

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO BRUTO DA *Pereskia aculeata* Miller OBTIDOS POR DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Cintia Neves Ramos¹, Denise Bertin Carnevall², Laura Mardigan³, Rúbia Corrêa⁴, José Eduardo Gonçalves⁵

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/CNPq- UniCesumar. cinevesramos@gmail.com

²Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. debertin@hotmail.com

³Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR. mardiganlaura@gmail.com

⁴Coordenadora, ⁵Orientador, Pós-Doutores, Docentes do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Pesquisadores do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Bolsistas Produtividade em Pesquisa do ICETI. rubia.correa@unicesumar.edu.br, jose.goncalves@unicesumar.edu.br

RESUMO

Nos últimos anos, houve um aumento significativo do interesse na comunidade científica em obter compostos bioativos de origem natural com alta capacidade antioxidante. A espécie *Pereskia aculeata* Miller, popularmente conhecida como ora-pró-nóbis (OPN), é considerada uma cactaceae e pertence ao grupo de hortaliças conhecidas como PANCs. Diversos métodos de extração são utilizados para obter compostos fenólicos do extrato bruto de plantas, tais como, fluido supercrítico e extração assistida por ultrassom que têm se destacado por atenderem aos princípios da química verde, devido à utilização de solventes de menor impacto ambiental e/ou em volumes reduzidos. O presente trabalho tem por objetivo caracterizar a composição físico-química do caule, folhas, flor e frutos da OPN, bem como comparar o rendimento e a composição química do extrato bruto obtido, além de determinar o melhor método de extração aliado à menor geração de resíduos. Para tanto, serão coletadas amostras do caule, folhas frescas e frutos da planta na fazenda Unicesumar, na cidade de Maringá – Paraná. Serão realizados 3 tipos de extração do material vegetal seco: fluido supercrítico, extração por maceração e extração assistida por ultrassom. Os extratos serão caracterizados quanto a composição química por CG-EM e por CL-EM/EM. Os diferentes extratos serão analisados em relação ao potencial antioxidante pelos métodos químicos ABTS, DPPH e FRAP. Os dados coletados serão submetidos à análise exploratória multivariada, por meio da análise de componentes principais (ACP). Espera-se obter através deste estudo o melhor método de extração e as melhores condições para obtenção de extratos de OPN.

PALAVRAS-CHAVE: Análise cromatografia; Antioxidantes; Compostos fenólicos; PANCs; Química Verde.

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido largamente utilizadas na medicina tradicional (HAO, DA-CHENG, 2019). Devido a sua composição química com alto teor proteico, vitamínico e de sais minerais, estão ligadas a manutenção da saúde (MANAF, S; et al., 2016). Dentre elas encontram-se as hortaliças não-convencionais denominadas PANCs, que não são produzidas em escala comercial e ainda são pouco exploradas no Brasil, apesar da intensa biodiversidade do país (MIRANDA, M., et al, 2009; SANTOS, I, et al., 2012; SOUZA, M., 2009; BRASIL, 2010; CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL, 2011).

Dentro das PANCs encontra-se a *Pereskia aculeata* Miller, no Brasil popularmente conhecida como ora-pro-nóbis. Trata-se de uma trepadeira arbustiva de fácil cultivo pertencente à família *Cactacea*. (BRASIL, 2010; TOFANELLI, M., RESENDE, S., 2011). As folhas da ora-pro-nóbis possuem aminoácidos essenciais, vitaminas e sais minerais, sendo, portanto, uma fonte complementar na dieta de muitos brasileiros (ALMEIDA, M., CORRÊA, A., 2012; TAKEITI, et al., 2009).

Pesquisadores têm comprovado a presença de compostos bioativos importantes em vegetais com folhas verdes, tais como: ácido ascórbico, ácido fólico, polifenóis, ácidos fenólicos, flavanóides, compostos aromáticos (KOBORI, RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; KIM, 2013). Com isso, a comunidade científica aumentou seu interesse em obter compostos fenólicos a partir de espécies de plantas medicinais, por observar seu papel vital em reduzir processos oxidativos, devido à presença desses compostos em suas estruturas celulares,

que apresentam atividades antioxidantes, antitumorais e antimutagênicas. (TUNGMUNNITHUM, D, et al., 2018; WANG et al., 2013).

Alguns métodos utilizados para a separação de compostos bioativos como alcaloides, ácidos fenólicos, triterpenóides, glicosídeos esteroidais são: refluxo, fluido supercrítico, maceração, Soxhlet, técnica assistida por microondas, técnica assistida por ultrassom (SARVIN, B., et al., 2018). Para auxiliar na boa extração desses compostos, vários solventes podem ser utilizados, a depender da sua seletividade, viscosidade, densidade, miscibilidade, recuperação, pressão de vapor, estabilidade química e térmica (HAMINIUK et al., 2012).

A análise cromatográfica é extremamente importante para a escolha de um método de extração eficiente, pois, realiza a separação, identificação e possibilita a quantificação das variadas espécies químicas presente no extrato bruto obtido das plantas, permitindo avaliar e comparar os resultados gerados em cada técnica e condição de extração escolhida (COLLINS, C., et al., 2006; SONG et al., 2019; GARMUS et al., 2015).

Com base no exposto, o presente trabalho tem por objetivo caracterizar a composição físico-química do caule, folhas, flor e frutos da ora-pro-nóbis em busca de compostos fenólicos com capacidade antioxidante, bem como comparar o rendimento e a composição química do extrato bruto obtido, além de determinar o melhor método de extração aliado à menor geração de resíduos.

Para isto, serão coletadas amostras do caule, folhas frescas e frutos da planta na fazenda Unicesumar, na cidade de Maringá – Paraná. Após a colheita, o material será levado para o Laboratório Interdisciplinar de Análises Biológicas e Químicas (LIABQ) e será seco em local ventilado a temperatura ambiente. Serão realizados 3 tipos de extração do material vegetal seco: fluido supercrítico, extração por maceração e extração assistida por ultrassom. Os extratos serão caracterizados quanto a composição química por CG-EM e por CL-EM/EM. Os diferentes extratos serão analisados em relação ao potencial antioxidante pelos métodos químicos ABTS, DPPH e FRAP. Os dados coletados serão submetidos à análise exploratória multivariada, por meio da análise de componentes principais (ACP), a qual permitirá a avaliação em conjunto dos compostos químicos majoritários e da classe química de todos os compostos presentes nos extratos de ora-pro-nóbis.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS

2.1.1. Localização e Descrição da Área Experimental

A pesquisa será realizada no LIABQ (Laboratório Interdisciplinar de Análise Biológicas e Química) da Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Maringá/PR. As folhas de *Pereskia acuelata* Miller serão colhidas na fazenda Unicesumar com latitude -23.341898, longitude: -51.875253, as oito horas da manhã. Após colheita serão secas em temperatura ambiente sob ventilação e moídas em moinho de faca tipo Willey SL-31. A exsiccata da planta (folhas, caule, frutos, acúleos) será documentada no herbário da Universidade Estadual de Maringá - UEM.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Extração Assistida por Ultrassom

Para o processo de extração será utilizado extrator assistido por ultrassom de 550 W e 40 kHz. A temperatura do banho de água será monitorada por um termômetro digital

controlado pela circulação da água ao longo do experimento. Para o processo 10 g de cada material em pó seco será extraído com 200 mL do solvente adequado em um banho ultrassônico a 40 °C por 40 min. Para a separação dos resíduos sólidos da solução, a amostra será centrifugada a 5000 rpm por 10 min. Em seguida, o filtrado será concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório (modelo Fisaton 802) à 40 oC, até obtenção do extrato ou será exposto a um fluxo de nitrogênio até evaporar. O método gravimétrico será usado para medir o peso exato do extrato bruto. As extrações serão realizadas em triplicata.

2.2.2. Extração Assistida por Fluido Supercrítico

O material vegetal será seco e pulverizado a uma granulometria de 800 µm. Os experimentos para obtenção do extrato de caule, flor, folha e fruto de ora-pro-nóbis utilizando dióxido de carbono (CO₂) serão realizados em uma unidade de extração supercrítica, descrita por Santos et al. (2013), e conduzidos no Laboratório de Processos de Separação da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Para cada extração será utilizado 10 g do material particulado (capacidade máxima do extrator). O solvente (CO₂), resfriado na bomba, será bombeado para o extrator já estabilizado termicamente na temperatura de extração e então, pressurizado em intervalos de pressão de 10 bar até a pressão desejada. Após 20 minutos de estabilização, a válvula de expansão será aberta para uma vazão de solvente de 3 mL/min. Durante a extração, o extrato será coletado em frasco de vidro âmbar e sua massa pesada a cada 10 minutos. Serão empregados 190 minutos de extração utilizando caule e frutos e 120 minutos para as flores e folhas, tempo em que ocorrerá o esgotamento da amostra. As condições de extração testadas serão nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C, e pressões de 150, 175 e 200 bars.

2.2.3. Extração Assistida por Hidrodestilação/Maceração

Amostras de caule, flor, folha e fruto de ora-pro-nóbis serão secos à temperatura ambiente, e pulverizado em moinho de facas tipo Willye (TE650). O material pulverizado será padronizado em peneiras granulométricas, de forma a obter granulometria entre 710 e 850 µm. O pó obtido será submetido ao processo de maceração dinâmica com renovação do solvente de acordo com protocolo descrito na Farmacopéia Brasileira (Farmacopéia Brasileira, 1988), com álcool etílico 70% v v-1 até o esgotamento do material vegetal (MIRANDA et al., 2009). Em seguida, o filtrado será concentrado sob pressão reduzida em evaporador rotatório (modelo Fisaton 802) à 40 °C, até a obtenção do extrato bruto (EB).

2.2.4. Caracterização Química dos Extratos Brutos

2.2.4.1. Análise por Cromatografia a Gás Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM)

As análises serão realizadas em um cromatógrafo à gás (Agilent 7890B), acoplado ao espectrômetro de massas (Agilent 5977A MSD), operando com uma fonte de elétrons com energia de ionização de 70 eV. Será utilizada uma coluna capilar HP-5MS IU (30 m x 0,25 mm x 0,250 mm) recheada com fase estacionária composta de 5% de fenil e 95% dimetil polisiloxano. O volume injetado das amostras, adequadamente diluídas será de 2 µL, nas condições de programação do forno: temperatura inicial de 50 oC sendo mantida por 3 min seguido de aquecimento de 3 °C/min até temperatura final de 300 °C, permanecendo por 10 min. A injeção das amostras será realizada no modo split na razão 1:20 com fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹ de Hélio como gás de arraste com a temperatura do injetor mantidas a 250 oC e a linha de transferência em 280 oC. No detector de massas

a temperatura da câmara de ionização será de 230 oC a temperatura do quadrupolo de 150 oC. No espectrômetro de massas será utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga (m/z) de 40 - 600, com “solvent delay” de 3 min.

2.2.4.2. Análise por Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas (CL-EM)

Para os experimentos de CL-EM e CL-EM/EM será utilizado um sistema de cromatografia líquida Waters 1525 μ (bomba binária) acoplado à um espectrômetro de massas Quattro micro API Waters (Beverly-EUA). Será utilizada uma coluna Waters Symmetry® C18 (4,6 x 75 mm x 3,6 μ m) e gradiente linear de eluição utilizando como solvente (A) água (0,1% de ácido fórmico) e solvente (B) acetonitrila (0,1% ácido fórmico).

O espectrômetro de massas com fonte de eletrospray e analisador de massas do tipo triplo-quadrupolar (QqQ) será operado no modo varredura (Scan) de m/z 100 a 1000, sendo as condições de análise de ionização no modo positivo; voltagem do capilar 2,50 kV; voltagem do cone 25,0 V; temperatura da fonte 150 °C; temperatura de dessolvatação 450 °C; fluxo do gás no cone 25 L h⁻¹; fluxo do gás de dessolvatação 900 L h⁻¹. Para os ensaios de quantificação, o espectrômetro de massas será operado no modo monitoramento de reações múltiplas (MRM).

2.2.5. Avaliação da Capacidade Antioxidante

2.2.5.1. Método do DPPH

A atividade antioxidante pelo método do radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) será realizada conforme descrito por Ma et al., (2011). Em tubos protegidos de luz, 25 μ L da amostra e 2 mL da solução de DPPH 6,25x10⁻⁵ mol/L serão adicionados e mantidos durante 30 min. A leitura será realizada em espectrofotômetro a 517 nm e uma curva padrão com solução de Trolox (ácido (\pm)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) será construída. Os resultados serão expressos em μ mol Trolox/mg.

2.2.5.2. Método do ABTS

A atividade antioxidante pelo método do ABTS (2,2'-azino-bis(-ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico), sal diamônico, ~98%) será determinada conforme protocolo de Rufino et al., (2007). Em tubos protegidos da luz, 30 μ L do extrato de cada amostra e 3 mL da solução do radical ABTS+ (5 mL solução de ABTS – 7 mmol/L e 88 μ L de persulfato de potássio – 140 mmol/L, reação por 16 horas em ambiente protegido da luz) serão transferidos e mantidos por 6 min. A leitura será realizada em espectrofotômetro a 734 nm e uma curva padrão com solução de Trolox será construída. Os resultados serão expressos em μ mol Trolox/mg.

2.2.5.3. Método de Redução do Íon Férrico (FRAP)

Este ensaio será realizado com modificações, conforme Rufino et al. (2006). O reagente FRAP utilizada no ensaio será preparado utilizando 25 mL de tampão acetato, 2,5 mL de solução de TPTZ e 2,5 mL de solução de FeCl₃, proporção 10:1:1 (v:v:v), respectivamente. Para a reação, 100 μ L do extrato, 300 μ L de água destilada e 3 mL do reagente FRAP serão adicionados em tubos, seguido de homogeneização e banho-maria a 37 °C por 30 minutos. Após este período, será realizada a leitura em espectrofotômetro na região do Visível a 595 nm. Será construída uma curva padrão com solução de Trolox, e os resultados serão expressos em μ mol trolox/mg.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Espera-se através deste estudo obter o melhor método de extração e as melhores condições para obtenção de extratos de ora-pro-nóbis, além de caracterizar possíveis compostos bioativos encontrados devido à grande importância de sua aplicabilidade comercial perante suas características básicas de atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena, propriedades antioxidantes e antitumorais (Sujhata et al., 2017).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de compostos com capacidade antioxidante derivados de plantas, representam um avanço na manutenção do equilíbrio biológico, da indústria alimentícia e farmacológica (WANG et al., 2013). No entanto, ainda são escassos trabalhos científicos que catalogam diferentes métodos de extração da planta ora-pro-nóbis. Neste contexto, ressalta-se a importância de estudos que demonstrem quais as melhores abordagens para a obtenção do extrato bruto da planta, para a aplicabilidade comercial do produto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M., CORRÊA, A. Utilização de cactáceas do Gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, vol. 42, num. 4, pag. 751- 756, Santa Maria, April, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000400029>. Acesso em: 20/07/2021.

BENDICHO, C., CALLE, I., PENA, F., COSTAS, M. CABALEIRO, N., LAVILLA, I. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 31, pag. 50–60, 2012. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>. Acesso em: 20/07/2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Corporativismo. **Manual de hortaliças não-convencionais**. P 62, 2010.

COLLINS, C.; BRAGA, G., BONATO, P. Fundamentos de cromatografia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Vol. 42, Num. 02, April/June, São Paulo. In: Fundamentos de cromatografia. [S.l.]: Unicamp, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000200018>. Acesso em: 20/07/2021.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL. Megadiversidade. 2011. Disponível em: <http://www.conservation.org.br/como/index.php?id=11>. Acesso em: 20/07/2021.

GARMUS, T., PAVIANI, L. Extraction of phenolic compounds from pepper-rosmarin (*Lippia sidoides* Cham.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 99, 68-75, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.01.016>. Acesso em: 20/07/2021.

GOULA, A. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - Kinetic modeling. **Journal of food Engineering**. Vol. 117, pag. 492-498, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.009>. Acesso em: 20/07/2021.

HAMINIUK, C, W, I., MACIEL, G, M., PLATA-OVIEDO, M, S, V., PERALTA, R, M. Phenolic compounds in fruits: an overview. **International Journal of Food Science + Technology**. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>. Acesso em: 20/07/2021.

HAO, DA-CHENG. Genomics and Evolution of medicinal Plants. **Ranunculales Medicinal Plants**. Biodiversity, Chemodiversity and Pharmacotherapy. Pag. 1-33, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814232-5.00001-0>. Acesso em: 20/07/2021.

KIM, S; CHO, AH.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v.29, n.1, p.112-120, 2013. Available in: <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%2Fj.foodcont.2012.05.060>. Acesso em: 20/07/2021.

KOBORI, C., RODRIGUEZ, A., DELIA, B. Uncultivated Brazilian Green leaves are richer sources of carotenoids than are commercially produced leafy vegetables. **Food and Nutrition Bulletin**, v.29, n.4, p.320-328, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1177%2F156482650802900408>. Acesso em: 20/07/2021.

MANAF, S.; MOHD, H.; DAUD.; ALIMON, A.; MUSTAPHA, N.; HAMDAN, R.; MUNIADY, K.; MOHAMED, N.; RAZAK, R.; HAMID, N. The Effects of Vitex trifolia, Strobilanthes crispus and Aloe vera Herbal-mixed Dietary Supplementation on Growth Performance and Disease Resistance in Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis sp.*). **Journal of Aquaculture Research & Development**. Vol. 7, ISSUE 4, 2016. DOI: 10.4172/2155-9546.1000425.

MIRANDA, M. O potencial da Ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, vol. 4, num. 2, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em: 20/07/2021.

MURRAY, K. K.; BOYD, R. K.; EBERLIN, M. N.; LANGLEY, G. J.; LI, L.; NAITO, Y. Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 7, p. 1515–1609, 2013.

OLIVEIRA, R.; ROCHA, J.; PINHEIRO, K.; MENDONÇA, M.; BARÃO, C. Aplicação de processo ultrassom na extração de catequinas dos resíduos de chá verde. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 7, n. 3, p. 29-40, Campo Mourão, 2016.

SANTOS, I., PEDROSA, M., CARVALHO, O., GUIMARÃES, C., SILVA, L. Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais –EPAMIG**. Circular Técnica, num.177, dezembro, 2012. ISSN 0103-4413. Disponível em: <http://www.epamig.br/download/circular-tecnica-177/> . Acesso em: 20/07/2021.

SARVIN, B, FDOROVA, E., SHPIGUN, O., TITOVA, M., NIKITIN, M., KOCHKIN, D., RODIN, I., STAVRIANIDI. LC-MS Determination of steroidal glycosides from *Dioscorea deltoidea* Wall cell suspension culture: Optimization of pre-LC-MS procedure parameters by Latin Square design. **Journal of Chromatography B**. Vol. 1080, pag. 64-70, March, 2018. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.02.012>. Acesso em: 20/07/2021.

- SHARIF, K., RAHMAN, M., ZAIDUL, I., JANNATUL, A., AKANDA, M. Pharmacological Relevance of Primitive Leafy *Cactuses Pereskia*. **Research Journal of Biotechnology**. Vol. 8(12), Pag. 134-142, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Mohammad_Sharif_Khan/publication/261722251_Pharmacological_Relevance_of_Primitive_Leafy_Cactuses_Pereskia/links/545ea8aa0cf2c1a63bfc20b3/Pharmacological-Relevance-of-Primitive-Leafy-Cactuses-Pereskia.pdf. Acesso em: 20/07/2021.
- SONG, L. *et al.* Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (SONG, L. *et al.* Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) leaves and associated biological activities and flavonoid compositions. **Industrial Crops and Products**. Vol. 139, 2019. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111508>. Acesso em: 20/07/2021.
- SOUZA, M., CORREA, E., GUIMARÃES, G., PEREIRA, P. Potencial da ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.3550–3554, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em 20/07/2021.
- SUJHATA, P., EVANJALINE, M., MUTHUKUMARASAMY, S., MOHAN, V., Determination of bioactive components of *Barleria Courtallica* Nes (Acanthaceae) by gas chromatography-mass spectrometry analysis. **Asian Journal of Pharmaceutical Clinic and Research**. Vol 10, Issue 6, p 273-283, 2017.
- TAKEIT, C. ANTONIO, G., MOTTA, E., COLARES-QUEIROZ, F. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Science and Nutrition**. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol 60 (1, Suppl 1), pag. 148-160, Campinas, 2009. PMID:19468927. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/09637480802534509>. Acesso em: 20/07/2021.
- TOFANELLI, M.; RESENDE, S. Sistemas de condução na produção de folhas de Ora-pro-nóbis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. **Goiania**, vol. 41, num. 3, pg.466-469, jul./set. 2011. ISSN: 1517-6398. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>. Acesso em: 20/07/2021.
- TUNGMUNNITHUM, D; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A. Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. **Medicines**. C. 5, p .93; 2018. Available in: <https://doi.org/10.3390/medicines5030093>. Acesso em: 20/07/2021.
- WANG, H.; LIU, Y.; QI, Z. ; WANG, S. ; LIU, S. ; WANG, H.; XIA, X.. An overview on natural polysaccharides with antioxidant properties. **Current Medicinal Chemistry**, vol. 20, num. 23, 2899-2913, 2013.