOS

Para finalizar esse trabalho se fez necessário contar com ajuda de muitas pessoas, as quais não poderia deixar de agradecer neste momento.

À minha família pelo suporte e apoio e a todos os colegas que tornaram essa trajetória mais tranquila.

Ao Prof. Dr. Paulo Ribeiro, pelo acompanhamento constante no processo de realização deste trabalho de forma impecável, mostrando sempre muita dedicação.

À Profa. Dra. Lourdes Cardoso de Souza Neta, pela parceria junto ao Laboratório de Ensaio Biológicos da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), dedicando seu tempo com muita paciência e carinho.

À Profa. Dra. Débora de Andrade Santana, pelo apoio e disponibilidade na realização dos trabalhos na Universidade Estadual da Bahia (UNEB).

À equipe técnica do laboratório e aos funcionários de apoio do Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada (PGQA), quando solicitados, deram pleno suporte, tornando mais fácil o processo para realização dos trabalhos.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”.

Albert Einstein

RESUMO

A espécie *Juniperus communis* L. (Zimbro) é conhecida como uma planta rica em flavonoides e compostos fenólicos. Devido às suas características aromática e antibacteriana, as bagas do zimbro são usadas na produção do gin e no tratamento de patologias, respectivamente. O objetivo deste trabalho é correlacionar a atividade antioxidante, teor de fenóis totais e atividade antimicrobiana da *Juniperus communis* L. da literatura com extratos do fruto obtidos dos produtos comerciais. As amostras de *J. communis* obtidas na forma de frutos (bagas), foram moídas em água, com a finalidade de evitar perdas, obtendo melhor eficiência. A atividade antioxidante foi determinada pelo método do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e os fenóis totais foram quantificados pelo método Folin-Ciocalteu. Os valores de IC₅₀ para a atividade antioxidante variaram de 85,16 µg·mL⁻¹ para os extratos obtidos com o uso do solvente etanol após acetato de etila (PC6) das bagas de *Juniperus communis* até 786,14 µgmL⁻¹ para o extrato (PC4). Os valores de fenóis totais variaram de 11,74 mg·EAG·g⁻¹ para o extrato em etanol após acetato (PC4) a 74,21 mg·EAG·g⁻¹ para o extrato em acetato de etila (PC9); ambos os extratos são dos produtos comerciais. Os extratos etanólicos e em acetato de etila foram os mais ativos e apresentaram maior potencial antioxidante. A atividade antimicrobiana foi avaliada frente a bactéria Gram negativa (*Escherichia coli*), controle Gentamicina de 100 µgmL⁻¹; Bactérias Gram positiva (*Bacillus subtilis*), controle Tetracilina de 40 µgmL⁻¹ e fungos *C. albicans* e *C. glabrata* ambos para Ioprox 400 µgmL⁻¹ e anfatarecina 250µgmL⁻¹ através do método de microdiluição em caldo. O extrato etanólico (PC3) apresentou atividade antimicrobiana contra as bactérias (*E. coli*), com valores de CIM = CBM = 125 µgmL⁻¹ e (*Bacillus subtilis*); CIM = 62,25 µgmL⁻¹ e CBM = 125 µgmL⁻¹, já nas amostras do extrato extraído com solvente acetato de etila (PC8) adquirida em Grãos a Granel e (PC7) adquirida em Brotas, ocorreu atividade somente para a bactéria *Bacillus subtilis*; CIM = 62,50 µgmL⁻¹ para ambas; já em relação ao CBM, no PC9 não teve efeito, já na amostra do PC7 o valor do CBM foi de 250 µgmL⁻¹. As amostras extraídas com hexano (PC10) e (PC12) apresentaram atividade antibacteriana somente para *B. subtilis*; no PC10, CIM = 31,25 µgmL⁻¹ e CBM = 500 µgmL⁻¹, já no PC12 teve como CIM o valor de 125 µgmL⁻¹ e CBM = 500 µgmL⁻¹. As bagas da espécie *J. communis* possuem atividades antioxidante, antibacteriana e aroma peculiar que lhe condicionam várias propriedades na área farmacêutica e alimentícia, que implica diretamente benefícios para a sociedade.

Palavras-chave: *Caryocedrus*. Fitoquímica. Metabólitos.

ABSTRACT

The *Juniperus species communis L.* (Juniper) is known as a plant rich in flavonoids and phenolic compounds. Due to its aromatic and antibacterial characteristics, juniper berries are used in the production of gin and in the treatment of pathologies, respectively. The objective of this work is to correlate the antioxidant activity, total phenol content and antimicrobial activity of *Juniperus communis L.* from the literature with fruit extracts obtained of commercial products. The *J. communis samples* obtained in the form of fruits (berries) were ground in water, in order to avoid losses, obtaining better efficiency. Antioxidant activity was determined by the free radical scavenging method 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and total phenols were quantified by the Folin-Ciocalteu method. IC₅₀ values for antioxidant activity ranged from 85.16 µg mL⁻¹ for extracts obtained with the use of ethanol solvent after ethyl acetate (PC6) from *Juniperus berries communis* up to 786.14 µg·mL⁻¹ for the extract (PC4). Total phenol values ranged from 11.74 mg·EAG·g⁻¹ for the ethanol extract after acetate (PC4) at 74.21 mg·EAG·g⁻¹ for the ethyl acetate extract (PC9) ; both extracts are from the commercial products. The ethanolic and ethyl acetate extracts were the most active and had the highest antioxidant potential. The antimicrobial activity was evaluated against Gram negative bacteria *Escherichia coli*), control Gentamicin 100 µg mL⁻¹ ; Gram positive bacteria (*Bacillus subtilis*), control Tetracillin 40 µg mL⁻¹ and fungi *C. albicans* and *C. glabrata* both for Iopox 400 µg mL⁻¹ and anfatarecin 250 µg mL⁻¹ using the broth microdilution method. The ethanol extract (PC3) showed antimicrobial activity against bacteria (– *E. coli*), with MIC values = MBC= 125 µg mL⁻¹ e (*Bacillus subtilis*); MIC = 62.25 µg mL⁻¹ and MBC = 125 µg mL⁻¹ , whereas in extract samples extracted with ethyl acetate solvent (PC8) acquired in Grains a Bulk and (PC7) acquired in Brotas, there was activity only for *Bacillus bacteria subtilis* ; MIC = 62.50 µg mL⁻¹ for both; in relation to CBM, in PC9 it had no effect, in the PC7 sample the value of CBM was 250 µg mL⁻¹ . Samples extracted with hexane (PC10) and (PC12) showed antibacterial activity only for *B. subtilis* ; in PC10, MIC = 31.25 µg mL⁻¹ and MBC = 500 µg mL⁻¹ , while in PC12 the MIC value was 125 µg mL⁻¹ and MBC = 500 µg mL⁻¹ . The berries of the *J. communis species* have antioxidant, antibacterial activities and a peculiar aroma that determine several properties in the pharmaceutical and food areas, which directly imply benefits for society.

Key words: *Caryocedrus* . Phytochemistry. Metabolites.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuições da seção Juniperus (sombreamento cinza) e da seção Caryocedrus (sombreamento preto)	18
Figura 2 - Tipos de folhas da Juniperus	21
Figura 3 - Biogênese dos flavonóides isolados	26
Figura 4 - Estrutura da flavan-3-ol.....	27
Figura 5 - Estrutura química base dos flavonois.....	28
Figura 6 - Estrutura dos principais constituintes químicos presentes nas bagas de Juniperus	29
Figura 7 - Estrutura dos principais constituintes químicos presentes no óleo de bagas de Juniperus	30
Figura 8 - Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio	35
Figura 9 - Curva de calibração DPPH	42
Figura 10 - Curva de calibração Ácido gálico	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Efeitos adversos que podem ocorrer pelo uso de plantas medicinais.....	15
Quadro 2 - Gênero <i>Juniperus</i> (76 espécies, 32 variedades e 8 formas).....	18
Quadro 3 - Teor total de fenólicos, flavonoides, das bagas (pinha) de <i>Juniperus communis</i> L	30
Quadro 4 - Estrutura e propriedade dos antioxidantes sintéticos e naturais mais utilizados	33
Quadro 5 - Extratos obtidos por cada amostra e suas respectivas siglas.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de IC50 e Quantidade dos compostos fenólicos nos extratos.....	44
Tabela 2 - Atividade antimicrobiana dos extratos das bagas da <i>J. communis</i> L. (Valores CIM e CBM em $\mu\text{g mL}^{-1}$)	45

LISTA DE SIGLAS

DMSO dimetilsulfóxido

DPPH 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

BHA 2,3-terc-butil-4-hidroxianisol

BHT 2,6-diterc-butil-p-creso

TBHQ terc-butil-hidroquinona

EAG Equivalente ácido gálico

MBC concentração mínima bactericida

MIC concentração mínima inibitória

PC1 Amostra com Etanol do Produto Comercial obtido em Brotas

PC2 Amostra com Etanol do Produto Comercial obtido na Grãos a Granel

PC3 Amostra com Etanol do Produto Comercial obtido nas Americanas

PC4 Amostra com Etanol após Acetato do Produto Comercial obtido em Brotas

PC5 Amostra com Etanol após Acetato do Produto Comercial obtido na Grãos a Granel

PC6 Amostra com Etanol após Acetato do Produto Comercial obtido nas Americanas

PC7 Amostra com Acetato do Produto Comercial obtido em Brotas

PC8 Amostra com Acetato do Produto Comercial obtido na Grãos a Granel

PC9 Amostra com Acetato do Produto Comercial obtido nas Americanas

PC10 Amostra com Hexano do Produto Comercial obtido em Brotas

PC11 Amostra com Hexano do Produto Comercial obtido na Grãos a Granel

PC12 Amostra com Hexano do Produto Comercial obtido nas Americanas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
A LITERATURA	11
2.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS	11
2.2 PLANTAS MEDICINAIS	12
2.3 ZIMBRO (<i>Juniperus</i>)	17
2.3.1 <i>Juniperus communis</i>	21
2.4 PRODUÇÃO DE BEBIDAS	23
2.5 PERFIL QUÍMICO DO ZIMBRO	24
2.6 MÉTODO ANALÍTICO DPPH PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	31
2.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	36
3 OBJETIVOS	37
3.1 OBJETIVO GERAL	37
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS	37
4.2 MÉTODO ANALÍTICO DPPH PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	39
4.3 DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS	40
4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	40
5 RESULTADOS	42
5.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	42
5.2 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS	43
Tabela 1 - Valores de IC50 e Quantidade dos compostos fenólicos nos extratos	44
5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	45
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE A – Tabelas complementares atividade antioxidante – DPPH	57
APÊNDICE B – Curvas de calibração do DPPH e consumo ácido gálico	60

APÊNDICE D – Tabela complementar compostos fenólicos	63
APÊNDICE E – Faixas de concentrações testadas dos extratos e antibióticos no final do experimento de microdiluição em caldo.....	64

1 INTRODUÇÃO

Segundo Olech e outros (2020), o gênero *Juniperus* L. (*Cupressaceae*) consiste em cerca de 50-67 espécies, dependendo da classificação taxonômica, e inclui mais de 220 cultivares.

O *Juniperus communis* é um arbusto ou árvore conífera dioica, polinizada pelo vento. As fêmeas produzem anualmente cones carnudos, esféricos e semelhantes a frutos de aproximadamente 6,5 mm de diâmetro que levam 2 ou 3 anos para amadurecer (GRUWEZ *et al.*, 2014). *Juniperus* é um dos gêneros mais diversos de coníferas, algumas espécies são encontradas no nível do mar (*J. virginiana* var. *silicícola*, *J. taxifolia* var. *lutchuensis*, *J. procumbens*). O calcário é o substrato preferido de muitas espécies dessa árvore; outras menores, consideradas arbustos, crescem em dunas de areia e arenito e variam de desertos (*J. californica*, *J. osterosperma*) a pântanos (*J. communis* var. *charlottensis*) no arquipélago Haida Gwaii, na Colúmbia Britânica, antigas Ilhas da Rainha Carlota (ADAM, 2014).

Da planta do *juniperus* podemos obter diversos constituintes químicos; entre estes, os compostos fenólicos são os que têm maior predominância. A maioria dos fenólicos que fazem parte da composição dos metabólitos secundários das plantas de *J. communis* L, conhecida como zimbro, são: ácido hidroxicinâmico: ácido quínico, ácido cumárico e o ácido 5-O-cafeoilquínico; ácido hidroxibenzóico: ácido protocatécnico; flavan-3-ols: catequina e epicatequina; flavanóis: quercetina, quercetina-3-O-rutinoside e flavonas: apigenina, luteolina, amentoflavona, naringenina e seus derivados (GONÇALVES *et al.*, 2022).

Os óleos de *J. communis* são utilizados na aromaterapia, perfumaria e bebidas alcoólicas como gin, conforme relata Zheljzakov e outros (2018). O óleo de zimbro possui uma ampla gama de atividades farmacológicas, como propriedades diuréticas, antissépticas, carminativas, estomacais, antirreumáticas e tem sido tradicionalmente usado para cistite, flatulência e cólica. Além disso, tem sido aplicado topicamente para dores reumáticas nas articulações ou músculos (FILIPOWICZ *et al.*, 2003).

Em Trás os Montes, região localizada no norte de Portugal, as bagas de zimbro são tradicionalmente utilizadas como condimentos em pratos de carne de caça,

conferindo-lhe um sabor e aroma peculiares. Essa especiaria também é utilizada na fabricação do gin e na aromatização de bebidas tradicionais (BACÉM, 2018).

Desde tempos antigos o homem utilizava Frutas, Legumes, Ervas, Água e Argila para cuidar de seus males. Mesmo na atualidade, em que a tecnologia médica mostra-se capaz de realizações extraordinárias, muitas pessoas continuam adeptas da medicina natural por descobrir nela o meio ideal para recuperar a saúde do corpo mantendo o equilíbrio orgânico (SILVA 2003).

Essa pesquisa é justificada pela relevância das informações que podem ser obtidas, pela contribuição para a ciência e pelo potencial impacto positivo na saúde pública e nas indústrias farmacêuticas e de alimentos funcionais. Os resultados podem abrir caminho para o desenvolvimento de novas terapias ou suplementos naturais, beneficiando a sociedade como um todo.

Com essa pesquisa, busca-se fornecer informações relevantes sobre a qualidade e potencial biológico dos produtos comerciais da *J. communis L.*, assim como sua possível aplicação terapêutica ou nutricional. Além disso, a correlação com dados da literatura contribuirá para a validação dos resultados e enriquecimento do conhecimento científico sobre as propriedades medicinais e nutricionais dessa planta. Os resultados obtidos poderão ter aplicações em indústrias farmacêuticas e de alimentos funcionais, bem como proporcionar uma base para o desenvolvimento de novos produtos naturais com benefícios à saúde.

A LITERATURA

2.1 PLANTAS ALIMENTÍCIAS

O Brasil é rico em diversidade de espécies frutíferas e hortaliças nativas, especialmente na Amazônia. A biodiversidade do País é gigantesca, devemos incluir também a diversidade florística (fitodiversidade) com potencial alimentício, que é pouca conhecida e que se faz presente na base da agricultura nacional ou mesmo regional. A maioria das ervas espontâneas, conhecida popularmente como daninhas, são espécies com grande importância ecológica e econômica, algumas delas são

alimentícias. Em prol da busca de alimentos saudáveis, de origens conhecidas e que contribuam para conservação ambiental, os paradigmas e tabus alimentares precisam ser repensados (KINUPP, 2019).

Na alimentação, o zimbro é utilizado como condimento, pois, por ser uma especiaria com sabor, cor e aroma característico, confere ao alimento gosto peculiar, podendo interferir até na cor do alimento após a preparação. Essa especiaria pode ser usada de forma isolada ou até mesmo misturada a outras especiarias para atender a diferentes gostos. A especiaria mais importante na composição do gin é o zimbro (*Juniperus communis L.*), que confere um sabor característico e único; para uma bebida alcoólica ser denominada gin, tem que ter o zimbro na sua constituição, mesmo quando forem acrescentados aromatizantes ou substâncias diversas mudando sua característica inicial, essas alterações não mudam a sua nomenclatura, ou seja, sua raiz, sua essência continuará sendo chamada de gin (BUCK, 2020).

O zimbro também pode ser adicionado à cerveja proporcionando um sabor diferenciado e com características peculiares; neste caso, ele entra para agregar valor ao produto (COSTANTIN, 2022).

2.2 PLANTAS MEDICINAIS

Algumas espécies de plantas já eram utilizadas pela civilização antiga para fins medicinais, para prevenção, tratamento e cura de doenças. Esta prática medicinal é a mais antiga da humanidade. O uso de plantas medicinais, por muitos anos, mostrou que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas (RODRIGUES *et al.*, 2011).

Os metabólitos secundários em plantas sofrem interferência direta do ambiente do qual fazem parte, representam uma interface química entre as plantas e o ambiente no seu entorno, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais; as alterações sofridas são resultantes de um conjunto de processos, entre eles temos o bioquímico, fisiológico e o ecológico. Fatores como sazonalidade; índice pluviométrico, temperatura e altitude. As alterações citadas anteriormente levam a variações no metabolismo das plantas, gerando quantidades de metabólitos totais diferentes, assim como suas proporções na mistura (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Desde a antiguidade as civilizações perceberam a existência de plantas dotadas de maior ou menor poder de toxicidade ao lado das plantas comestíveis que, ao serem experimentadas no combate às doenças, revelaram certo potencial curativo, embora empiricamente. Essas informações inicialmente eram transmitidas oralmente às gerações posteriores, pois nesse período ainda não existia a escrita; a partir do surgimento da escrita, as informações eram guardadas como um acervo de muito valor (CUNHA, 2003).

Registros de estudos relacionados a plantas medicinais misturam-se com a própria história da humanidade, desde a origem da cultura ocidental com as obras do “Pai da Medicina”, Hipócrates (460-360 a.C.), até a atualidade através dos estudos de potencialização da produção de compostos bioativos com o uso da engenharia metabólica (NETO, 2005).

O papiro de Ebers, que representa o primeiro tratado médico do Egito conhecido do século XVI antes da era cristã, tinha em sua escrita textos destinados ao tratamento de doenças internas e indicações sobre a composição dos medicamentos a serem utilizados. A medicina egípcia tinha como base para tratamentos das enfermidades a magia e a religião; no entanto, é sabido que já eram utilizados o sene, o zimbro, as sementes do linho, o funcho, o rícino e outras diversas plantas. Além das civilizações egípcias, a chinesa e a hindu tinham vários livros em que há referência a numerosos fármacos (CUNHA, 2003).

Os povos helênicos ganham destaque no que se refere à contribuição das civilizações mais recentes; esses povos receberam dos persas muitos produtos orientais. Grandes médicos faziam parte destes povos; Hipócrates, Galeno e Teofrasto deixaram descrições botânicas muito precisas e detalhadas, descrevendo efeitos tóxicos e propriedades medicinais. Além destes, quem depois se destaca nesse mesmo campo é Dioscórides; ao seguir com os exércitos de Roma pela Península Ibérica, no Norte de África e na Síria, recolhia muitas informações sobre plantas, resultando no tratado “De Matéria Médica”, o qual representa um marco histórico, aprendizado de numerosos fármacos, muitos destes são usados na atualidade; nesse tratado consta registro de cerca de 600 produtos, não só vegetal, como também animal e mineral. No século XVI, os Jesuítas foram os responsáveis

pela divulgação dos medicamentos de origem vegetal usados pelos indígenas do Brasil (CUNHA, 2003).

A utilização de plantas com fins medicinais pela população em geral não tem data conhecida, no entanto não resta dúvida de que esse conhecimento surgiu de forma empírica, sem caráter científico, foi baseado nos saberes locais historicamente legitimados e repassados de geração em geração. O consumo desses remédios tornou-se um hábito de consumo mundial, talvez somente por estar associada à busca pela saúde ou pelo poder econômico da população, ou ambos os fatores. O uso das plantas medicinais por grande parte da população não significa que sua potencialidade terapêutica seja comprovada e aceita no âmbito da comunidade científica. Cuidados têm que ser tomados no uso dessas plantas medicinais, pois podem causar intoxicação, agravando a saúde do indivíduo. São muitas as variáveis que devem ser levadas em consideração, como o desconhecimento de suas possíveis interações no organismo, seja com os medicamentos alopáticos, seja pela mistura indevida de várias plantas, ou de sua toxicidade (FIGARO *et al.*, 2022).

O Boldo, por sua vez, é uma das plantas mais citadas em estudos etnobotânicos. No entanto, existe carência de informações sobre a sua efetiva função na atividade gastroprotetora (BATTISTON *et al.*, 2015).

Outrossim, a cultura de usar o alho como remédio é uma das mais antigas que se conhece. O cultivo do alho vem desde a antiguidade, o produto é visto por grande parte da população como remédio e, para outros, como condimento, devido às suas propriedades aromáticas e de sabor (OLIVA, 2017).

O uso de plantas medicinais deve seguir os mesmos cuidados dos medicamentos utilizados na medicina tradicional. Os riscos para a saúde do ser humano são grandes quando essas plantas são consumidas indevidamente, principalmente por mulheres grávidas, podendo provocar o aborto; entre elas encontram-se alho (*Allium sativum*), aloe (*Aloe ferox*), angélica (*Angelica archangelica*), arnica (*Arnica montana*), cânfora (*Cinnamomum canphora*), confrei (*Symphitum officinalis*), eucalipto (*Eucaliptus globulus*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), gengibre (*Zengiber officinalis*) e sene (*Cassia angustifolia* e *Cassia acutifolia*) (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005) (Quadro 1).

Quadro 1- Efeitos adversos que podem ocorrer pelo uso de plantas medicinais

Nome popular	Espécie	Efeitos adversos (toxicidade)	Constituintes responsáveis
Alho	<i>Allium sativum</i> (Liliaceae)	Náuseas, vômitos, dermatite por contato	Compostos à base de enxofre
Aloe	<i>Aloe ferox</i> (Liliaceae)	Desconforto abdominal	Antraquinonas
Angélica	<i>Angelica archangelica</i> (Umbelliferae)	Fotodermatite	Furanocumarinas
Anis	<i>Pimpinella anisum</i> (Umbelliferae)	Dermatite por contato	Anetol
Boldo	<i>Peumus boldo</i> (Monimiaceae)	Irritação renal	Óleo essencial (ascaridol)
Capsicum	<i>Capsicum annum</i> (Solanaceae)	Alveolite alérgica	Capsaicinóides
Cássia	<i>Cinnamomum cassia</i> (Lauraceae)	Reações alérgicas	Cinamaldeído
Confrei	<i>Symphytum officinale</i> (Boraginaceae)	Hepatotoxicidade	Alcalóides pirrolizidínicos
Dente-de-leão	<i>Taraxacum officinale</i> (Composite)	Reações alérgicas por contato	Lactonas sesquiterpênicas
Erva-de-São-João	<i>Hypericum perforatum</i> (Guttiferae)	Fotodermatite	Hipericina
Guaiacum	<i>Guaiacum officinale</i> (Zygophyllaceae)	Dermatite por contato	Resina
Mate	<i>Ilex paraguayensis</i> (Aquifoliaceae)	Distúrbios hepáticos	Xantinas
Sene	<i>Cassia angustifólia</i> (Leguminosaeae)	Desconforto abdominal, perda de eletrólitos e água	Antraquinonas

Fonte: VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005.

Novas opções de condimentos naturais têm surgido, objetivando principalmente a redução do consumo de sal. As plantas condimentares vêm sendo uma ótima opção para estimular hábitos alimentares saudáveis, elas possuem compostos farmacologicamente ativos, tais quais: terpenos, compostos fenólicos e flavonoides. Essas espécies, além de aromáticas, característica que lhe confere a palatabilidade, realçando propriedades sensoriais nos alimentos (*flavor*), possuem também características antimicrobianas e antioxidantes (MENDES, 2015).

O uso da natureza pela população, para fins terapêuticos, teve início no Brasil pelas comunidades indígenas, transferido posteriormente aos portugueses, a partir daí difundido até os dias atuais, principalmente por causa da implantação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde (SUS), com a Política Nacional de Plantas Medicinais e Medicamentos Fitoterápicos, e a Portaria n. 886 de 2010, do Ministério da Saúde (MS) (DUARTE, 2006).

A procura por grande parte da população por remédios que não provoquem efeitos colaterais para problemas como insônia, artrite, dores de cabeça, ansiedade e depressão vem crescendo; a partir daí, surge o interesse das pessoas por remédios fitoterápicos, que se baseiam no uso de extratos naturais ou componentes ativos para promoção da saúde e aliviar enfermidades (CRAIG, 1999).

Há muitos anos as plantas vêm sendo utilizadas pelos seres humanos para diversas finalidades; seja na manutenção da saúde, melhorando a qualidade de vida, seja como especiarias para temperos e bebidas, como também na produção de cosméticos, corantes e medicamentos. Muitas drogas ocidentais foram originadas de extratos vegetais; temos como exemplos a reserpina, medicamento que é utilizado amplamente no tratamento da hipertensão arterial, extraída da planta *Rauwolfia serpentina*; *Salix alba*, obtido da casca do salgueiro, para ajudar a suavizar a febre (CRAIG, 1999).

A cultura de uso de ervas medicinais é um saber bastante empregado em nossa vida, sendo denominada de práticas complementares. Apesar das ervas medicinais já estarem presente na cultura popular brasileira (TEIXEIRA; NOGUEIRA, 2005).

As ervas eram utilizadas desde a antiguidade para dar sabor aos alimentos, na maioria delas esse sabor advém dos ingredientes aromáticos em seus óleos essenciais e oleorresinas. Há ervas que ofertam mais de uma função na culinária, temos como exemplo o açafrão e a páprica, que, além do sabor, dão cor aos alimentos. O termo ervas tem significados diferentes quando se trata da medicina herbal e na botânica. Na medicina herbal,

O termo ervas é usado para se referir não apenas a plantas herbáceas, mas também a cascas; raízes; folhas; sementes; flores e frutos de árvores, arbustos e trepadeiras lenhosas; e extratos dos mesmos que são valorizados por suas qualidades salgadas, aromáticas ou medicinais. (CRAIG, 1999, p. 491).

Aprofundamento em pesquisas e a utilização de compostos terapêuticos de origem vegetal deverão ter uma elevação significativa na demanda dos mercados nacionais e internacionais (NETO, 2005).

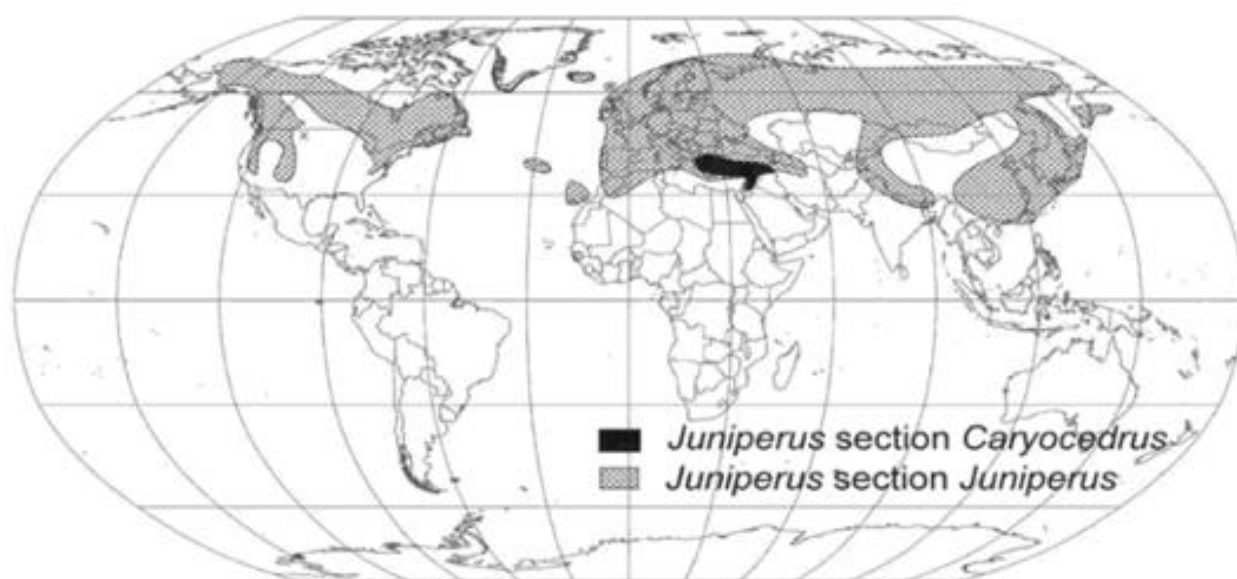
2.3 ZIMBRO (*Juniperus*)

O gênero *Juniperus* é composto por aproximadamente 75 espécies em 3 seções: seção *Caryocedrus*; seção *Juniperus* com 14 espécies (quadro 2), sendo 12 no hemisfério oriental e uma espécie *J. communis*, nas regiões da América do Norte, Ásia e Europa, que ficam mais próximas do Polo Norte (Figura 1), frutos (pinha) de sementes azuis ou vermelhos, muitas vezes com 3 sementes; seção *Sabina* com aproximadamente 61 espécies distribuídas nos hemisférios oriental e ocidental, apresentam cones de 1 a 13 sementes, azul, vermelho-cobre, rosa ou marrom (ADAM, 2014).

A seção *Caryocedrus* é composta exclusivamente pela espécie conhecida como *Juniperus drupácea*, sendo esta a única representante do gênero *Arceuthos* na família *Cupressaceae*. Embora semelhante à seção *Juniperus*, ela se diferencia pela presença de cones pedunculados maiores com sementes fundidas e folhas mais largas. *J. drupácea* é uma árvore que pode atingir de 10 a 20 metros de altura e é nativa da região do Mediterrâneo. Suas folhas são similares a agulhas, organizadas

em espirais de três, com cada folha medindo entre 15 e 25 mm de comprimento. O fruto tem formato globosamente ovalado, inicialmente-esverdeado, e ao amadurecer adquire tonalidades azul-violeta a marrom. (AKINCI, 2004).

Figura 1- Distribuições da seção *Juniperus* (sombreamento cinza) e da seção *Caryocedrus* (sombreamento preto)



Fonte: Adams (2014).

Quadro 2 - Gênero *Juniperus* (76 espécies, 32 variedades e 8 formas)

Seção <i>Caryocedrus</i> (1 espécie)	
<i>J. drupácea</i>	
Seção <i>Juniperus</i> : (14 espécies, 9 variedades)	
<i>J. brevifolia</i>	<i>J. jackii</i>
<i>J. cedrus</i>	<i>J. macrocarpa</i>
<i>J. communis</i> L.	<i>J. maderensis</i>
var. <i>communis</i> , var. <i>charlottensis</i> , var. <i>depressa</i> , var. <i>hemisphaerica</i> , var. <i>kamchatkensis</i> var. <i>kelleyi</i> , var. <i>megistocarpa</i> , var. <i>nipponica</i> e var. <i>saxatilis</i> (hemisfério oriental)	<i>J. mairei</i>

<i>J. deltoides</i>	<i>J. navicularis</i>
var. <i>spilinanus</i>	<i>J. oxycedrus</i> (= var. <i>badia</i>)
<i>J. formosana</i>	<i>J. rígida</i>
<i>J. brevifolia</i>	var. <i>rigida</i> e var. <i>conferta</i>
<i>J. cedrus</i>	<i>J. taxifolia</i>
<i>J. communis</i> L.	var. <i>lutchuensis</i>
var. <i>communis</i> , var. <i>charlottensis</i> , var. <i>depressa</i> , var. <i>hemisphaerica</i> , var. <i>kamchatkensis</i> var. <i>kelleyi</i> , var. <i>megistocarpa</i> , var. <i>nipponica</i> e var. <i>saxatilis</i> (hemisfério oriental)	<i>J. jackii</i>
Seção <i>Sabina</i> : (61 espécies, 23 variedades e 8 formas)	
<i>J. angosturana</i>	<i>J. jaliscana</i>
<i>J. arizonica</i>	<i>J. martinezii</i>
<i>J. ashei</i>	<i>J. monosperma</i>
<i>J. californica</i>	<i>J. monticola</i>
forma <i>luterana</i>	forma <i>monticola</i> , forma <i>compacta</i> e forma <i>orizabensis</i>
<i>J. coahuilensis</i>	<i>J. occidentalis</i>
<i>J. comitana</i>	forma <i>corbetii</i>
<i>J. deppeana</i>	<i>J. osteosperma</i>
var. <i>deppeana</i> (forma <i>elongata</i> , forma <i>sperryi</i> e forma <i>zacatacensis</i>)	<i>J. ovata</i>
var. <i>gamboana</i> , var. <i>patoniana</i> e var. <i>robusta</i>	<i>J. pinchotti</i>
<i>J. durangensis</i>	<i>J. poblana</i>
var. <i>topiensis</i>	<i>J. saltillensis</i>
<i>J. flaccida</i>	<i>J. standleyi</i>
<i>J. grandis</i>	<i>J. zanonii</i>
<i>J. carinata</i>	<i>J. przewalskii</i>
<i>J. convallium</i>	<i>J. psendosabina</i>
forma <i>pendula</i>	<i>J. recurva</i>
<i>J. coxii</i>	<i>J. rushfortbiana</i>
<i>J. fargesii</i>	<i>J. saltuaria</i>
<i>J. indica</i>	<i>J. squamata</i>
var. <i>caespitosa</i>	forma <i>squamata</i>

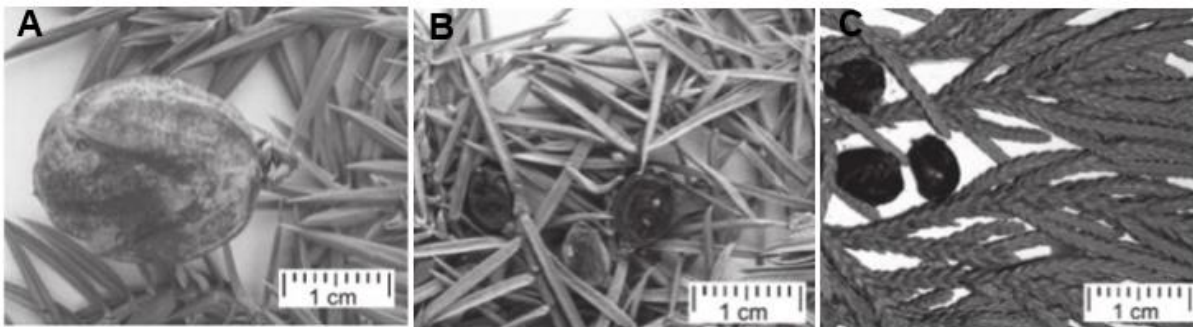
<i>J. komarovii</i>	var. <i>wilsonii</i>
<i>J. morrisonicola</i>	<i>J. tibetica</i>
<i>J. pingii</i>	<i>J. uncinata</i>
var. <i>miebei</i>	
<i>J. excelsa</i>	<i>J. procera</i>
<i>J. foetidissima</i>	<i>J. serauschanica</i>
<i>J. polycarpus</i>	<i>J. thurifera</i> L.
var. <i>polycarpus</i>	var. <i>thurifera</i>
var. <i>turcomanica</i>	var. <i>africana</i>
<i>J. chinensis</i> L.	<i>J. phoenicea</i> L.
var. <i>chinensis</i>	<i>J. sabina</i> L.
var. <i>sargentii</i>	<i>J. semiglobosa</i>
var. <i>procumbens</i>	var. <i>semiglobosa</i> , var. <i>jarkendensis</i> e var. <i>talássica</i>
<i>J. davurica</i>	<i>J. tsukusiensis</i>
var. <i>arenaria</i> e var. <i>mongolensis</i>	var. <i>tsukusiensis</i> e var. <i>taiwanensis</i>
<i>J. erectopatens</i>	<i>J. turbinata</i>
<i>J. microsperma</i>	
<i>J. barbadensis</i> L.	<i>J. horizontalis</i>
var. <i>lucayana</i>	<i>J. marítima</i>
<i>J. bermudiana</i> L.	<i>J. scopulorum</i>
<i>J. blancoi</i>	<i>J. virginiana</i> L.
var. <i>blancoi</i> , var. <i>huchuentensis</i> e var. <i>mucronata</i>	var. <i>virginiana</i> e var. <i>silicícola</i>
<i>J. gracilior</i>	
var. <i>gracilior</i> , var. <i>ekmanii</i> ,	
var. <i>saxicola</i> e var. <i>urbaniana</i>	

Fonte: Traduzido e adaptado de Adam (2014).

A seção *Juniperus* é separada geograficamente pela sua morfologia do fruto (pinha) e sementes. Todas essas espécies de seções *Caryocedrus* e *Juniperus* têm o formato das folhas fina e pontiaguda (ADAMS, 2014) (Figura 2).

Os tipos de folhas das diversas espécies se resumem em três tipos:

Figura 2 - Tipos de folhas da *Juniperus*



Fonte: Adams (2014).

Nas folhas de *J. drupácea*, as escamas de folhas visíveis no cone de sementes, fixação das folhas de formato fina e pontiaguda ao caule é bem visível (Figura 2, A). As folhas de *J. communis* var. *communis*, apresentam formato fino e pontiagudo, no caule ocorre uma sutil separação das folhas (Figura 2, B); já as folhas de *J. bermudiana* são formadas por pequenas folhas opostas agrupadas em tufos individuais, dando uma aparência de “cadeamento de contas” (Figura 2, C) (ADAMS, 2014).

Os zimbros que possuem folhas verdadeiramente serrilhadas tiveram origem no hemisfério ocidental; outros *juníperus* podem ser confundidos, devido à sua aparência. Para resolver esse impasse, nada melhor que o uso do sequenciamento de DNA. Foi postulado que os zimbros serrados e semiáridos migraram do hemisfério oriental para o oeste através da North American Land Bridge (NALB) (ADAMS, 1998). O Landbridge norte-americano teve grande importância na migração boreotropical, que explica a hibridização entre linhagens geograficamente distantes no clado (JIANG *et al.*, 2019). Apesar de o calcário ser o substrato preferido para muitas espécies de *Juniperus*, outros táxons se desenvolvem em dunas de areia, granito, arenito e variam de desertos a pântanos (ADAMS, 2014).

2.3.1 *Juniperus communis*

O *Juniperus communis* L., denominado também de zimbro, zimbro anão, *junípero* ou *junípero-azul*, é um arbusto abundante da família das Cupressáceas, sendo uma das plantas que as sementes não estão no interior do fruto, apresenta ampla distribuição nas regiões que inclui o Norte da África, Europa e Ásia (BACÉM, 2018).

O zimbro é uma especiaria muito usada em algumas culinárias do Hemisfério Norte. Essa especiaria proporciona sabor e aroma ao gin, destilado muito consumido pelos brasileiros. As bagas de *junípero*, como também é conhecido, têm aroma cítrico. Mas não é só em bebidas que são utilizados, em países como Portugal essa especiaria entra como tempero principal das carnes. Aqui no Brasil essa especiaria pode ser adquirida madura e seca, apresentam grande durabilidade, no entanto tendem a perder o aroma a partir de 02 anos. O zimbro tem poucas calorias, mas apresenta em sua composição compostos bioativos como: flavonoides e polifenóis, ajudam na saúde do nosso organismo (THOMAS; EL-BARGHATHI; POLWART, 2007).

As espécies britânicas são divididas em duas subespécies principais. A subespécie *communis*, que varia de um formato de arbusto expandido a uma árvore ereta; essa característica depende do tipo de solo. As árvores com formato ereto geralmente nascem em solos calcários no sul da Inglaterra e em vários solos nas terras altas escocesas, já as subespécies *nana*, com formato de arbusto, são restritas a pântanos, a regiões rochosas e matagais montanhosos. Apesar de serem bastante resistentes, os impactos ambientais podem estar causando danos à essa espécie; em lugares no noroeste da Escócia, onde deveriam estar presentes, devido às características do habitat, não são encontradas (McGOWAN *et al.*, 2009). As duas subespécies são resistentes à seca e ao gelo, ou seja, suportam temperaturas extremas, mas não resistem ao fogo, que é natural. Uma terceira subespécie, *hemisphaerica*, encontrada principalmente nas montanhas do sul da Europa, tem duas pequenas populações em falésias marítimas no Reino Unido (THOMAS; EL-BARGHATHI; POLWART, 2007).

A subespécie prostrada *Juniperus communis nana* (zimbro anão) ocorre em áreas remotas com clima oceânico frio. Os impactos ambientais e a deposição de nitrogênio podem afetar a dinâmica das populações dessa subespécie (McGOWAN *et al.*, 2009).

Entre as espécies de *Juniperus*, a *Juniperus communis* e suas variações são as mais invasivas, essa espécie é bastante atrativa para pássaros, devido à suculência de seus cones de semente. É considerada erva invasora na Hungria e Europa Central, assim como na América do Norte, onde está presente a espécie

Juniperus cummunis, variação *depressa*. A variedade morfológica desta espécie é bastante elevada, pois ocorreram diversas mutações, favorecendo o surgimento de sementes e folhas diversificadas (ADAMS, 2014). Há muito tempo que são conhecidos os benefícios das diversas plantas dessa espécie, e o seu uso está descrito para o tratamento das mais variadas doenças, desde constipações, patologias a nível gástrico, ginecológico e até dermatológico (ANJOS, 2017).

2.4 PRODUÇÃO DE BEBIDAS

Estudos sobre bebidas e comidas vêm ganhando espaço nos diversos campos da ciência, partindo do consentimento de que o gosto alimentar não é constituído exclusivamente a partir das suas propriedades nutricionais, transcende esse aspecto, constitui-se como elemento cultural e histórico, mantendo seus padrões alimentares ou alterados na própria dinâmica social das localidades (CALDEIRA; FAVA, 2016).

Diversos estudos epidemiológicos desenvolvidos nas últimas décadas indicam que pode ocorrer redução de enfermidades relacionadas ao estresse oxidativo com o consumo de vegetais e bebidas ricas em antioxidantes naturais. Na atualidade, as bebidas à base de plantas vêm sendo consumidas por muitas pessoas, seja pelo estilo de vida, seja por questões alimentares ou até mesmo por crenças religiosas. Devido a sua diversidade, o Brasil apresenta um grande potencial no cenário mundial na produção dessas bebidas (GIADA, 2014).

O zimbro (*Juniperus communis L.*) é conhecido como uma planta rica em flavonoides e compostos fenólicos. Devido a sua característica aromática, as bagas do zimbro são a principal especiaria utilizada na produção do gin (NUNES; ANJOS; CALDEIRA, 2012). O significado do nome da bebida tem sua origem do latim *juniperus*, sofrendo transformação para jenever ou genever na Holanda; já na França é chamada de genièvre e na Espanha é conhecida como ginebra. Os ingleses acabaram abreviando o nome para gin; os portugueses utilizam a grafia gim, ou seja, é bastante comum encontrar as duas grafias (gin e gim) na literatura e no comércio. O gin possui uma graduação alcoólica elevada, a legislação brasileira estipula uma faixa do teor alcoólico do gim de 35% a 54% de álcool em volume (AMARANTE, 2016).

Sem zimbro na composição não existe o gin, no entanto, o zimbro também é muito utilizado na produção de outras bebidas alcoólicas espirituosas, fornecendo aroma específico. Em Portugal, na Serra da Estrela, região considerada turística, os destilados contendo zimbro são bastante apreciados, fazem parte da sua cultura (NUNES; ANJOS; CALDEIRA, 2012).

O zimbro também pode ser adicionado na produção de bebidas fermentadas, como por exemplo a cerveja, com o objetivo de produzir um aroma e sabor diferenciado. O aumento da produção de cervejas artesanais vem proporcionando inovações para sua elaboração; como a fabricação normalmente é realizada em pequena escala, possibilita o desenvolvimento de cervejas diferenciadas para consumidores cada vez mais exigentes. Desse contexto surge a adição das bagas do zimbro (*Juniperus communis*) na fabricação da cerveja, promovendo como resultado um sabor e aroma característico (COSTANTIN, 2022).

O século XXI está experimentando o renascimento do gin. Esse fenômeno teve início no Mediterrâneo, como ponto central na Espanha, propagou-se em um primeiro momento para Portugal e para a Grécia, logo depois para o resto do mundo. O que propiciou a ocorrência desse fenômeno foi o surgimento de releituras da bebida gintonica, composta principalmente por gin, água tônica e bastante gelo temperado com *bitters*, sendo misturado também com frutas, ervas e diversas outras especiarias (AMARANTE, 2016).

2.5 PERFIL QUÍMICO DO ZIMBRO

O *Juniperus communis* é utilizado como planta medicinal por várias culturas, a sua madeira é muito durável, tem grande valor no mercado devido a sua cor característica, seu aroma e suas propriedades antimicrobianas. Os óleos de zimbro são utilizados na aromaterapia, perfumaria e bebidas alcoólicas como gin, (ZHELJAZKOV *et al.*, 2018).

O óleo de zimbro possui uma ampla gama de atividades farmacológicas, devido às suas propriedades diuréticas, antissépticas, carminativas, estomacais e antirreumáticas e tem sido tradicionalmente usado para cistite, flatulência e cólica. Além disso, tem sido aplicado topicamente para dores reumáticas nas articulações ou músculos (FILIPOWICZ *et al.*, 2003).

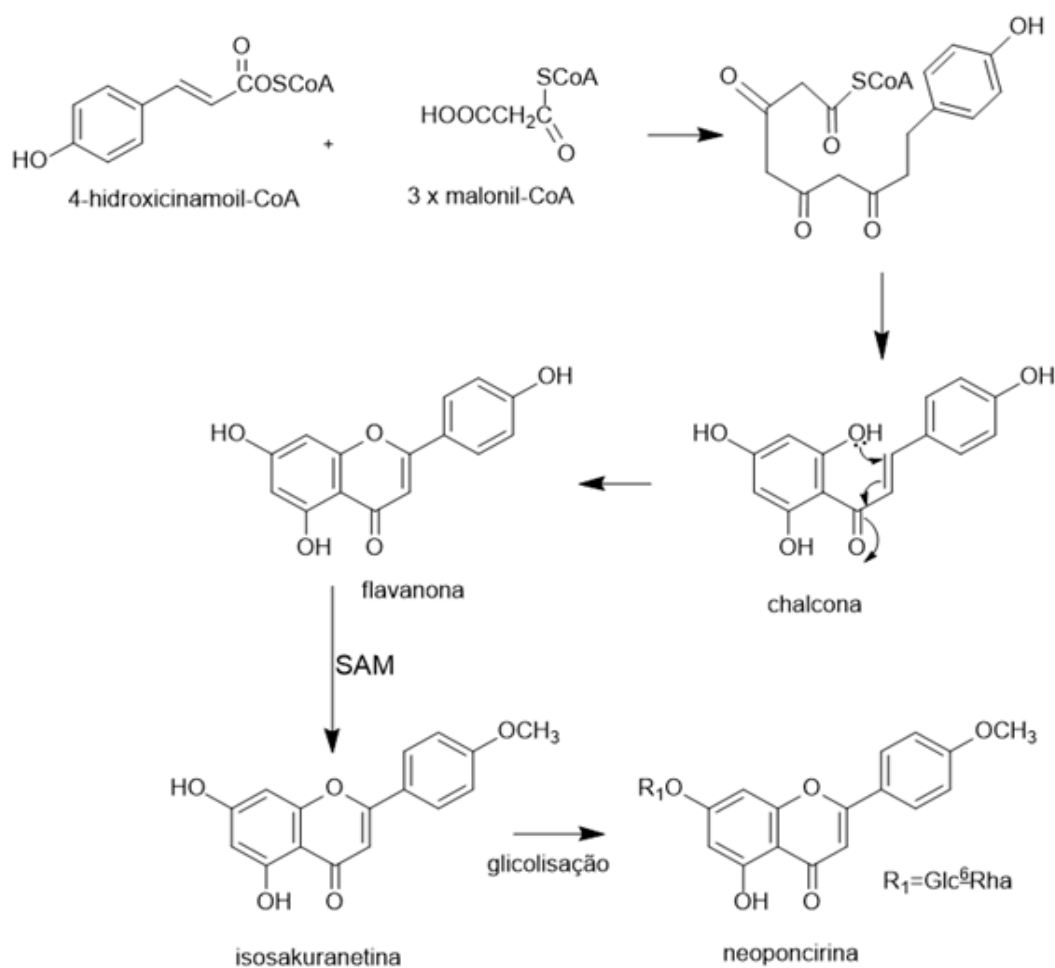
As diversas espécies de *Juniperus communis* L. são compostas por uma série de metabólitos secundários que são produzidos pelas plantas, com a finalidade de promover o metabolismo celular regular, além de promoverem proteção contra fatores bióticos e abióticos. As substâncias fitoquímicas são as principais responsáveis pelas características relacionadas a aroma e cor, ou seja, propriedades organolépticas das plantas; podem ser divididos em três grupos principais: Lipídios (Carotenóides e Clorofilas); compostos fenólicos e os Compostos Orgânicos Voláteis (COV). Fatores como: idade da planta, grau de maturação, técnicas de cultivo, localização geográfica entre outros, levam a alterações na composição quantitativa e qualitativa das plantas independente do genótipo (GONÇALVES *et al.*, 2022).

A análise fitoquímica consiste em determinar os constituintes químicos das espécies vegetais ou conhecer grupos de metabólitos secundários relevantes da espécie em estudo (SILVA; MIRANDA; CONCEIÇÃO, 2010).

Entre os fitoquímicos, os compostos fenólicos (flavonóides) são os que têm maior predominância na natureza; têm como principal característica a acidez, ou seja, são fenólicos ácidos, exemplos: ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico. Os flavonóides podem ser subdivididos em isoflavonas, coumestanos, antocianidinas, flavan-3-óis, flavanonas, flavanonóis, flavonas ou flavonóis, a identificação do flavonóide depende exclusivamente da sua estrutura. No entanto, na composição de todas as estruturas está presente pelo menos um anel fenólico ligado a um ou mais grupos de hidroxila. Mediante essas características, os compostos fenólicos apresentam uma grande capacidade de eliminar radicais livres e espécies reativas, assim como quelar metais, por consequência a neutralização do estresse oxidativo (GONÇALVES *et al.*, 2022).

Os flavonóides são oriundos de uma rota biossintética mista. Eles são biossintetizados a partir da condensação de uma unidade de 4-hidroxicinamoil-CoA originada do caminho chiquimato com três unidades de malonil-CoA integrantes da rota do acetato, e assim são formadas as chalconas sob ação da enzima chalcona sintase (figura 3). A partir da chalcona, todos os demais derivados dos flavonóides são formados (DEWICK, 2002).

Figura 3 - Biogênese dos flavonóides isolados



Fonte: autoria própria.

Entre os grupos de compostos presentes no nosso cotidiano, os fenólicos sobressaem, mesmo não sendo percebidos, muito do odor, sabor e coloração dos diversos vegetais se devem às substâncias pertencentes a esse grupo. Os compostos fenólicos, além de serem atrativos para o homem, são também para outros animais, os quais são seduzidos para polinização ou disseminação de sementes (VIZZOTTO; KROLOW; WEBER, 2010).

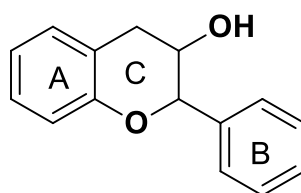
Enfatizando os compostos fenólicos encontrados na espécie *J. communis* L. (Quadro 3), seus níveis dependem do genótipo, parte da planta, origem, idade e solvente utilizado para extrair os compostos fenólicos e realizar os estudos, mas, de uma forma geral, aumentam com latitude e idade da planta. Bagas de *J. communis* L. (var. *communis*) foram submetidas a diferentes concentrações de ozônio e

tratamentos de tempo. Verificou -se que tratamento com concentrações de ozônio de 100 e 130 g/m³ por 30 minutos resultou em aproximadamente o dobro do conteúdo fenólico 15,47 e 12,91 mg equivalente de catequina por g de peso seco (dw). Por consequência disso, ocorreu o aumento de suas capacidades antioxidantes. A maioria dos fenólicos que fazem parte da composição dos metabólitos secundários das plantas de *J. communis L.* são: ácidos hidroxicinâmico (ácido quínico , ácido cumárico e o ácido 5-*O*-cafeoilquínico; ácidos hidroxibenzoico (ácido protocatécnico); flavan-3-Ols (catequina e epicatequina ; flavanóis (quercetina, quercetina-3-*O*-rutinoside); flavonas (apigenina, luteolina, amentoflavona , naringenina e seus derivados) (GONÇALVES *et al.*, 2022).

A depender do genótipo da *J. communis L.* e de sua origem, os níveis de **ácidos hidroxicinâmicos** presentes nas folhas variam bastante. Esse ácido apresenta efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e antioxidantes. Devido a esse potencial biológico, pode atenuar o desenvolvimento de muitas doenças crônicas. **Os ácidos hidroxibenzoicos** também foram encontrados nas folhas de *J. communis L.*, no entanto o conteúdo total foi baixo, foram encontrados somente nos extratos metanólicos (80% metanol, v/v) de *J. communis var. laxa* e *var. saxatilis*. Apesar desses ácidos também apresentarem propriedades antimicrobianas e antioxidantes, são menos eficientes que os hidroxicinâmicos, devido à ausência do grupo CH=CH, COOH e a ligação dupla entre carbonos da cadeia principal (GONÇALVES *et al.*, 2022) (Quadro 3).

Os **flavan-3-óis** e os seus derivados estruturais, as proantocianidinas ou taninos condensados, são polifenóis e fazem parte do grupo dos principais compostos fenólicos encontrados nos alimentos, são formados por um núcleo flavânico que é constituído por dois anéis aromáticos (A e B) e por um anel heterocíclico pirânico C, cujo qual se encontra ligado a um grupo hidroxil na posição 3 (GRIS *et al.*, 2010) (Figura 4).

Figura 4 - Estrutura da flavan-3-ol

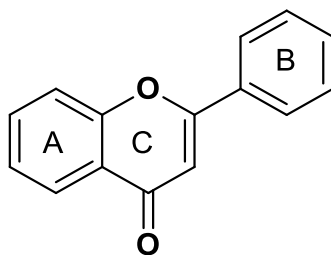


Fonte: autoria própria.

Entre os flavan-3-óis, a catequina foi a mais abundante nas folhas, *J. communis L.* foi encontrada com uma quantidade significativa nos extratos metanólicos (80% metanol, v/v) de *J. communis var. laxa* e *var. saxatilis* e *var. communis*. A catequina apresenta diversos benefícios para a saúde, além das citadas propriedades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias, ela também apresenta as propriedades antiparasitárias, antivirais, antiproliferativas, cardioprotetoras e neuroprotetoras (Quadro 3) (GONÇALVES *et al.*, 2022).

Os **flavonóis** são compostos que se caracterizam pela presença de uma insaturação no anel heterocíclico e um grupamento hidroxila na posição 3 (CRIS *et al.*, 2010) (Figura 5).

Figura 5 - Estrutura química base dos flavonóis



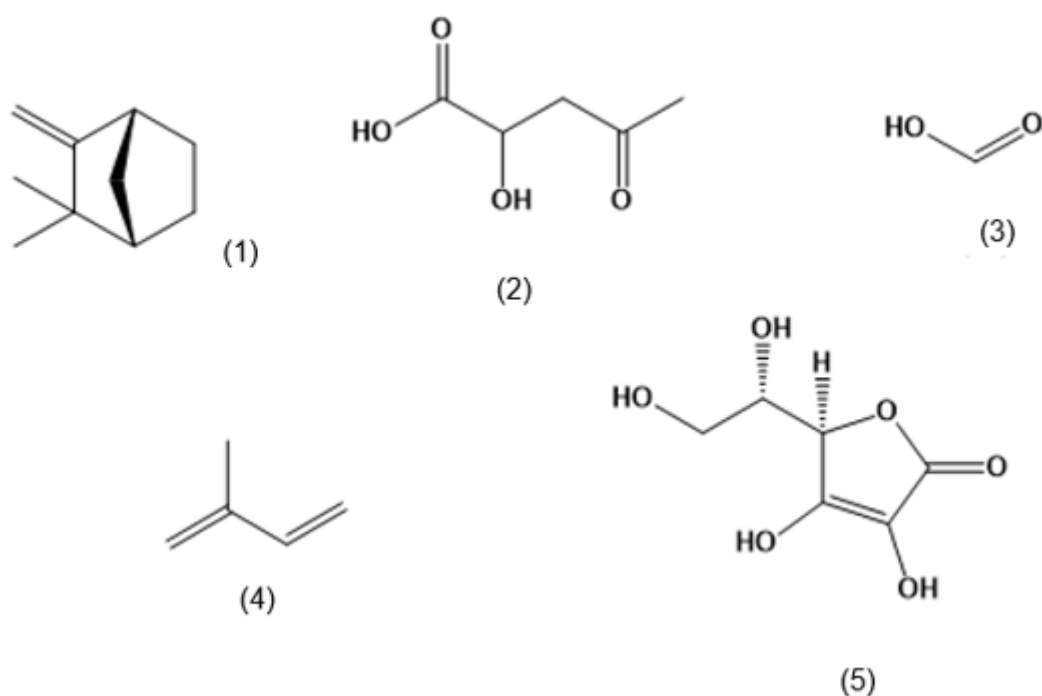
Fonte: autoria própria.

Os compostos mais abundantes da subclasse dos flavonóis foram *aglicona* de *quercetina* e seus derivados. Esse composto, além de apresentar as propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, apresenta também propriedades antiproliferativas e pró-apoptóticas (capacidade de uma substância ou molécula de promover ou induzir a morte celular programada, conhecida como apoptose). As **flavonas** estão presentes também nas folhas de *J. communis L.*, tendo como destaque a *apigenina* em extratos *etanólicos* (50% etanol, v/v) e *amentoflavona* em extratos *metanólicos* (80% metanol, v/v) de *var. saxatilis*. Ainda que as flavonas sejam menos eficazes quando se refere à redução dos radicais livres e dos níveis de espécies reativas devido à ausência do grupo hidroxila no carbono 3, elas apresentam efeitos antimicrobianos, antioxidantes e anticancerígenos, além de regular o metabolismo lipídico. As antocianinas são bastante eficientes no sequestro de

radicais livres como também apresentam propriedades anti-inflamatórias (Quadro 3) (GONÇALVES *et al.*, 2022). Antocianinas não estão presentes nas folhas de *J. communis*, no entanto, em suas bagas foram encontradas algumas, nos extratos etanólicos (30% etanol, v/v).

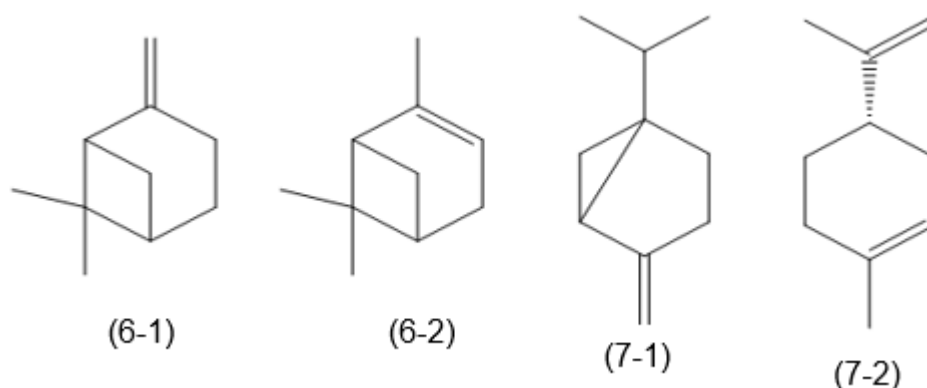
As sementes e frutos do *Juniperus* contém: d- α -pineno, canfeno (1), pectinas, ácido glicólico, ácido málico (2), ácido fórmico (3), ácido acético, ciclohexitol, terpeno (4), proteínas, açúcares fermentáveis, cera, goma, ácido ascórbico (5), dihidrojuneno, β -pineno, hidrocarboneto-juneno, cadineno e cânfora (GONÇALVES *et al.*, 2022) (Figura 6).

Figura 6 - Estrutura dos principais constituintes químicos presentes nas bagas de *Juniperus*



Fonte: autoria própria.

O óleo de bagas de *Juniperus* contém: elevada quantidade de hidrocarbonetos monoterpênicos, tais quais: 5,0% β -pineno (6-1); 51,4% α -pineno (6-2); 5,8% sabineno (7-1); 8,3% mirceno e 5,1% limoneno (7-2) (BAIS, 2014) (Figura 7).

Figura 7 - Estrutura dos principais constituintes químicos presentes no óleo de bagas de *Juniperus***Quadro 3** - Teor total de fenólicos, flavonoides, das bagas de *Juniperus communis* L

Origem	Ex	Compostos fenólicos totais ((mg EAG L ⁻¹))	Teor de flavonoides (mg)	Referências
Yozgat, Turquia	Hidroetanólico (etanol 80%, v/v)	Bagas madura: 11,92/Bagas verde:130,92	Bagas madura: 2,56/Bagas verde: 17,57	(ORHAN et al, 2011)
	Hidroetanólico (etanol 80%, v/v)	Bagas madura: 4,36	Bagas madura: 7,05	
Norte – Leste Slovakia	Hidroetanólico (etanol 70%, v/v)	Bagas madura:6,87-42,23		(FEJÉR et al, 2020)
Melbourne, Austrália	Hidroetanólico (etanol 30%, v/v)	Bagas madura: 9,08	Bagas madura: 2,25	(TANG et al. 2020)
Quebec, Canadá	Hidroetanólico (etanol 80%, v/v)	Bagas madura: 99,20		(HARRIS et al,2014)
Serre de Estrela, Portugal	Metanólico (100%, v/v)	Bagas madura: 44,70		(LUÍS et al, 2011)

Ağrı, Turquia	Metanólico (100%, v/v)	Bagas madura: 59,17		(MICELI et al, 2009)
Ancara, Turquia	Metanólico (100%, v/v)	Bagas madura:17,64		(MICELI et al, 2009)
Colinas Pitesti Romênia	Hidroetanólico (etanol 50%, v/v)	Bagas madura: 0,19	Bagas madura: 51,09	(FIERASCU, 2018)
Yozgat, Turquia	Hidroetanólico (etanol 80%, v/v)	Bagas madura: 21,00		(ORHAN et al, 2014)
Não especificado	Montanha Sara no Sul da Sérvia	Clorofórmico	189,82	(ŽIVIĆ et al, 2019)
Não especificado	Montanha Sara no Sul da Sérvia	Etanólico	189,82	
Não especificado	Montanha Sara no Sul da Sérvia	Acetato de etila	144,21	

Fonte: Traduzido pelo autor, adaptado de Gonçalves e outros (2022).

2.6 MÉTODO ANALÍTICO DPPH PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixas concentrações, retarda ou previne a oxidação do substrato (HALLIWELL *et al.*, 1995). Os antioxidantes são divididos em: **primários**, que agem interrompendo a sequência da reação através da doação de hidrogênio ou elétrons aos radicais livres, transformando-os em produtos com estabilidade termodinâmica ou até mesmo reagindo com os radicais livres formando um complexo lipídio-antioxidante, podendo esse complexo reagir com outro radical livre; **secundários**, que interferem diretamente nas etapas de iniciação da autoxidação, com o retardamento da reação utilizando para isso diversos mecanismos, um deles é o de complexação de metais (SOUSA *et al.*, 2007).

O desequilíbrio entre a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO), causa o estresse oxidativo como O_2 , H_2O_2 , e OH , junto às espécies reativas de nitrogênio (ERN), e as proteções antioxidantes. Os antioxidantes endógenos, os quais estão envolvidos nos mecanismos de proteção contra os radicais livres, incluindo compostos como albumina e metalotioneínas ou enzimas (superóxido dismutase, catalase) não podem garantir a defesa do organismo contra as EROs, surgindo a necessidade de antioxidantes exógenos. Os antioxidantes exógenos oriundos de fontes naturais como plantas (flavonóides, polifenóis, carotenóides, vitaminas) ou minerais (selênio, zinco, manganês) podem extrair os radicais livres, bloqueando as implicações adversas causados pelas EROs na forma de oxidação de lipídios, proteínas e nucleotídeos (FLIEGER, 2020).

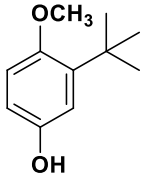
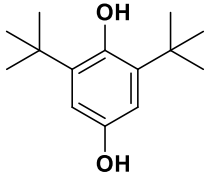
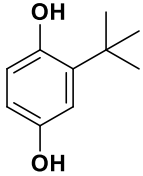
Diversas pesquisas feitas ratificam a importância dos antioxidantes fenólicos de cereais, frutas e vegetais na redução significativa da incidência de doenças crônicas e degenerativas nas pessoas que tiveram dietas cujo foco foi a ingestão desses alimentos. Mediante os resultados obtidos, pesquisas por antioxidantes vêm aumentando no passar dos anos. Os compostos mais comuns que possuem atividade antioxidante integram o grupo de fenóis, ácidos fenólicos e seus derivados, flavonoides, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fítico, ácido ascórbico, pigmentos e esteróis. No grande grupo dos compostos fenólicos, os flavonoides e os ácidos fenólicos são os que mais se destacam e são considerados os antioxidantes fenólicos mais comuns de fontes naturais. Estas substâncias apresentam-se amplamente distribuídas no reino vegetal; são, dessa maneira, encontradas em todas as frutas e outros vegetais (KARAKAYA, 2004).

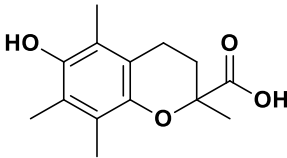
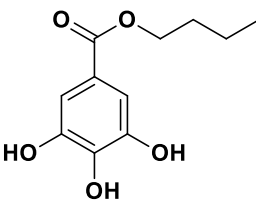
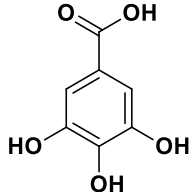
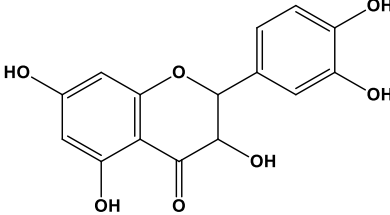
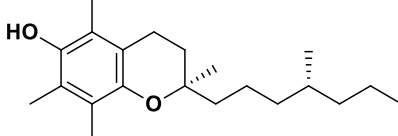
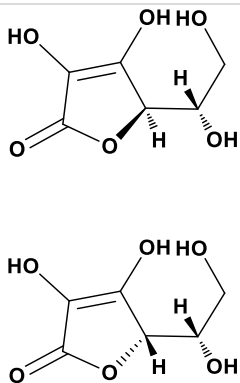
Com o objetivo de proporcionar aos consumidores alimentos com qualidade satisfatória, antioxidantes são adicionados aos alimentos industrializados, com a finalidade de minimizar os efeitos da oxidação destes durante o processo de armazenamento. Diversas pesquisas estão sendo feitas à procura de novos compostos antioxidantes, seja de substâncias isoladas de produtos naturais, seja obtida de fontes sintéticas (ALVES, 2010) (Quadro 4).

Embora muitos antioxidantes possam reagir rapidamente com o radical hidroxil, que é um radical livre prejudicial ao organismo, moléculas biológicas mais abundantes também têm a capacidade de reagir rapidamente com esse radical, tornando difícil

para um antioxidante sequestrá-lo de forma efetiva. Além disso, é importante considerar onde os radicais livres são produzidos e se o antioxidante é capaz de alcançá-los. Por exemplo, a vitamina C é um antioxidante eficaz contra radicais hidrofílicos, mas possui uma eficácia limitada contra radicais lipofílicos. Outro fator determinante para a atividade antioxidante de substâncias naturais é a sua solubilidade. Substâncias polares são mais efetivas em grandes quantidades de óleo, onde podem se acumular na interface entre o ar e o óleo ou em micelas reversas, locais propícios para as reações de oxidação lipídica devido à alta concentração de oxigênio. Por outro lado, antioxidantes não polares são mais efetivos em emulsões, pois são retidos nas gotículas de óleo ou acumulados na interface entre o óleo e a água, onde ocorre a interação com substâncias pró-oxidantes presentes na fase aquosa, como metais de transição. Essa observação de que antioxidantes lipofílicos são mais eficazes em alimentos com alta concentração de água, enquanto antioxidantes polares são mais efetivos em óleo, é conhecida como "paradoxo antioxidante"(ALVES, 2010).

Quadro 4 - Estrutura e propriedade dos antioxidantes sintéticos e naturais mais utilizados

ANTIOXIDANTE	ESTRUTURA	NATUREZA	CINÉTICA	CARÁTER
BHA (2,3-terc-butil-4-hidroxianisol)		sintética	lenta	lipofílico
BHT (2,6-diterc-butil-p-creso)		sintética	lenta	lipofílico
TBHQ (terc-butil-hidroquinona)		sintética	lenta	lipofílico

Trolox		sintética	intermediária	hidro e lipofílico
Galato de n-propila		sintética	rápida	hidro e lipofílico
Ácido gálico		natural	rápida	hidrofílico
Quercentina		natural	rápida	lipofílico
α - tocoferol		natural	intermediária	lipofílico
ácido ascórbico e isoascórbico		ambos	rápida	hidrofílico

Fonte: Produzida pelo autor, adaptada de Alves (2010).

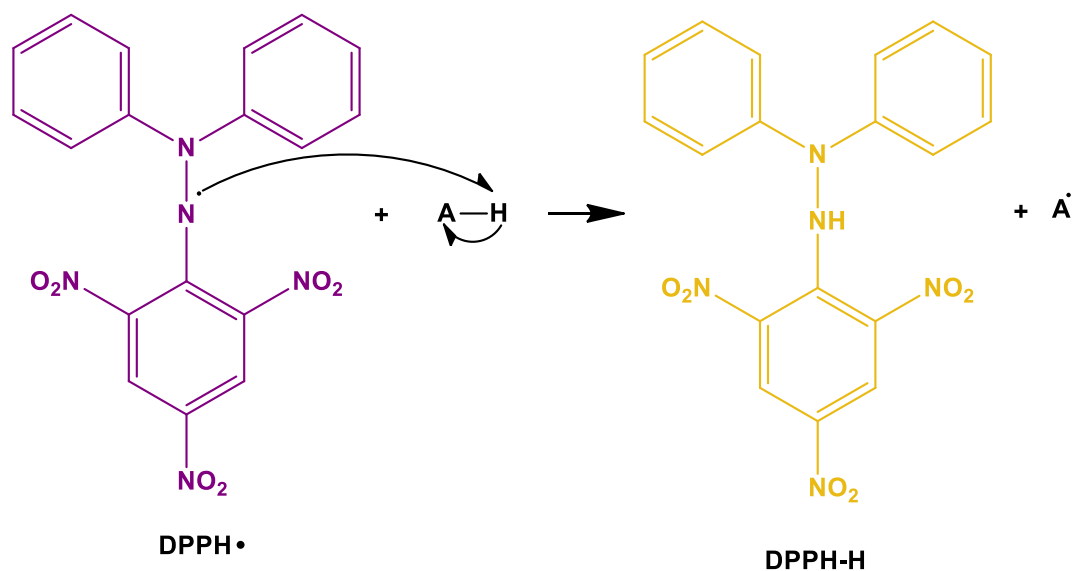
A capacidade de eliminar os radicais livres é um fator importante na propriedade antioxidante. O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical de nitrogênio

orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção na faixa de 515-520 nm, é amplamente utilizado para este processo como antioxidante fitoquímico (ENNAJAR *et al.*, 2009).

O DPPH caracteriza-se como um radical livre estável em virtude da deslocalização do elétron sobressalente sobre a molécula como um todo, devido a essa ocorrência, não ocorre a dimerização dessa molécula, que é comum acontecer na maioria dos outros radicais livres. A deslocalização origina também a cor violeta intensa, com absorção em solução de etanol a cerca de 520 nm. Ao misturar a solução de DPPH com uma substância que pode doar um átomo de hidrogênio, dá origem à forma reduzida com perda da cor violeta, mudando para coloração amarela (KEDARE E SINGH, 2011).

O método baseado na eliminação de radical livre DPPH• (Figura 8) é uma das técnicas que está sendo mais utilizada para descobrir a capacidade antioxidante de compostos. Essa molécula tem como principal característica um radical orgânico livre estável que, na ausência de luz, apresenta uma boa estabilidade, além de ter fácil aplicabilidade. Esse método tem ampla utilização nos estudos de avaliação antioxidante de substâncias de um modo geral. No entanto, para caracterizar um composto completamente, faz-se necessário o uso de outros métodos de análise (OLIVEIRA, 2009).

Figura 8 - Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio



Fonte: autoria própria.

2.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A dificuldade da população em acessar o serviço do SUS tem levado ao aumento do uso de produtos naturais como remédio, observa-se que a constância dessa prática se deve também, muita das vezes da eficácia e da cultura popular e ao modo de compreender saúde e constituir relações sociais e com a natureza (RICARDO; STOTZ, 2009).

Pesquisadores têm se concentrado nas pesquisas de extratos vegetais como potenciais agentes antimicrobianos, pois, apresentam menores toxicidade e impacto ambiental e maior eficiência contra a resistência de micro-organismo patogênicos (BONA, 2014).

Os agentes antimicrobianos existentes (antibióticos), apresentam alta toxicidade e podem ficar obsoletos, devido ao surgimento de patógenos resistentes, ou seja, microrganismos como bactérias, vírus, parasitas e fungos que evoluem e se tornam imunes às drogas às quais eram vulneráveis anteriormente, daí a necessidade de obtenção de novas substâncias antimicrobianas e antifúngicas (NETO *et al.*, 2020),

O número de pessoas no mundo infectadas por fungos e bactérias vem aumentando, tendo como consequência a elevação do índice de mortalidade e dos custos de tratamento. As bactérias são as principais responsáveis pelas infecções causadas nos indivíduos, cepas resistentes vêm surgindo, enfatizando as das espécies *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* (NETO *et al.*, 2020).

Muitas bactérias são capazes de produzir uma diversidade de substâncias *in vitro* que incluem toxinas, enzimas bacteriolíticas, subprodutos de via metabólica (ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio) e bacteriocinas que podem ser inibidoras tanto para tais culturas, quanto para outras bactérias (TAGG; DAJANI; WANNAMAKER, 1976).

Diversos métodos laboratoriais podem ser utilizados para avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* de um extrato ou de um composto puro. Os mais comuns são: difusão em disco e diluição em caldo ou ágar. Para determinar valores de CIM (Concentração Inibitória Mínima), o mais indicado é a utilização do método de diluição, pois ele dá uma estimativa da concentração do antimicrobiano testado no caldo nutriente; serve para medir quantitativamente a atividade antimicrobiana. A CIM é definida como concentração de antimicrobiano necessária para inibir o crescimento

visível bacteriano; quanto menor o CIM, mais eficiente é o agente antimicrobiano ensaiado; geralmente é expresso em $\mu\text{g mL}^{-1}$ ou mg L^{-1} (BALOUIRI *et al.*, 2016).

Além da CIM, foi também analisada a CBM (Concentração Bactericida Mínimo), definida como a menor concentração que não possibilitou o crescimento de bactéria no caldo nutriente (DUARTE *et al.*, 2003).

O procedimento do método de diluição do caldo envolve a microdiluição em placas de 96 poços com volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL, que são inoculados com um inóculo microbiano preparado no mesmo meio após diluição de suspensão microbiana padronizada e ajustada à escala de McFarland 0,5 (BALOUIRI *et al.*, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar as atividades antimicrobiana, antioxidante e o teor de fenóis totais de extratos do fruto obtidos de produtos comerciais da *Juniperus communis L.*
- Correlacionar as atividades antimicrobiana, antioxidante e o teor de fenóis totais da *Juniperus communis L.* da literatura com extratos do fruto obtidos dos produtos comerciais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter os extratos das bagas da *Juniperus communis L.* dos produtos comerciais;
- Determinar a atividade antioxidante e teor de fenóis totais dos extratos;
- Analisar a atividade antimicrobiana dos extratos frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, bem como fungos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

Neste estudo foram utilizadas **quatro** amostras diferentes dos frutos *Juniperus communis* L. Duas delas foram obtidas em lojas de produtos naturais (uma no bairro de Brotas e a outra na loja Grãos a Granel no Shopping Paralela), e a quarta, na loja *on-line* das Americanas. Inicialmente, 200g do fruto foram moídos utilizando o multiprocessador caseiro Philips Walita PowerChop 750W. Foram preparadas duas amostras com 30g dos produtos comerciais 1, 2 e 3; em seguida foram maceradas diretamente em etanol (extrato etanólico 1), enquanto que outras 30g passaram por macerações sucessivas em hexano, acetado de etila e etanol (extrato etanólico 2). Após 5 dias em repouso foi feita a filtração, utilizando um papel filtro, e o líquido obtido foi coletado em um balão de fundo redondo; esse processo foi repetido para cada produto comercial.

A extração por maceração com etanol (etanólico 1) foi em duplicata e a extração com hexano, acetato de etila e etanol (1 vez) (etanólico 2). Foram obtidos três extratos de cada amostra, totalizando doze extratos (Quadro 5).

Os solventes foram removidos sob pressão reduzida a 40°C utilizando um evaporador rotativo (4000 Laborota echo, Alemanha). As amostras permaneceram na capela à temperatura ambiente (25°C) até a completa evaporação de todo o solvente residual, com os extratos completamente secos.

4.2. Determinação da atividade antioxidante dos extratos

A curva de calibração das amostras foi construída a partir dos valores da absorbância a 515 nm de todas as soluções, medidas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm e tendo como “branco” o metanol. As medidas de absorbância foram efetuadas em triplicata e em intervalos de 1 minuto entre cada leitura.

As curvas de consumo de DPPH das frações (apêndice B) foram feitas pela adição de 500 µL de DPPH para todas as amostras; já a quantidade de metanol e da solução dos extratos tiveram variação, sendo que o volume final para solução reacional foi igual para todas (1000 µL), com concentrações finais das amostras variando de 10 a 1000 µg mL⁻¹. O meio reacional era mantido em abrigo da luz por 30 minutos, e a sua absorbância foi medida em 515 nm num leitor de microplacas (VersaMax™, EUA).

Quadro 5 - Extratos obtidos por cada amostra e suas respectivas siglas

Amostra	Solvente	Sigla
Produto comercial Brotas	Hexano	PC11
	acetato de etila	PC9
	etanol (extrato etanólico 1)	PC1
	etanol (extrato etanólico 2)	PC4
Produto comercial Americanas	Hexano	PC12
	acetato de etila	PC8
	etanol (extrato etanólico 1)	PC3
	etanol (extrato etanólico 2)	PC5
Produto comercial Grãos a Granel	Hexano	PC10
	acetato de etila	PC7
	etanol (extrato etanólico 1)	PC2
	etanol (extrato etanólico 2)	PC6

Fonte: autoria própria

4.2 MÉTODO ANALÍTICO DPPH PARA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os extratos foram aferidos em termos de doação de hidrogênio usando o radical estável DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), que apresenta a coloração roxa à

temperatura ambiente (SILVA et al., 2005). Inicialmente, 500 μL de DPPH. A absorbância foi medida a 515 nm após 30 minutos de reação. Utilizou-se solução de DPPH (1,0 mL; 120 mmolL^{-1}) e metanol (1,0 mL) como branco (usado para corrigir qualquer interferência causada pela solução de referência ou pelo solvente utilizado no experimento).

Os ensaios foram realizados em triplicata, e os resultados foram expressos como IC₅₀ ou Concentração Inibitória de 50%, que é um parâmetro usado em testes de atividade antioxidante para avaliar a eficácia de um determinado composto na neutralização de radicais livres. O DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é um radical livre comumente utilizado nesses testes.

4.3 DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

O método utilizado para quantificação dos compostos fenólicos é baseado na reação desses compostos com um reagente colorimétrico que permite a medição na parte visível do espectro. Neste trabalho foi utilizado o ensaio de Folin-Ciocalteu, o qual depende da transferência de elétrons em meio básico de compostos fenólicos para complexos de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico, resultando complexos de coloração azul que são determinados espectroscopicamente (AINSWORTH; GILLESPIE, 2007). Inicialmente, 100 μL do extrato ($2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) foram misturados com 50 μL de reagente fenol de Folin-Ciocalteu e 750 μL de água. Após um minuto, 100 μL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3 , 15% p/v) foram adicionados à mistura, atingindo um volume final de 1000 μL . A mistura reacional foi mantida no escuro durante 120 minutos. Após esse tempo, a absorbância foi lida a 725 nm (VersaMax™ 32 Microplate Reader, EUA). A curva padrão de ácido gálico foi utilizada para calcular o conteúdo fenólico total nos extratos, e os resultados foram expressos em $\text{mg}\cdot\text{EAG}\cdot\text{g}^{-1}$.

4.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada como concentração inibitória mínima (CIM) utilizando o ensaio microdiluição em caldo em placas de 96 poços, conforme descrito por Balouiri (2016). A atividade antimicrobiana dos extratos foi avaliada frente a *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Staphylococcus aureus* (ATCC

6538), *Escherichia coli* (ATCC 94863), *Pseudomonas aeruginosa* (CCT 0090), *Candida albicans* (ATCC 18804) e *Candida glabrata* (CCT0728). As culturas foram obtidas da Fundação André Tosello, Campinas- São Paulo. O caldo Nutriente (Acumedia, EUA) e o extrato de malte (Acumedia, EUA) foram utilizados como meio de cultura para o crescimento de bactérias e fungos, respectivamente. Gentamicina (faixa de concentração no final do experimento: 0,19–25 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foi usada como controle para bactérias Gram negativas e Tetracilina (faixa de concentração no final do experimento: 0,08–10 $\mu\text{g mL}^{-1}$) para bactérias Gram positivas. Os extratos foram dissolvidos em 20% de DMSO (v/v). Inserir a faixa de concentração testada para os controles positivos fungos.

Na fileira A na placa de Elisa, adicionou-se em triplicata, 100 μL de cada solução estoque das amostras testadas (amostra 1 – colunas 1,2,3; amostra 2 – colunas 4,5,6; amostra 3 – colunas 7,8,9), além de 100 μL do controle (antibiótico) na coluna 10 e de 100 μL da mistura da solução do diluente na fileira 11. A fileira 12 foi utilizada como controle foi feita a diluição seriada, a concentração dos extratos variou de 3,91 a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no final do experimento.

As placas de 96 poços foram incubadas a 36°C (24 h) e 26°C (72 h) para crescimento bacteriano em incubadora BOD (QUIMIS, Q315M15) e dos fungos, incubadora (TECNAL, TE-371, respectivamente. A CIM (concentração inibitória mínima) foi determinada através do surgimento de turbidez nos poços. Todas as análises foram realizadas em triplicas. A CIM foi determinada pela ausência de turbidez nos poços. Os extratos foram considerados ativos quando inibiram o crescimento microbiano em concentrações inferiores ou iguais a 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Dos poços que mostraram a ausência de turbidez, cerca de 10 μL do conteúdo foram inoculados em caldo nutriente sólido para avaliar a Concentração Bactericida Mínima (CBM), concentração mais baixa de um agente bactericida, após incubação das placas nas mesmas condições empregadas para determinação do CIM

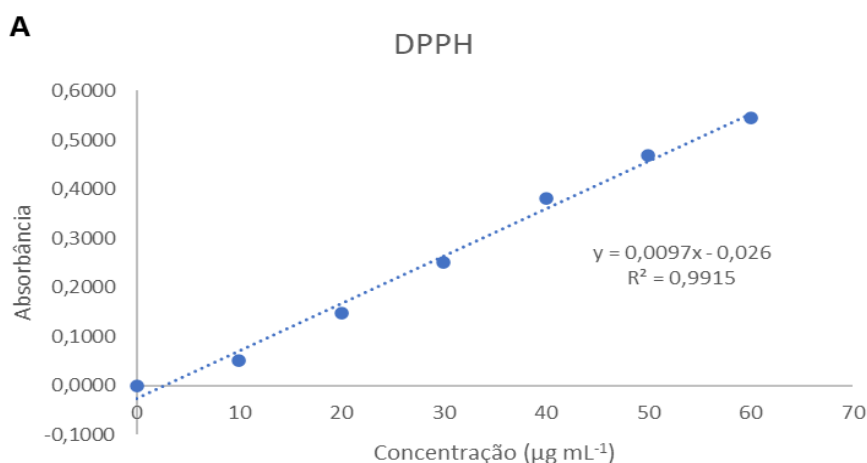
5 RESULTADOS

5.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Nesse estudo, a atividade antioxidante foi expressa em IC_{50} . Após obtenção da equação da reta ($y = ax + b$) calculou-se a IC_{50} (concentração da amostra/padrão capaz de inibir em 50% o radical DPPH) (DE SOUSA, 2015).

A equação da curva de calibração do DPPH obtida para os extratos PC1, PC4, PC6, PC7, PC8 e PC9 foi $y = 0,0097X - 0,026$, onde y = absorbância (sinal analítico); a = coeficiente de inclinação da curva e b = coeficiente linear) e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9915$ (Figura 9).

Figura 9 - Curva de calibração DPPH



Fonte: autoria própria

A equação da curva de calibração do DPPH obtida para os extratos PC2, PC3 e PC5 foi $C = 0,0045A - 0,0121$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9938$. As duas curvas de calibração obtidas exibiram boa correlação linear (Apêndice B).

Devido a possíveis erros sistemáticos, os valores da absorbância de alguns extratos foram discrepantes, sendo preciso refazer as amostras destes, assim como os procedimentos de leitura e construção de uma nova curva de calibração.

A atividade antioxidante (IC_{50}) dos extratos extraídos com solvente etanol variou de $136,17 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para PC2 até $688,10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para o extrato PC3. Dos extratos extraídos com solvente etanol pós-acetato variou de $85,16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para o

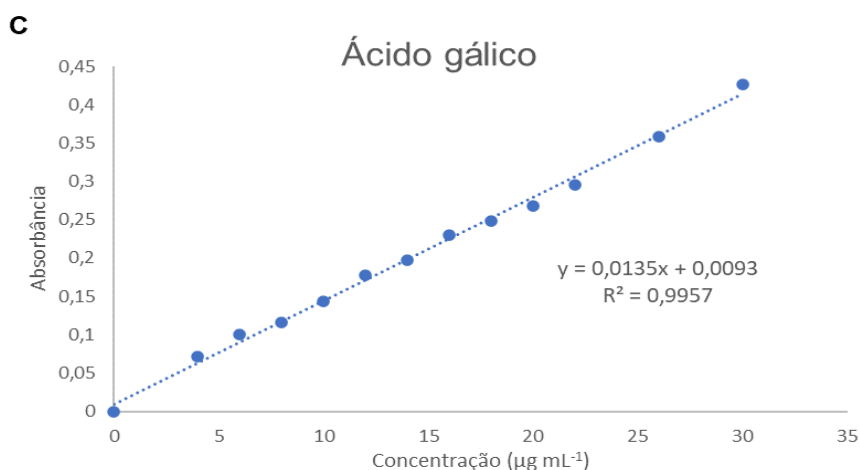
extrato PC6 até 786,14 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para o extrato PC4. Dos extratos extraídos com solvente acetato, variou de 414,17 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para o extrato PC9 até 761,93 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Os extratos PC10, PC11 e PC12 não apresentaram atividade ($\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabela 1).

No gráfico da figura 9, pode-se observar que os extratos que tiveram maiores valores no IC_{50} , ou seja, apresentaram uma baixa ação na eliminação de radicais livres, foram os extratos PC3 (688,10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), (786,14 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e PC7 (761,93 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$); já o extrato que apresentou menor valor no IC_{50} foi o PC6 (85,16 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), sendo o mais eficiente na eliminação de radicais livres. A curva de concentração versus absorbância do extrato PC6 exibiu boa correlação linear com coeficiente de determinação R^2 de 0,99.

5.2 QUANTIFICAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS

A equação da curva de calibração do ácido gálico para as amostras PC4, PC5, PC6, PC7 e PC8 foi $y = 0,0135x + 0,0093$, onde y = absorbância (sinal analítico); a = coeficiente de inclinação da curva e b = coeficiente linear) e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9957$ (Figura 10).

Figura 10 - Curva de calibração Ácido gálico



Fonte: autoria própria

A equação da curva de calibração do ácido gálico para as amostras PC1, PC2, PC3 foi $C = 0,0373A + 0,0127$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9967$ (Apêndice B).

Na quantificação dos fenóis totais de uma forma geral, três extratos obtidos das bagas de *J. communis* apresentaram. Já os que apresentaram os menores valores foram: PC4 (11,74 mgEAG.g⁻¹), PC2 (15,95 mgEAG.g⁻¹) e PC5 (27,05 mgEAG.g⁻¹) (Tabela 1).

O extrato com maior valor de fenólicos totais foi o PC9, com o valor de 74,21 mgEAG.g⁻¹, com um desvio padrão de 2,26, seguidos dos extratos PC1, com um valor de 70,77 mgEAG.g⁻¹, desvio padrão de 1,78, e PC3, com um valor de 58,31 mgEAG.g⁻¹, desvio padrão de 5,53 (Tabela 1).

Os extratos PC1, PC3 e PC9, apesar de não apresentarem atividade antioxidante satisfatória, obtiveram uma boa quantificação de fenólicos totais. Portanto, apesar dos compostos fenólicos influenciarem o potencial antioxidante dos extratos, outros metabólitos também estão contribuindo para a atividade antioxidante dos extratos das bagas de *J. communis*.

Tabela 1 - Valores de IC50 e Quantidade dos compostos fenólicos nos extratos

Origem	Código	Solvente	DPPH	Fenólicos totais (mgEAG.g ⁻¹)
Brotas	PC1	Etanol	582,33 ± 11,99	70,77 ± 1,78
Grãos a Granel	PC2	Etanol	136,17 ± 56,24	15,95 ± 0,54
Americanas	PC3	Etanol	688,10 ± 143,73	58,31 ± 5,53
Brotas	PC4	Etanol após Acetato	786,14 ± 14,33	11,74 ± 1,61
Grãos a Granel	PC5	Etanol após Acetato	163,36 ± 7,36	19,52 ± 2,67
Americanas	PC6	Etanol após Acetato	85,16 ± 42,58	27,05 ± 2,11
Brotas	PC7	Acetato	761,93 ± 17,32	26,54 ± 2,62
Grãos a Granel	PC8	Acetato	419,92 ± 31,53	24,46 ± 1,13
Americanas	PC9	Acetato	414,17 ± 75,02	74,21 ± 2,26

Fonte: autoria própria

5.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Analisando a atividade antibacteriana dos extratos da *J. communis* dos produtos comerciais, apenas o extrato PC3 apresentou atividade tanto bacteriostática e bactericida frente a Gram negativa (*Escherichia coli*), (CIM = CBM = 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$) (Tabela 3).

Em relação ao efeito contra bactérias Gram positivas, os extratos PC3, PC7, PC8, PC10 e PC12 foram seletivos para *B. subtilis*, com CIMs na faixa de 125 a 31,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Adicionalmente, todos foram também bactericidas contra *B. subtilis* com CBMs na faixa de 500 a 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com exceção de PC7.

De um modo geral, pode-se observar que as amostras de extratos foram seletivas para as bactérias, já que nenhum dos fungos (*C. albicans* e *C. glabrata*) foi sensível nas condições experimentais empregadas.

Tabela 2 - Atividade antimicrobiana dos extratos das bagas da *J. communis* L. (Valores CIM e CBM em $\mu\text{g mL}^{-1}$)

Amostras	<i>Ec</i>		<i>Bs</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM
PC3	125	125	62,50	125
PC7	se	Na	62,50	Se
PC8	se	Na	62,50	250
PC10	se	Na	31,25	500
PC12	se	Na	125	500
Tetraciclina			0,08	0,08
Gentamicina	1,56	1,56		

Fonte: autoria própria

Se.: sem efeito na maior concentração testada ($500 \mu\text{g mL}^{-1}$); Na: não aplica; PC1 a PC12 = extratos das bagas da *J. communis* L.; bactérias Gram negativa (; bactérias Gram positiva (). Antibióticos: Gentamicina ($100 \mu\text{g mL}^{-1}$) para Gram-negativas *Escherichia coli* (*Ec*) e tetracilina ($40 \mu\text{g mL}^{-1}$) para bactéria Gram positiva *Bacillus subtilis* (*Bs*).

6 DISCUSSÃO

Os resultados das análises químicas foram obtidos a partir de diferentes amostras (Brotas, Grãos a Granel, Americanas) usando diferentes solventes (Etanol e Acetato). Os parâmetros analisados foram a capacidade antioxidante medida pelo ensaio DPPH e a quantidade de fenólicos totais expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por grama (mgEAG.g^{-1}).

A discussão desses dados abordou três pontos principais:

1. **Comparação entre origens:** Ao comparar as amostras de Brotas, Grãos a Granel e Americanas em relação aos parâmetros DPPH e Fenólicos totais, observou-se que os extratos obtidos em Brotas apresentaram maior atividade antioxidante, evidenciada pelos maiores valores de IC_{50} . Entretanto, a quantidade de fenóis totais mostrou-se variável, dependendo do tipo de solvente utilizado.
2. **Efeito do solvente:** Foi observado que a utilização de diferentes solventes (Etanol e Acetato) pode afetar os resultados das análises. Houve uma significativa variação nos valores obtidos, possivelmente devido ao uso de diferentes lotes da amostra, visto que estas foram adquiridas em períodos distintos.
3. **Comparação dentro da mesma origem:** Ao observar as linhas com a mesma origem (por exemplo, Brotas), foi possível comparar como os valores de DPPH e Fenólicos totais variam quando diferentes protocolos de extração são usados (Etanol e Acetato).

O presente estudo evidenciou que a *J. communis* pode ser uma fonte promissora de compostos antioxidantes, conforme demonstrado pelas atividades observadas nos extratos das bagas da planta e seus produtos comerciais. Entre esses extratos, os mais eficientes em atividade antioxidante foram os PC6, PC2 e PC1, em ordem crescente.

Particularmente, a amostra que utilizou etanol após acetato mostrou-se a mais eficiente para a extração de compostos antioxidantes, seguida pelas amostras que utilizaram etanol como solvente de extração.

Esses resultados destacam o potencial da *J. communis* como uma fonte valiosa de antioxidantes naturais, o que pode ter implicações positivas na indústria de alimentos funcionais e de suplementos. Além disso, a abordagem sequencial de extração com solventes pode ser uma estratégia eficaz para otimizar a obtenção desses compostos antioxidantes a partir das bagas da planta e de seus produtos comerciais. Essas descobertas contribuem para o conhecimento sobre os benefícios potenciais dessa planta na promoção da saúde e incentivam pesquisas futuras para explorar ainda mais suas aplicações na área da saúde e nutrição.

Na quantificação dos fenóis totais, os extratos PC9, PC3 e PC1 obtidos das bagas de *J. communis* dos produtos comerciais, foram os que apresentaram os maiores valores, variando de 58,31 \pm 5,53 a 74,21 \pm 2,26 mgEAG.g⁻¹.

Essa análise dos dados permitiu obter informações valiosas sobre as diferenças entre as amostras provenientes de diferentes origens, os efeitos dos solventes na atividade antioxidante e nos fenólicos totais, e ainda, como as variações nos protocolos de extração podem influenciar os resultados dentro da mesma origem.

Os extratos das bagas de *J. communis* L. foram testados quanto à sua capacidade de inibir o crescimento (CIM) e matar (CBM) as bactérias ou fungos testados (Ec e Bs).

Na amostra PC3, tanto a Concentração Inibitória Mínima (CIM) quanto a Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram de 125 μ g mL⁻¹ para os microrganismos testados (Ec e Bs). Esse valor está em conformidade com os dados relatados na literatura. Isso indica que essa amostra apresentou uma forte atividade antimicrobiana contra esses microrganismos, inibindo seu crescimento em

concentrações relativamente baixas e causando a morte bacteriana a essa mesma concentração. Para as amostras PC7, PC8, PC10 e PC12, observa-se alguma variação nos valores de CIM e CBM para os diferentes microrganismos testados. Isso pode indicar que a atividade antimicrobiana dessas amostras varia dependendo do tipo de microrganismo.

Os valores de CIM e CBM para a tetraciclina e gentamicina também estão listados na tabela. Esses são antibióticos amplamente utilizados e bem conhecidos por sua atividade antimicrobiana. Comparando os valores das amostras de *Juniperus communis L.* com os dos antibióticos, podemos avaliar se os extratos de bagas apresentam atividade antimicrobiana comparável ou potencialmente mais eficaz contra os microrganismos testados.

No entanto, para uma análise mais completa e conclusiva, é necessário considerar a interpretação dos resultados estatisticamente e analisar a relevância biológica e clínica da atividade antimicrobiana observada em relação às aplicações práticas potenciais, bem como a segurança e toxicidade dos extratos testados. Além disso, outras informações importantes, como as condições experimentais e detalhes do método utilizado, também devem ser consideradas para uma avaliação completa dos resultados.

Para inibir a formação de radicais livres, a indústria de produtos alimentícios utiliza antioxidantes sintéticos; no entanto, a preocupação com o consumidor vem levando ao aumento de pesquisa em busca de antioxidantes naturais. Os extratos de plantas costumam exibir uma notável capacidade de doação de prótons de hidrogênio (H), o que os torna antioxidantes altamente eficazes. Essa propriedade é atribuída à presença de ácidos fenólicos, diterpenos fenólicos e óleos voláteis. (BREWER, 2011).

Os compostos oxidantes também podem ter origem endógena. Os antioxidantes têm a capacidade de estabilizar ou até mesmo desativar os radicais livres antes que ataquem as células. Dentre as diversas categorias de substância antioxidantes naturais, os compostos fenólicos têm se destacado (SOUSA *et. al.*, 2007).

Em resultados nos testes *in vitro* obtidos na literatura, no que diz respeito ao DPPH, o extrato etanólico das bagas da *J. communis* exibiu um valor de $1,42 \mu\text{g mL}^{-1}$, referente ao IC_{50} . Além disso, o extrato com acetato de etila revelou valor de IC_{50} de $106,44 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os extratos metanólicos das bagas mostraram a capacidade de sequestrar DPPH• (IC_{50} variando entre $6,86$ e $13,66 \mu\text{g mL}^{-1}$) (GONÇALVES *et al.*, 2022). Em outra literatura, a atividade antioxidante dos extratos etanólico, acetato de etila e metanólico das bagas da *J. communis* tiveram valores de IC_{50} de $548,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, $642 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $664 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente (ENNAJAR, 2009).

Na literatura, a quantidade de fenólicos totais nas bagas da *J. communis* variou de 52 ± 1 a $217 \pm 2 \text{ mgEAG.g}^{-1}$ de material seco; Enquanto para antocianinas, foi obtida nas bagas a quantidade por extrato de acetato de etila ($373 \pm 13 \text{ mg EAG.g}^{-1}$ de material seco) (ENNAJAR, 2009).

Os extratos metanólicos das bagas da *J. communis* demonstraram capacidade de inibir o crescimento de 11 dos 23 isolados de fungos testados, incluindo o *C. albicans*, bem como 57 isolados de 178 estirpes de 24 espécies de bactérias, tais como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Esses resultados sugerem que o extrato metanólico da espécie *J. communis* tem compostos com atividade antibacteriana e anticandida que podem ser utilizados como agentes antimicrobianos na terapêutica das doenças infecciosas (ANJOS, 2017).

Extratos fenólicos das bagas da variação *communis* e variação *saxatilis* mostraram que, embora a variação *communis* exibisse maior quantidade de fenólicos totais, a CIM foi menor para a variação *saxatilis* contra *S. aureus* ($156,25 \mu\text{g mL}^{-1}$) e *B. subtilis* ($156,25 \mu\text{g mL}^{-1}$), em comparação com variação *communis* (*S. aureus* ($156,25 \mu\text{g/mL}$) e *B. subtilis* ($321,5 \mu\text{g mL}^{-1}$)) (GONÇALVES *et al.*, 2022).

7 CONCLUSÃO

Utilizando procedimentos já descrito na literatura foi possível obter os extratos das bagas de *J. communis*, com a utilização dos solventes etanol, acetato de etila e hexano o que

permitiu verificar diferenças na quantificação referente ao IC₅₀ e compostos fenólicos totais, assim como na atividade antimicrobiana e fungicida.

A partir das análises verificou-se que o extrato que apresentou melhor atividade antioxidante, com menor valor de IC₅₀, foi o PC6 (85,16 µg mL⁻¹), o que determina melhor eficiência na eliminação de radicais livres. Já os extratos que apresentaram maiores teores de fenóis totais foram: PC9 (74,21 mgEAG.g⁻¹), PC3 (70,77 mgEAG.g⁻¹) e PC1 (58,31 mgEAG.g⁻¹).

Considerando a análise da atividade antimicrobiana e fungica observou - se que, dos extratos da *J. communis* dos produtos comerciais, apenas o extrato PC3 apresentou atividade tanto bacteriostática como bactericida frente a Gram negativa (*Escherichia coli*), (CIM = CBM = 125 µg mL⁻¹). Os extratos PC3, PC7, PC8, PC10 e PC12 foram seletivos para as Gram positivas *B. subtilis*, com CIMs na faixa de 125 a 31,5 µg mL⁻¹ e também bactericidas contra *B. subtilis* com CBMs na faixa de 500 a 125 µg mL⁻¹, com exceção do PC7. Nenhuma das outras bactérias testadas apresentou efeito, assim como os fungos.

A obtenção dos resultados contribui significativamente para o aprofundamento do conhecimento acerca das bagas do zimbro, indicando que seu emprego como condimento pode ser vantajoso em termos de qualidade e segurança alimentar.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Robert P. Junipers of the World: The genus *Juniperus*. 4th Edition. ed. rev. United States of America: **Trafford publishing**, 2014. ISBN 978-1-4907-2325-9 (sc).
- AINSWORTH, Elizabeth A.; GILLESPIE, Kelly M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. **Nature protocols**, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.
- AKINCI, Ibrahim et al. Some physical and nutritional properties of *Juniperus drupacea* fruits. **Journal of Food Engineering**, v. 65, n. 3, p. 325-331, 2004.
- ALVES, Clayton Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010.
- AMARANTE, José Osvaldo Albano do. Os segredos do Gim. **Mescla Editorial**, 2016.
- ANJOS, Raquel Morgado dos. **Avaliação da bioatividade da espécie mediterrânica *Juniperus sp.*** Tese de Doutorado. Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, 2017.
- BACÉM, Isabel. Composição química e atividade biológica de bagas do Zimbro. **Instituto Politécnica de Bragança**, Bragança, p. 1-67, 19 jan. 2018.
- BAIS, Souravh *et al.* A phytopharmacological review on a medicinal plant: *Juniperus communis*. **International scholarly research notices**, v. 2014, 2014.
- BALOUIRI, Mounyr; SADIKI, Moulay; IBNSOUDA, Saad Koraichi. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 6, n. 2, p. 71-79, 2016.
- BATTISTON, Francielle Garghetti *et al.* **Efeito gastroprotetor do chá de boldo *peumus boldus* em ratos wistar.** In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E SEMINÁRIO INTEGRADO DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2015.
- BENITEZ, B *et al.* "Evaluación De La Capacidad Antioxidante Y Metabolitos Secundarios De Extractos De Dieciséis Plantas Medicinales / Evaluation of Antioxidant Capacity and Secondary Metabolites of Sixteen Medicinal Plants Extracts." **Revista Ciência UNEMI** 9.20 (2016): 29-35. Web.
- BONA, Eliana Almeida Mira De et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, p. 218-225, 2014.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

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

BRODOWSKA *et al.* The impact of ozone treatment in dynamic bed parameters on changes in biologically active substances of juniper berries. **PLoS ONE** 2015, 10, e0144855.

BUCK, Nina *et al.* Key aroma compounds in two bavarian gins. **Applied Sciences**, v. 10, n. 20, p. 7269, 2020.

CALDEIRA, Regiane; FAVA, Bruna Mendes. **Comida: uma contadora de histórias**. In: ANAIS DO SEMINÁRIO NACIONAL DO CENTRO DE MEMÓRIA – UNICAMP, 2016.

COSTANTIN, Francini Aparecida Barreto *et al.* **Produção e Caracterização de Cerveja Artesanal Estilo American Pale Ale adicionada de Zimbro (*Juniperus communis*)**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Ponta Grossa. Ponta Grossa. 2022.

CRAIG, Winston J. Health-promoting properties of common herbs. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Volume 70, Issue 3, September 1999, Pages 491-499.

CUNHA, A.P.; SILVA, A.P.; ROQUE, O.R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia** Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. 701 p.

DE SOUSA, Déborah Munique Nogueira. **Prospecção fitoquímica, toxicidade in vitro e avaliação das atividades anti-radicalar e antibacteriana da geoprópolis da abelha jandaíra**. Acta Veterinaria Brasilica, v. 9, n. 2, p. 134-140, 2015.

DEWICK, P.M.; **Medicinal Natural Products: a Biosynthetic Approach**; England, John Wiley & Sons, 2002.

DUARTE, Simone *et al.* Effect of a novel type of propolis and its chemical fractions on glucosyltransferases and on growth and adherence of mutans streptococci. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 26, n. 4, p. 527-531, 2003.

DUARTE, Marta Cristina Teixeira. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista MultiCiência**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

EARL, Ashlee M.; LOSICK, Richard; KOLTER, Roberto. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. **Trends in microbiology**, v. 16, n. 6, p. 269-275, 2008.

ENNAJAR, M. *et al.* Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils and Various Extracts of *Juniperus phoenicea* L. (Cupressaceae). **Journal of Food Science**, 74(7), M364–M371, 2009.

FALCÃO, Soraia *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of hydrodistilled oil from juniper berries. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 878-884, 2018.

FEJÉR, J. *et al.* Seasonal variability of *Juniperus communis* L. berry ethanol extracts: 1. In vitro hydroxyl radical scavenging activity. **Molecules** **2020**, 25, 4114.

FIERASCU, I. *et al.* Genoprotective, antioxidant, antifungal and anti-inflammatory evaluation of hydroalcoholic extract of wild-growing *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) native to Romanian southern sub-Carpathian hills. **BMC Complement. Altern. Med.** **2018**, 18, 3.

FIGARO, Anajara Kaczmarek; FONSECA, Eril Medeiros da; LINDEMANN, Renata Hernandez. "Saberes Populares, Química E Plantas Medicinais." **Revista De Educação Popular**, 21.2 (2022): 239-59. Web.

FILIPOWICZ, Natalia *et al.* Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. **Phytotherapy Research**, v. 17, n. 3, p. 227-231, 2003.

FLIEGER, Jolanta; FLIEGER, Michał. The [DPPH•/DPPH-H]-HPLC-DAD method on tracking the antioxidant activity of pure antioxidants and goutweed (*Aegopodium podagraria* L.) hydroalcoholic extracts. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 6005, 2020.

FRANCIS, C. D.; GURALNICK, R. P. Fitting the bill: Do different winter food resources influence juniper titmouse (*Baeolophus ridgwayi*) bill morphology? **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 101, n. 3, p. 667–679, 1 nov. 2010.

GRIS, Eliana Fortes *et al.* 1 Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos CAL; Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil. 2 **Empresa de Pesquisa e Extensão Agropecuária de Santa Catarina (EPAGRI-SC)**, Brazil. Eliana Fortes Gris, p. 39, 2010.

GIADA, Maria de Lourdes Reis. Uma abordagem sobre a capacidade antioxidante in vitro de alimentos vegetais e bebidas. **DEMETRA: Alimentação, Nutrição & Saúde**, v. 9, n. 1, p. 137-146, 2014.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GONÇALVES, Ana C. *et al.* Zimbro (*Juniperus communis* L.) as a promising source of bioactive compounds and biomedical activities: a review on recent trends. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 6, p. 3197, 2022.

GRIS, Eliana Fortes *et al.* 1 Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos CAL; Rod. Admar Gonzaga, 1346, Itacorubi, 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil. 2 **Empresa de Pesquisa e Extensão Agropecuária de Santa Catarina (EPAGRI-SC)**, Brazil. Eliana Fortes Gris, p. 39, 2010.

GRUWEZ, Robert *et al.* Negative effects of temperature and atmospheric depositions on the seed viability of common juniper (*Juniperus communis*). **Annals of Botany**, v. 113, n. 3, p. 489-500, 2014.

HALLIWELL, B. *et al.* The characterization of antioxidants. **Food Chem Toxicol** 1995; 33(7): 601-17.

HAN, Xuesheng; PARKER, Tory L.; BENAVENTE, Claudia. Atividade anti-inflamatória do óleo essencial de baga de zimbro (*Juniperus communis*) em fibroblastos dérmicos humanos. **Cogent Medicine**, [S. l.], v. 4, p. 1-7, 27 mar. 2017.

HARRIS, C.S. *et al.* Investigating wild berries as a dietary approach to reducing the formation of advanced glycation endproducts: Chemical correlates of in vitro antiglycation activity. **Plant Foods Hum. Nutr.** 2014, 69, 71-77.

JIANG *et al.* The importance of the North Atlantic land bridges and eastern Asia in the post-Boreotropical biogeography of the Northern Hemisphere as revealed from the poison ivy genus (*Toxicodendron*, Anacardiaceae), **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Volume 139, 2019.

LUÍS, Â.; DOMINGUES, F.; DUARTE, A. P. Bioactive compounds, RP-HPLC analysis of phenolics, and antioxidant activity of some Portuguese shrub species extracts. **Nat. Prod. Commun**, 2011, 6, 1863–1872.

MAHMUTOVIĆ, I. *et al.* Biological activity of *Juniperus communis* L. extracts. In Proceedings of the 28th. **International Scientific-Expert Conference of Agriculture and Food Industry**, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 27-29.

MCGOWAN, Geraldine M. *et al.* O status de *Juniperus communis* ssp. *nana* (zimbro anão) em seis locais no norte e noroeste da Escócia. **Jornal Botânico da Escócia**, [S. l.], p. 21-28, 22 abr. 2009. DOI <https://doi.org/10.1080/03746609808684900>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03746609808684900>. Acesso em: 12 fev. 2023.

MENDES, G. M.; RODRIGUES-DAS-DORES, R.G.; CAMPIDELI, L. C. Avaliação Do Teor De Antioxidantes, Flavonoides e Compostos Fenólicos em Preparações Condimentares. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 17.2 (2015): 297-304. Web.

MICELI, N. *et al.* Comparative analysis of flavonoid profile, antioxidant and antimicrobial activity of the berries of *Juniperus communis* L. var. *communis* and *Juniperus communis* L. var. *saxatilis* Pall. from Turkey. **J. Agric. Food Chem.** 2009, 57, 6570–6577.

NETO, Diniz *et al.* Estudo De Atividade Antimicrobiana De 3,4-(metilenodióxi)-acetofenona. **Scientia Plena**, 16.1 (2020): Scientia Plena, 2020, Vol.16 (1). Web.

NETO, Pedro Accioly de Sá Peixoto. **Plantas medicinais: do popular ao científico**. UFAL, Maceió, Alagoas, 2005.

NUNES, Daniela; ANJOS, Ofélia; CALDEIRA, Ilda. **First approach to the characterization of a traditional alcoholic drink "Aguardente de Zimbro"**. In: I

CONGRESSO INTERNACIONAL DE PRODUTOS TRADICIONAIS, Ponte de Lima, 3 a 5 de maio de 2012. CIPT, 2012.

OLECH, Marta *et al.* LC-ESI-MS/MS-MRM profiling of polyphenols and antioxidant activity evaluation of junipers of different origin. **Applied Sciences**, v. 10, n. 24, p. 8921, 2020.

OLIVA, Flavio Alberto *et al.* Análise de custos e lucratividade da cultura do alho. *In*: COLLOQUIUM AGRARIAE, 2017, p. 30-34.

OLIVEIRA, T. de F. *et al.* Concentração Mínima Inibitória (CMI) de antibióticos para oito estirpes de bactérias diazotróficas da Coleção de Culturas da Embrapa Agrobiologia. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento – Embrapa**, [S. l.], p. 1-20, 18 dez. 2009.

ORHAN, N.; ORHAN, I. E.; ERGUN, F. Insights into cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of five *Juniperus* species. **Food Chem. Toxicol.**, 2011, 49, 2305-2312.

ORHAN, N. *et al.* Enzyme inhibitory and radical scavenging effects of some antidiabetic plants of Turkey. Iran. **J. Basic Med. Sci.**, 2014, 17, 426–432.

KARAKAYA, S. Bioavailability of Phenolic Compounds. *Critical Rev. Food Sci. Nutr. Boca Raton*, v. 44, n. 6, p. 453-64, 2004.

KEDARE, S.B.; SINGH, R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 412-422, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>. Acesso em: 12 jul. 2023.

KINUPP, Valdely Ferreira. Plantas Alimentícias Não-Convencionais (PANCs): uma Riqueza Negligenciada. Instituto Federal de Educação, Ciência e **Tecnologia do Amazonas (IFAM)**, Campus Manaus-Zona Leste, n. 61, p. 1-4, 10 jul. 2019.

RICARDO, Letícia Mendes; STOTZ, E. N. Uso de Plantas Medicinais: o Sistema Único de Saúde e a autonomia dos saberes comuns. **Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca–FIOCRUZ**, 2009.

RODRIGUES, Humberto G. *et al.* Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 13, p. 359-366, 2011.

RODRIGUES, I. M. C.; SOUZA FILHO, A. P. S.; FERREIRA, F. A. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. **Planta daninha**, v. 27, p. 507-513, 2009.

SANTOS, Perla M. *et al.* Identification of antioxidant and antimicrobial compounds from the oilseed crop *Ricinus communis* using a multiplatform metabolite profiling approach. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 834-844, 2018.

SILVA, Nádia Livia Amorim; MIRANDA, Francisco Alberto Alencar; CONCEIÇÃO, Gonçalo Mendes da. Triagem fitoquímica de plantas de Cerrado, da área de

proteção ambiental municipal do Inhamum, Caxias, Maranhão. **Scientia plena**, v. 6, n. 2, 2010.

SILVA, C. G. da *et al.* Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological research**, v. 52, n. 3, p. 229-233, 2005.

SILVA, Elizeu. **Medicina Alternativa de A a Z**. 6. ed. Revisada e atualizada. São Paulo: Paulus Gráfica, 2003.

SONNENBORN, U. Cepa de *Escherichia coli* Nissle 1917 — da bancada para a cabeceira e vice-versa: história de uma cepa especial de *Escherichia coli* com propriedades probióticas, **FEMS Microbiology Letters**, Volume 363, edição 19, outubro de 2016, fnw212.

SOUSA, Cleyton Marcos de M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

TAGG, J. R.; DAJANI, A. S.; WANNAMAKER, L. W. Bacteriocins of gram-positive bacteria. **Bacteriological Reviews**, Washington, v. 40, n. 3, p. 722-756, 1976.

TANG, J.; DUNSHEA, F. R.; SULERIA, H. A. R. LC-ESI-QTOF/MS characterization of phenolic compounds from medicinal plants (Hops and Juniper Berries) and their antioxidant activity. **Foods** **2020**, 9, 7.

TEIXEIRA, Enéas Rangel; NOGUEIRA, Jairo de Freitas. O uso popular das ervas terapêuticas no cuidado com o corpo. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 26, n. 2, p. 231-231, 2005.

THOMAS, P. A.; EL-BARGHATHI, M.; POLWART, A. Biological flora of the British Isles: *Juniperus communis* L. **Journal of Ecology**, v. 95, n. 6, p. 1404-1440, 2007.

VED, A.; GUPTA, A.; RAWAT, A. Antioxidant and hepatoprotective potential of phenol-rich fraction of *Juniperus communis* Linn. leaves. **Pharmacogn. Mag.** **2017**, 13, 108-113.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C.; MACIEL, Maria Aparecida M. Plantas medicinais: cura segura? **Química nova**, v. 28, p. 519-528, 2005.

VIZZOTTO, Márcia; KROLOW, A. C. R.; WEBER, Gisele Eva Bruch. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas, RS 2010.

ZHELJAZKOV, Valtcho D. *et al.* Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activity of the galbuli of six juniper species. **Industrial Crops and Products**, v. 124, p. 449-458, 2018.

ŽIVIĆ, N. *et al.* Phytochemical and antioxidant screening of some extracts of *Juniperus communis* L. and *Juniperus oxycedrus* L. Czech J. **Food Sci.** 2019, 37, 351-358.

APÊNDICE A – Tabelas complementares atividade antioxidante – DPPH

PC1	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,20	100	400	500	0,384	0,423	0,42	0,409	0,053	0,356
	2	0,30	150	350	500	0,348	0,352	0,356	0,352	0,053	0,299
	3	0,40	200	300	500	0,258	0,276	0,255	0,263	0,053	0,21
	4	0,50	250	250	500	0,185	0,197	0,194	0,192	0,053	0,139

PC2	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,10	50	450	500	0,246	0,285	0,304	0,278	0,053	0,225
	2	0,20	100	400	500	0,234	0,242	0,253	0,243	0,053	0,190
	3	0,25	125	375	500	0,210	0,223	0,199	0,211	0,053	0,158
	4	0,40	200	300	500	0,129	0,142	0,152	0,141	0,053	0,088

PC3	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,40	200	300	500	0,134	0,142	0,149	0,142	0,053	0,089
	2	0,60	300	200	500	0,118	0,109	0,130	0,119	0,053	0,066
	3	0,80	400	100	500	0,105	0,092	0,097	0,098	0,053	0,045
	4	1,00	500	0	500	0,083	0,090	0,075	0,083	0,053	0,030

PC4	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,64	320	180	500	0,264	0,289	0,288	0,28	0,053	0,235
	2	0,68	340	160	500	0,243	0,231	0,245	0,24	0,053	0,195
	3	0,72	360	140	500	0,187	0,204	0,203	0,198	0,053	0,153
	4	0,76	380	120	500	0,166	0,166	0,161	0,164	0,053	0,119

PC5	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,05	25	475	500	0,371	0,326	0,346	0,348	0,053	0,295
	2	0,10	50	450	500	0,318	0,322	0,312	0,317	0,053	0,264
	3	0,15	75	425	500	0,238	0,260	0,271	0,256	0,053	0,203
	4	0,35	175	325	500	0,100	0,087	0,087	0,091	0,053	0,038

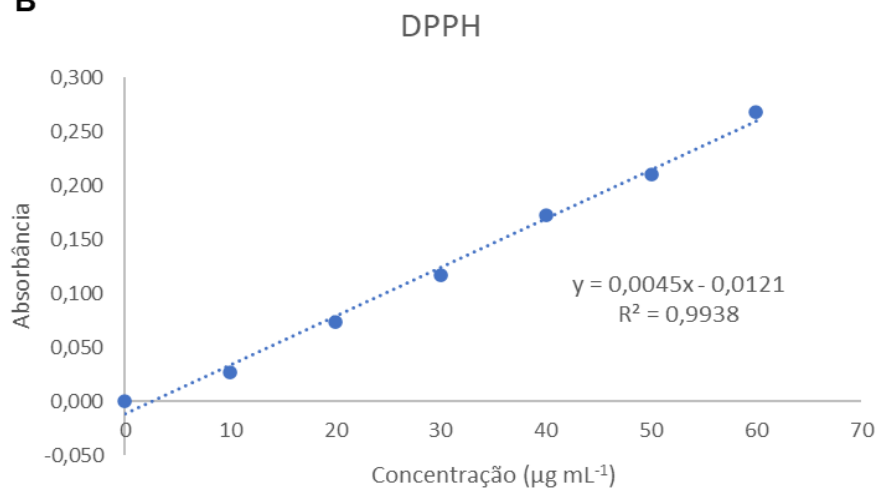
PC6	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,10	50	450	500	0,247	0,277	0,205	0,243	0,053	0,190
	2	0,20	100	400	500	0,187	0,217	0,205	0,203	0,053	0,150
	3	0,30	150	350	500	0,129	0,149	0,133	0,137	0,053	0,084
	4	0,40	200	300	500	0,076	0,079	0,080	0,078	0,053	0,025

PC7	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,20	100	400	500	0,173	0,17	0,163	0,312	0,053	0,259
	2	0,30	150	350	500	0,142	0,134	0,144	0,24	0,053	0,187
	3	0,40	200	300	500	0,117	0,117	0,089	0,175	0,053	0,121
	4	0,50	250	250	500	0,107	0,108	0,091	0,102	0,053	0,049

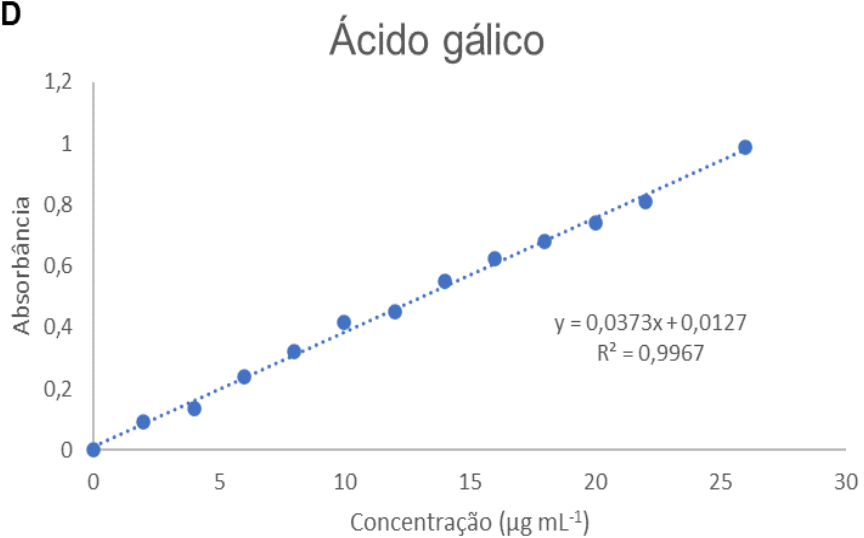
PC8	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,10	50	450	500	0,426	0,462	0,458	0,049	0,053	0,396
	2	0,20	100	400	500	0,443	0,368	0,355	0,389	0,053	0,336
	3	0,30	150	350	500	0,342	0,368	0,355	0,355	0,053	0,302
	4	0,40	200	300	500	0,288	0,281	0,288	0,286	0,053	0,233
	5	0,50	250	250	500	0,241	0,248	0,244	0,244	0,053	0,191

PC9	AMOSTRAS	CONC	EXTRATO (µL)	METANOL (µL)	DPPH (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA	BRANCO	ABS FINAL
	1	0,10	50	450	500	0,434	0,453	0,463	0,450	0,053	0,397
	2	0,15	75	425	500	0,381	0,383	0,464	0,409	0,053	0,356
	3	0,30	150	350	500	0,259	0,198	0,233	0,230	0,053	0,177
	4	0,35	175	325	500	0,187	0,192	0,198	0,192	0,053	0,139

Fonte: autoria própria

APÊNDICE B – Curvas de calibração do DPPH e consumo ácido gálico**B**

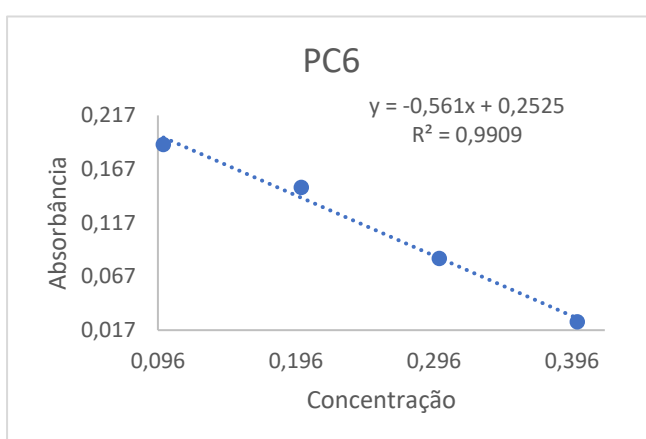
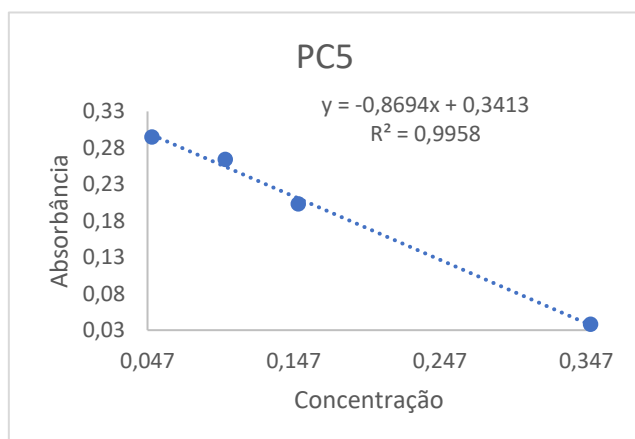
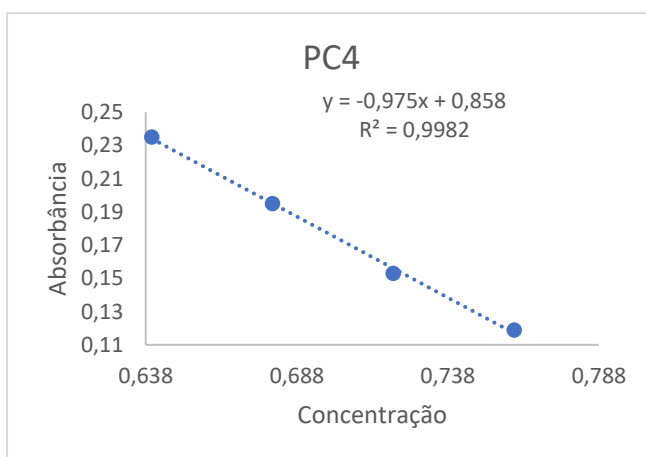
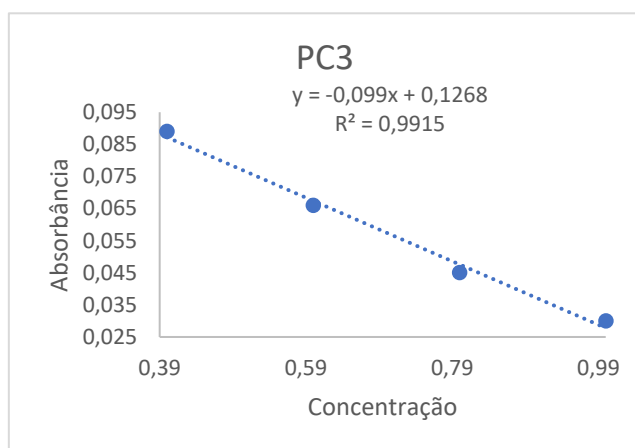
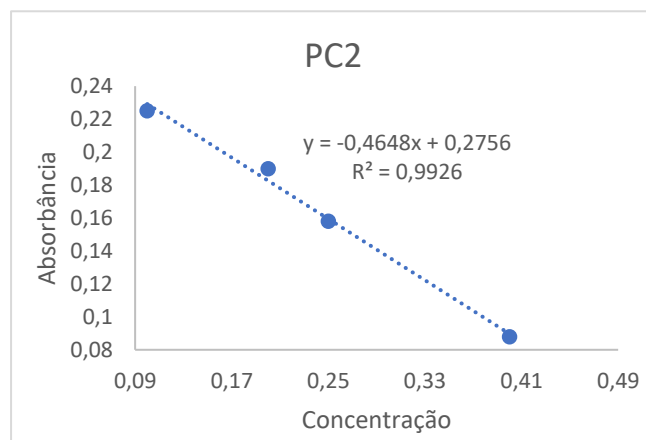
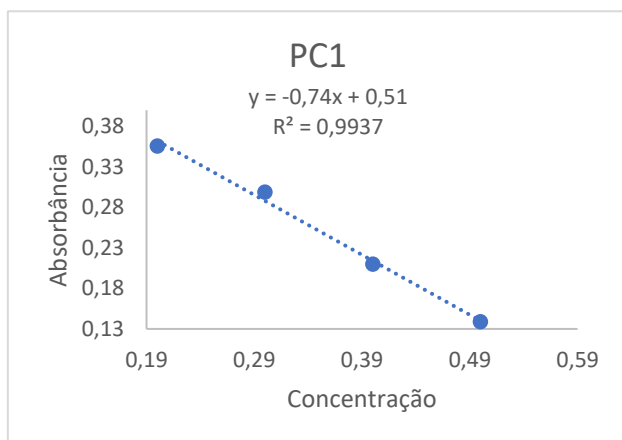
Fonte: autoria própria

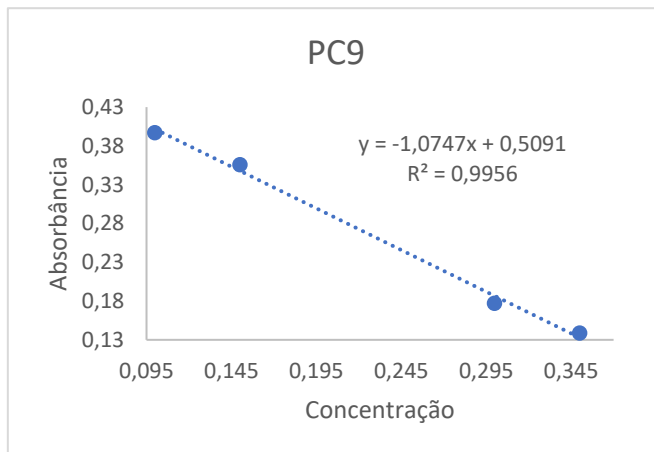
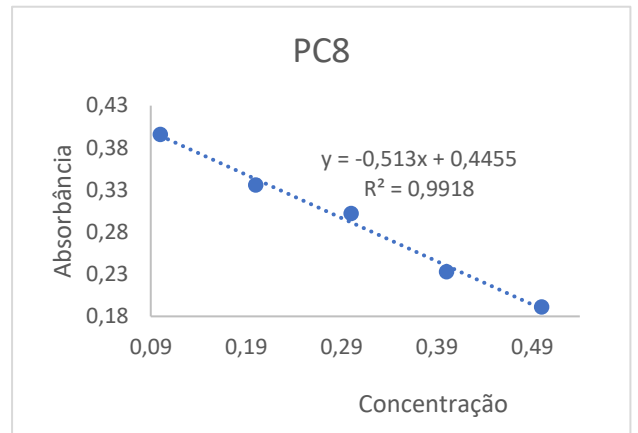
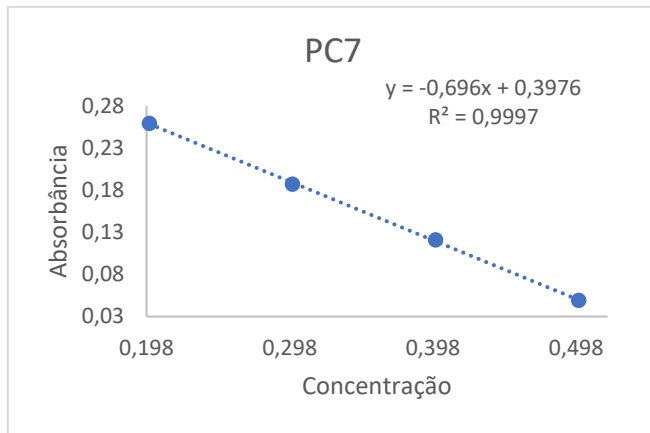
B - Curva de calibração do DPPH para os extratos PC2, PC3 e PC6.**D**

Fonte: autoria própria

D - Curva de calibração do ácido gálico para os extratos PC1, PC2, PC3 e PC7.

APÊNDICE C – Consumo de DPPH das amostras





Fonte: autoria própria

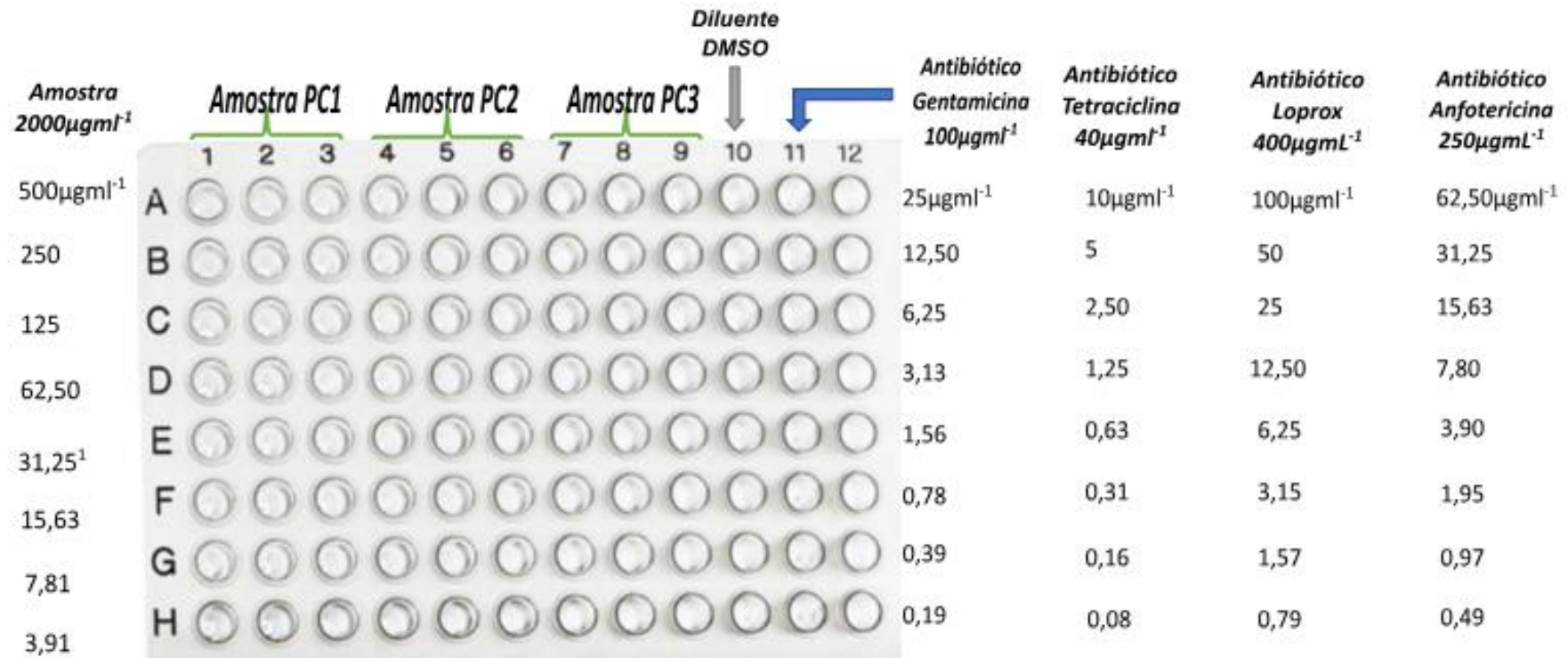
APÊNDICE D – Tabela complementar compostos fenólicos

Desvio e Erro Padrão

	EXT (µL)	ABS 1	ABS 2	ABS 3	MÉDIA ABS	DESV. P.	C. VARIAÇÃO %	ERRO PADRÃO
PC1	10	0,064	0,073	0,065	0,067	0,005	7,326	0,003
	50	0,316	0,317	0,334	0,322	0,010	3,138	0,006
	100	0,556	0,534	0,532	0,541	0,013	2,463	0,008
PC2	10	0,067	0,073	0,070	0,070	0,003	4,286	0,002
	50	0,081	0,082	0,087	0,083	0,003	3,857	0,002
	100	0,128	0,131	0,136	0,132	0,004	3,069	0,002
PC3	10	0,061	0,073	0,067	0,067	0,006	8,955	0,003
	50	0,196	0,214	0,195	0,202	0,011	5,302	0,006
	100	0,471	0,472	0,400	0,448	0,041	9,222	0,024
PC4	100	0,032	0,024	0,026	0,027	0,004	15,420	0,002
	200	0,038	0,039	0,046	0,041	0,004	10,631	0,003
PC5	100	0,055	0,059	0,055	0,056	0,002	4,124	0,001
	200	0,076	0,087	0,084	0,082	0,006	6,934	0,003
PC6	100	0,048	0,047	0,051	0,049	0,002	4,248	0,001
	200	0,060	0,070	0,056	0,062	0,007	11,631	0,004
PC7	100	0,042	0,046	0,040	0,043	0,003	7,105	0,002
	200	0,076	0,072	0,078	0,075	0,003	4,073	0,002
PC8	100	0,095	0,102	0,096	0,098	0,004	3,863	0,002
	200	0,211	0,215	0,203	0,210	0,006	2,910	0,004
PC9	10	0,069	0,060	0,065	0,065	0,005	6,973	0,003
	50	0,104	0,102	0,110	0,105	0,004	3,953	0,002
	100	0,227	0,216	0,189	0,211	0,020	9,282	0,011

Fonte: autoria própria

APÊNDICE E – Faixas de concentrações testadas dos extratos e antibióticos no final do experimento de microdiluição em caldo



Fonte: autoria própria