

**Potencial antioxidante e estabilidade do bioaditivo de jucá (*Libidibia ferrea*)**

**Antioxidant potential and stability of the juca (*Libidibia ferrea*) bioadditive**

**Potencial antioxidante y estabilidad del bioaditivo juca (*Libidibia ferrea*)**

Recebido: 02/06/2020 | Revisado: 03/06/2020 | Aceito: 05/06/2020 | Publicado: 20/06/2020

**Cristiani Viegas Brandão Grisi**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3365-1814>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: [crisgrisi.gere@gmail.com](mailto:crisgrisi.gere@gmail.com)

**Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9475-0202>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: [atribuzycordeiro@gmail.com](mailto:atribuzycordeiro@gmail.com)

**Malanna Kauanne Gomes do Nascimento**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9601-659X>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: [malanna.kauanne@gmail.com](mailto:malanna.kauanne@gmail.com)

**Simone Alves Monteiro da Franca**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0504-3889>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: [simone.tecalimentos@gmail.com](mailto:simone.tecalimentos@gmail.com)

**Sulamita Moreira Maia Freire**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7143-9702>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: [leif\\_sulamita@hotmail.com](mailto:leif_sulamita@hotmail.com)

**Carolina Lima Cavalcanti de Albuquerque**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9254-7972>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: [carollca@gmail.com](mailto:carollca@gmail.com)

**Adriano da Silva Marques**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2254-8793>

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil

E-mail: [adriano.marques@ufrpe.br](mailto:adriano.marques@ufrpe.br)

**Gilmar Trindade de Araújo**

ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1282-5707>

Universidade Federal de Campina Grande, Brasil

E-mail: [gilmartrindade@ufcg.edu.br](mailto:gilmartrindade@ufcg.edu.br)

## Resumo

O jucá é uma planta comum no nordeste brasileiro, tem sua capacidade antioxidante conhecida e poder terapêutico comprovado. Porém, existem poucas informações sobre sua utilização como bioaditivo antioxidante em óleo de soja. Desta forma, investigou-se a eficácia antioxidante dos extratos aquosos e hidroalcoólicos do jucá, por meio das análises *in vitro* (teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos sequestrador de radical livre - DPPH e por redutor de ferro - FRAP), e *in vivo* (índice de peróxido do óleo de soja aditivado, monitorado por 90 dias). Os extratos hidroalcoólicos do jucá apresentaram maior estabilidade oxidativa que os extratos aquosos. Os extratos hidroalcoólicos do jucá apresentaram elevados teores de compostos fenólicos (166,59 mgEAG/g de fruto e 179,55 mgEAG/g de casca do caule), e elevadas atividades antioxidantes pelos métodos de DPPH e FRAP, ao final dos 90 dias. As investigações *in vivo* indicaram que a formulação de extrato hidroalcoólico com 0,85% do fruto e 0,85% da casca do caule apresentaram um maior efeito protetor contra o aumento do índice de peróxido no óleo de soja, mostrando que a utilização simultânea dos aditivos apresenta efeito antioxidante sinérgico. Portanto, os extratos hidroalcoólicos de jucá podem ser utilizados como bioaditivo antioxidante em óleo de soja.

**Palavras-chave:** Aditivo natural; Antioxidante; Compostos fenólicos; Estabilidade oxidativa; Extrato.

## Abstract

The juca is a common plant in northeastern Brazil, has its known antioxidant capacity and proven therapeutic power. However, there is little information about its use as an antioxidant bioadditive in soybean oil. Thus, the antioxidant efficacy of the aqueous and hydroalcoholic extracts of the juca was investigated, through analysis *in vitro* (by total phenolic compounds, antioxidant activity by free radical scavenger method - DPPH and by iron reducer method – FRAP), and *in vivo* (by oil with juca extracts, monitoring its oxidation during a 90-days). Hydroalcoholic extracts from juca showed greater oxidative stability than aqueous extracts. The hydroalcoholic extracts of the juca showed high levels of phenolic compounds (166.59 mgEAG / g of fruit and 179.55 mgEAG / g of stem bark), and high antioxidant activities by the methods of DPPH and FRAP, at the end of 90 days. The *in vivo* investigations indicated that the formulation of hydroalcoholic extract with 0.85% of the fruit and 0.85% of the stem bark showed a greater protective effect against the increase of the peroxide index in

the soybean oil, showing that the simultaneous use of the additives have synergistic antioxidant effect. Therefore, juca hydroalcoholic extracts can be used as an antioxidant bioadditive in soybean oil.

**Keywords:** Antioxidant; Extract; Natural additive; Oxidative stability; Phenolic compounds.

## Resumen

El jucá es una planta común en el noreste de Brasil, tiene su conocida capacidad antioxidante y su poder terapéutico comprobado. Sin embargo, hay poca información sobre su uso como bioaditivo antioxidante en el aceite de soja. Así, se investigó la eficacia antioxidante de los extractos acuosos e hidroalcohólicos del jucá, de los análisis *in vitro* (contenido de compuestos fenólicos totales, actividad antioxidante por métodos captadores de radicales libres - DPPH y por reductor de hierro – FRAP), e *in vivo* (índice de peróxido de aceite de soja, control de su oxidación durante 90 días). Los extractos hidroalcohólicos de jucá mostraron mayor estabilidad oxidativa que los extractos acuosos. Los extractos hidroalcohólicos del jucá mostraron altos niveles de compuestos fenólicos (166.59 mgEAG / g de fruta y 179.55 mgEAG / g de corteza de tallo), y altas actividades antioxidantes por los métodos de DPPH y FRAP, al final de los 90 días. Las investigaciones *in vivo* indicaron que la formulación de extracto hidroalcohólico con 0,85% de la fruta y 0,85% de la corteza del tallo mostró un mayor efecto protector contra el aumento del índice de peróxido en el aceite de soja, lo que demuestra que el uso simultáneo del aditivo tiene efecto antioxidante sinérgico. Por lo tanto, los extractos hidroalcohólicos de jucá pueden usarse como bioaditivos antioxidantes en aceite de soja.

**Palabras clave:** Aditivo natural; Antioxidante; Compuestos fenólicos; Estabilidad oxidativa; Extracto.

## 1. Introdução

Os aditivos antioxidantes são substâncias adicionadas aos alimentos ou matriz oleaginosa para retardar e/ou prevenir deterioração causada por reações de oxidação (Ng, Lyu, Mark, & Chen, 2019). Os aditivos utilizados pelas indústrias de alimentos são em sua maioria derivados de substâncias químicas sintéticas. No entanto, existe um grande interesse por parte destas indústrias em substituir os aditivos sintéticos por naturais, derivados de plantas medicinais, na forma de extrato de planta, óleo essencial ou metabólito secundário purificado, como os compostos fenólicos (Cecília, Vasconcelos, & Souza, 2018).

O jucá (*Libidibia ferrea*) é uma planta comum no nordeste brasileiro, que tem sua capacidade antioxidante conhecida e por isto, pode ser uma alternativa como aditivo natural. O jucá é uma planta rica em compostos fenólicos, saponinas, terpenóides e esteróides, com propriedades farmacológicas e terapêuticas testadas *in vitro* e *in vivo* (Barros, et al., 2014; Ferreira & Soares, 2015). Sua eficácia antioxidante está correlacionada ao efeito sequestrador de radical livre pela doação de um átomo de hidrogênio ou elétron, e redutor de compostos (Silva, et al., 2020).

Para extração de compostos fenólicos, ditos bioativos naturais de plantas, é necessário que se utilize alguns métodos, seja através de equipamentos, como o supercrítico, ou através de solventes inorgânicos e orgânicos com diferentes polaridades (Alcântara, et al., 2019). Os solventes orgânicos, como água e etanol, são os mais recomendados para aplicação em alimentos por serem considerados seguros (GRAS) e de baixo custo.

A avaliação da atividade antioxidante de extratos de matrizes vegetais por ensaios *in vitro* é uma prática bastante comum, visto a sua facilidade, rapidez e reprodutibilidade. No entanto, a combinação de métodos se faz necessário devido à complexidade dos extratos vegetais, polaridade de solventes extrativos e em função das diferenças nos mecanismos das reações que ocorrem entre o radical ou agente oxidante e os compostos antioxidantes (Costa, Guilhon-Simplicio, & Souza, 2015).

Neste contexto, objetivou-se avaliar a eficácia antioxidante dos extratos aquosos e hidroalcoólicos do jucá, por meio das análises *in vitro* (teor de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante pelos métodos sequestrador de radical livre - DPPH e por redutor de ferro - FRAP), e *in vivo* (índice de peróxido do óleo de soja aditivado, monitorado por 90 dias).

## **2. Metodologia**

O presente estudo apresenta uma metodologia de natureza quantitativa de uma pesquisa laboratorial (Pereira, et al., 2018), onde foram utilizados programas estatísticos para analisar os dados experimentais.

### **2.1 Obtenção dos extratos**

Para a elaboração dos extratos, os frutos e as cascas dos caules do jucá (*Libidibia ferrea*) foram adquiridos nos centros comerciais de João Pessoa-PB/BR e submetidos ao aquecimento a 40°C em estufa com circulação forçada de ar por 24h. Em seguida, trituradas

em moinho de facas tipo Willey da SOLAB-SL31-Brasil, com rotação fixa de 1750 RPM e peneira de aço inox de 10 mesh (1,64-1,76mm Tyler) acoplada ao equipamento. Os compostos fenólicos foram extraídos utilizando 10g de pó obtido da moagem dissolvido em 100mL de solvente (1:10, m/v), onde os solventes utilizados foram etanol e água, nas proporções de água 100% (v/v) e etanol/água 50% (v/v). O tempo de extração utilizado foi de 2 horas à 40°C sob agitação constante (ET-420 Incubator). Em seguida, a solução foi filtrada sob pressão, e o extrato resultante foi concentrado em rota-evaporador, em banho-maria à 70°C por 10min (Alcântara, et al., 2019). Os extratos concentrados foram armazenados ao abrigo da luz à 5°C, até a realização das análises.

## **2.2 Avaliação *in vitro* dos antioxidantes**

A estabilidade oxidativa dos extratos aquosos e hidroalcoólicos foi investigada quanto ao teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante pelo método sequestrador de radical livre DPPH• (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) e pelo método redutor de ferro (FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*), nos pontos 0, 7, 15, 30, 45, 60 e 90 dias armazenados sob refrigeração (5°C) e no abrigo da luz em vidros âmbar.

### **2.2.1 Teor de compostos fenólicos totais**

O teor de compostos fenólicos totais dos extratos foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu descrito por Rossi & Singleton (1965). Uma alíquota de 20µL dos extratos foi transferida para tubo de ensaio, e adicionou 60µL do reagente Folin-Ciocalteu juntamente com 2740µL de água destilada, agitando por 60 segundos. Em seguida, adicionou 180µL de uma solução de carbonato de sódio a 15% e agitou por mais 60 segundos. A mistura reacional foi deixada em repouso por 2horas na ausência de luz. A leitura da absorbância das amostras e do padrão foram medidas a 760nm. Uma curva padrão com ácido gálico nas concentrações de 1 a 20 mg/L ( $y = 0,098x + 0,01$ ,  $R^2 0,99$ ) foi utilizada para calcular os resultados expressos em mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por g do extrato.

### **2.2.2 Atividade antioxidante: DPPH e FRAP**

A atividade antioxidante foi avaliada pelo método sequestrador de radical livre DPPH• (2,2- difenil-1-picril-hidrazil) descrito por Brand-Williams, Cuvelier, & Berset (1995). 20µL da amostra foi transferida para um tubo de ensaio, adicionou 280µL de etanol e completou o

volume final até 3mL com solução de DPPH na concentração de 23,6µg/mL em etanol. Em seguida, a mistura foi incubada por 30 minutos à 25 °C. A leitura da absorbância foi realizada a 517nm, utilizando cela de quartzo com 1 cm de caminho óptico. Uma curva padrão de Trolox, nas concentrações de 100 a 2000µmol/L ( $y = -0,0002x + 0,6183$ ,  $R^2 0,99$ ), foi utilizada para calcular os resultados expressos em mol de Trolox por g de extrato.

A atividade antioxidante também foi avaliada pelo método de redução do ferro (FRAP) descrito por Rufino et al. (2006). O reagente FRAP foi preparado no momento da análise, através da mistura de 25 mL de tampão acetato (300mmol/L, a pH 3,6), com 2,5 mL da solução TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil-1,3,5-triazina) (10 mmol/L) diluído em HCl (40 mmol/L) e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico (20 mmol/L). Uma alíquota de 90µL da amostra foi transferida para tubo de ensaio, adicionou 270µL de água ultrapura, e 2700µL do reagente FRAP. O tubo foi homogeneizado e incubado a 37°C em banho-maria por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada a 595nm. Uma curva padrão de sulfato ferroso, nas concentrações de 500 a 2000 µM ( $y = 0,0007x - 0,0215$ ,  $R^2 0,99$ ), foi utilizada para calcular os resultados expressos em mmol Fe<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> por g de extrato.

### **2.3 Análise físico-química dos extratos hidroalcoólicos**

As análises físico-químicas, foram realizadas apenas nos extratos hidroalcoólicos, e conduzidas de acordo com os métodos da AOAC (1995). Determinou-se umidade por secagem em estufa a 105 °C sem circulação forçada de ar com valores expressos em g/100g em base úmida; a leitura do pH foi realizada de forma direta, através de um potenciômetro digital à 25°C, previamente calibrado com soluções tampão de pH 7,0 e 4,0. A leitura da atividade de água foi realizada pelo medidor de água livre (AQUALAB: 4TEV, EUA), à 25°C, sendo calibrado com água destilada.

### **2.4 Espectroscopia na região do infravermelho**

A análise nos extratos hidroalcoólicos foi realizada utilizando equipamento Espectrofotômetro Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) da marca SHIMADZU, modelo IR-Prestige-21 (Kyoto, Japão), utilizando o método de reflectância atenuada (ATR). Os espectros foram obtidos no modo de transmitância, na faixa de 4000 a 600 cm<sup>-1</sup>, com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> e 40 varreduras.

## 2.5 Avaliação *in vivo* dos antioxidantes

O óleo de soja foi aditivado com os extratos hidroalcoólicos do jucá, através de delineamento estatístico de superfície de resposta (Tabela 1), com um modelo de ordem (2<sup>2</sup>), com 4 pontos axiais ( $\alpha = \sqrt{2}$ ) e 3 pontos centrais (total de 11 formulações).

**Tabela 1** - Valores codificados e reais (%) das variáveis independentes do delineamento estatístico.

Variáveis (%)	Valores Codificados e Reais das Variáveis Independentes				
	$-\sqrt{2}$	-1	0	1	$\sqrt{2}$
Extrato hidroalcoólico fruto do jucá	0,00	0,15	0,50	0,85	1,00
Extrato hidroalcoólico casca do caule do jucá	0,00	0,15	0,50	0,85	1,00

**Fonte:** Elaboração dos autores.

Os extratos hidroalcoólicos do fruto (% m/m;  $X_1$ ) e casca do caule (% m/m;  $X_2$ ) do jucá foram escolhidos como variáveis independentes, com a concentração variando de 0 a 1 %. As amostras aditivadas foram mantidas em condições controladas à  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  e  $63 \pm 2\%$  UR por 90 dias.

O índice de peróxido do óleo de soja foi determinado pelo método Cd 8-53 da AOCS (1990). As alíquotas foram analisadas nos períodos 0, 30, 45, 60 e 90 dias. 5g da amostra de óleo de soja foi dissolvida em 30mL de uma solução de ácido acético-clorofórmio (3:2 v/v), adicionou 0,5mL de solução saturada de iodeto de potássio e agitou por 60 segundos. Em seguida, adicionou 30mL de água destilada e 0,5mL de solução de amido a 1 %. O iodo liberado foi titulado com solução de tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) 0,01 N, até o clareamento total da solução. Uma prova em branco foi realizada nas mesmas condições descritas para amostra. Os resultados foram calculados pela equação:

$$\text{IP (meq/kg)} = [(V_a - V_b) \cdot N \cdot f] \cdot 1000 / P_a \quad ,$$

Em que:  $V_a$ , nº de mL da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gasto na titulação da amostra,  $V_b$ , nº de mL da solução de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  gasto na titulação do branco, N, normalidade da solução de

Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, f, fator da solução de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, P<sub>a</sub>, n° de g da amostra. Os resultados foram expressos em meq/kg.

## **2.6 Análise estatística**

Os programas ASSISTAT versão 7.7 e Statistic 7.0 (Stat Inc, Minneapolis, USA) foram utilizados para analisar os dados experimentais. A influência dos aditivos do jucá (variáveis independentes) foi analisada pelo Gráfico Pareto, ANOVA e Teste de Tukey, ao nível de 95% de significância.

## **3. Resultados e Discussão**

### **3.1 Avaliação *in vitro* dos antioxidantes**

Na Tabela 2 estão expressos os valores de compostos fenólicos totais, monitorados durante 90 dias, dos extratos do fruto e da casca do caule do jucá, utilizando dois diferentes solventes extratores. Houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ), na maioria dos pontos analisados.

Os extratos hidroalcoólicos do fruto e da casca do caule do jucá foram mais estáveis, com uma perda de 25% dos compostos fenólicos do extrato do fruto e 20% para o extrato da casca do caule do jucá, em relação ao início do período de monitoramento.

Para os extratos aquosos as perdas de compostos fenólicos foram maiores, aproximadamente 33% para o extrato do fruto e 35% para o extrato da casca do caule do jucá, durante o mesmo período.

**Tabela 2** - Teor de Compostos Fenólicos Totais (mgEAG/g) dos extratos de jucá.

Tempo	Extrato do Fruto		Extrato da Casca do Caule	
	Aquoso	Hidroalcoólico	Aquoso	Hidroalcoólico
<b>Dia 0</b>	205,04 ± 0,00 <sup>aC</sup>	221,71 ± 0,10 <sup>aB</sup>	204,38 ± 0,96 <sup>aC</sup>	225,43 ± 0,21 <sup>aA</sup>
<b>Dia 7</b>	204,38 ± 0,31 <sup>aB</sup>	212,17 ± 0,41 <sup>bA</sup>	200,82 ± 1,20 <sup>bC</sup>	212,54 ± 0,10 <sup>bA</sup>
<b>Dia 15</b>	192,22 ± 0,93 <sup>bC</sup>	210,06 ± 0,51 <sup>bA</sup>	190,96 ± 0,00 <sup>cC</sup>	198,99 ± 1,54 <sup>cB</sup>
<b>Dia 30</b>	178,39 ± 0,00 <sup>cD</sup>	198,85 ± 1,34 <sup>cA</sup>	190,54 ± 1,32 <sup>cC</sup>	196,16 ± 0,82 <sup>dB</sup>
<b>Dia 45</b>	176,86 ± 0,10 <sup>cD</sup>	192,44 ± 0,31 <sup>dB</sup>	187,05 ± 1,68 <sup>dC</sup>	195,79 ± 0,72 <sup>dA</sup>
<b>Dia 60</b>	143,44 ± 0,62 <sup>dD</sup>	172,42 ± 1,44 <sup>eB</sup>	166,67 ± 0,00 <sup>eC</sup>	190,48 ± 0,82 <sup>eA</sup>
<b>Dia 90</b>	137,10 ± 0,10 <sup>eC</sup>	166,59 ± 0,21 <sup>fB</sup>	131,84 ± 0,00 <sup>fD</sup>	179,55 ± 0,21 <sup>fA</sup>

\* Resultados expressos com média ± desvio-padrão (n=3).

\*\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05), com letras minúsculas para análise nas colunas e com letras maiúsculas para análise nas linhas. **Fonte:** Elaboração dos autores.

Não foi encontrada na literatura nenhuma pesquisa relacionando a redução do teor de compostos fenólicos com o tempo de armazenamento sob refrigeração (5°C), para efeito comparativo de comportamento. No entanto, foram encontradas algumas pesquisas quantificando o teor de compostos fenólicos em diferentes solventes extrativos sem especificar o tempo de armazenamento, com valores diferentes aos encontrados. Esta diferença entre as pesquisas é justificada por Alcântra et al. (2019) e Ferreira & Soares (2015) como sendo devido à complexidade de extração dos compostos vegetais, estação climática, região de cultivo, entre outros fatores.

Os resultados da análise da atividade antioxidante pelo método sequestrador de radical livre DPPH para os extratos do jucá monitorados por 90 dias estão na Tabela 3.

**Tabela 3** - Atividade antioxidante pelo método sequestrador de radical DPPH (molTrolox/g).

Tempo	Extrato do Fruto		Extrato da Casca do Caule	
	Aquoso	Hidroalcoólico	Aquoso	Hidroalcoólico
<b>Dia 0</b>	2,27 ± 0,01 <sup>aC</sup>	2,91 ± 0,01 <sup>aA</sup>	2,26 ± 0,05 <sup>aC</sup>	2,80 ± 0,07 <sup>aB</sup>
<b>Dia 7</b>	2,19 ± 0,00 <sup>bC</sup>	2,69 ± 0,00 <sup>bA</sup>	2,21 ± 0,02 <sup>aC</sup>	2,55 ± 0,03 <sup>bB</sup>
<b>Dia 15</b>	2,15 ± 0,01 <sup>bcB</sup>	2,65 ± 0,01 <sup>bA</sup>	2,10 ± 0,00 <sup>bBC</sup>	2,07 ± 0,01 <sup>cC</sup>
<b>Dia 30</b>	2,08 ± 0,00 <sup>cdB</sup>	2,50 ± 0,01 <sup>cA</sup>	1,99 ± 0,00 <sup>cC</sup>	2,03 ± 0,01 <sup>cdBC</sup>
<b>Dia 45</b>	2,04 ± 0,00 <sup>deB</sup>	2,46 ± 0,01 <sup>cA</sup>	1,94 ± 0,01 <sup>cdC</sup>	2,00 ± 0,00 <sup>deBC</sup>
<b>Dia 60</b>	1,97 ± 0,01 <sup>eBC</sup>	2,26 ± 0,01 <sup>dA</sup>	1,91 ± 0,03 <sup>dC</sup>	1,97 ± 0,00 <sup>deB</sup>
<b>Dia 90</b>	1,63 ± 0,04 <sup>fB</sup>	1,92 ± 0,00 <sup>eA</sup>	1,04 ± 0,01 <sup>eC</sup>	1,96 ± 0,00 <sup>eA</sup>

\* Resultados expressos com média ± desvio-padrão (n=3).

\*\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05), com letras minúsculas para análise nas colunas e com letras maiúsculas para análise nas linhas. **Fonte:** Elaboração dos autores.

A atividade antioxidante medida neste método, quando trabalhada com padrão Trolox viabiliza definir quão eficazes são os extratos em relação a vitamina E. O extrato aquoso da casca do caule apresentou perda significativamente maior da atividade antioxidante, de aproximadamente 54%, quando comparado os valores dos dias 0 e 90. Mostrando que os extratos hidroalcoólicos são mais estáveis nestas condições de tempo e temperatura.

Segundo Costa et al. (2013) comparar na literatura o potencial antioxidante pelo método de sequestrador de radical livre DPPH em diferentes extratos é praticamente impossível, por serem expressos de diversas formas e pelo motivo de que não existe um sistema de extração padrão para isolar todos os antioxidantes naturais ou a classe específica desejada.

Na Tabela 4 estão os resultados da análise da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP) para os extratos do jucá monitorados por 90 dias. A análise de redução do ferro avalia o potencial antioxidante da amostra conforme a capacidade de reduzir o  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , denotada pela produção do complexo com coloração azul intenso. Observou-se ao longo do monitoramento que os extratos hidroalcoólicos do jucá apresentaram perda da atividade antioxidante significativamente menor, com valores de 36% para o extrato do fruto e 34% para o extrato da casca do caule, comparados aos extratos aquosos, nos dias 0 e 90.

**Tabela 4** - Atividade antioxidante pelo método de redução do ferro FRAP (mmol  $Fe_2SO_4/g$ ).

Tempo	Extrato do Fruto		Extrato da Casca do Caule	
	Aquoso	Hidroalcoólico	Aquoso	Hidroalcoólico
<b>Dia 0</b>	468,40 ± 0,37 <sup>aC</sup>	489,86 ± 0,15 <sup>aB</sup>	462,45 ± 0,28 <sup>aD</sup>	498,27 ± 1,41 <sup>aA</sup>
<b>Dia 7</b>	447,24 ± 0,03 <sup>bC</sup>	479,55 ± 0,71 <sup>bA</sup>	419,90 ± 1,67 <sup>bD</sup>	467,00 ± 0,56 <sup>bB</sup>
<b>Dia 15</b>	429,30 ± 0,03 <sup>cC</sup>	446,99 ± 0,36 <sup>cB</sup>	368,72 ± 1,19 <sup>cD</sup>	460,44 ± 1,21 <sup>cA</sup>
<b>Dia 30</b>	417,10 ± 0,00 <sup>dB</sup>	399,07 ± 1,30 <sup>dC</sup>	323,73 ± 2,38 <sup>dD</sup>	434,99 ± 1,47 <sup>dA</sup>
<b>Dia 45</b>	388,50 ± 0,73 <sup>eB</sup>	379,31 ± 0,06 <sup>eC</sup>	310,84 ± 0,08 <sup>eD</sup>	414,64 ± 0,57 <sup>eA</sup>
<b>Dia 60</b>	326,49 ± 0,57 <sup>fB</sup>	327,82 ± 0,51 <sup>fB</sup>	300,05 ± 0,40 <sup>fC</sup>	399,10 ± 1,31 <sup>fA</sup>
<b>Dia 90</b>	291,25 ± 0,49 <sup>gC</sup>	313,17 ± 1,58 <sup>gB</sup>	200,90 ± 0,32 <sup>gD</sup>	329,30 ± 0,93 <sup>gA</sup>

\* Resultados expressos com média ± desvio-padrão (n=3).

\*\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), com letras minúsculas para análise nas colunas e com letras maiúsculas para análise nas linhas. **Fonte:** Elaboração dos autores.

Diante destes resultados, observou-se que o tipo de solvente, a parte da planta, o processo de extração e o tempo de armazenamento influenciaram na estabilidade dos extratos. No entanto, os extratos hidroalcoólicos do fruto e da casca do caule do jucá apresentaram os melhores resultados quantitativos e maior estabilidade quanto à degradação dos compostos

fenólicos totais e atividade antioxidante, durante 90 dias de monitoramento. Por isto, foram selecionados para investigação de outros parâmetros físico-químicos, a fim utilizá-los como bioaditivo em óleo de soja, possibilitando a análise *in vivo* destes antioxidantes.

### 3.2 Parâmetros físico-químicos dos extratos hidroalcoólicos do jucá

Os resultados das análises de umidade, atividade de água e pH dos extratos hidroalcoólicos do fruto e da casca do caule do jucá estão na Tabela 5.

**Tabela 5** - Análises da água livre e pH dos extratos hidroalcoólicos do jucá.

Análises	Umidade (%)	Atividade de Água (25°C)	pH (25°C)
<b>Extrato do Fruto</b>	90,79 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>	3,86 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>Extrato da Casca do Caule</b>	92,69 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,00 <sup>a</sup>	4,51 ± 0,05 <sup>a</sup>

\* Resultados expressos com média ± desvio-padrão (n=3).

\*\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), com letras minúsculas para análise nas colunas e com letras maiúsculas para análise nas linhas. **Fonte:** Elaboração dos autores.

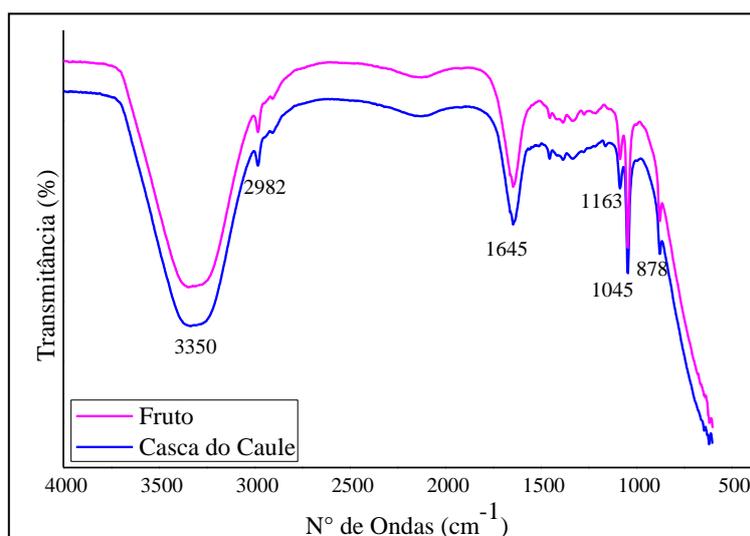
A elevada umidade encontrada nos extratos hidroalcoólicos, acima de 90%, também foram observadas por Carvalho et al. (2011) ao analisar extratos aquosos de diferentes tipos de arroz, com valores acima de 92%, e por Costa et al. (2013) ao analisar extratos da casca do caule de Noni (*Morinda citrifolia* Linn.), com valor de 86,49% de umidade.

Com relação à atividade de água foram encontrados valores próximos a 1 para as duas partes botânicas estudadas do jucá, mostrando que os extratos hidroalcoólicos podem ser instáveis ao desenvolvimento de microrganismos. Além disto, também são susceptíveis as alterações químicas, físicas ou enzimáticas, devido ao seu elevado valor. No entanto, o potencial hidrogeniônico (pH) do extrato hidroalcoólico do fruto do jucá mostrou-se muito ácido, enquanto que o extrato da casca do caule do jucá é pouco ácido.

Alguns estudos tem confirmado a ação antimicrobiana de compostos bioativos extraídos do jucá. Costa, Guilhon-Simplicio, & Souza (2015), Kobayashi et al. (2015), e Nascimento et al. (2015), ao estudarem diferentes partes da planta do jucá com solventes extrativos de diferentes polaridades, encontraram elevado teor de compostos fenólicos neste vegetal e atribuíram a este fato, a elevada atividade antimicrobiana do jucá.

Na Figura 1, estão representados os espectros da análise de FTIR-ATR dos extratos hidroalcoólicos da casca do caule e do fruto do jucá, com comportamento muito semelhante entre as bandas largas e fortes de ambas as amostras.

**Figura 1** – Espectros do FTIR-ATR dos extratos hidroalcoólicos do fruto e da casca do jucá.



**Fonte:** Elaboração dos autores.

Nos espectros de infravermelho dos extratos hidroalcoólicos foram observadas bandas largas e fortes na região de  $3350\text{ cm}^{-1}$  devido ao estiramento vibracional do grupo  $\text{-OH}$  de álcool, fenol ou água, sendo uma característica dos solventes extrativos e do vegetal. Os compostos fenólicos possuem uma ou mais hidroxilas ligadas ao benzeno, sendo a estrutura do fenol a base para todos os compostos fenólicos.

As bandas  $2982$  e  $2900\text{ cm}^{-1}$  de menor intensidade podem se referir as hidroxilas de ácidos carboxílicos e ao estiramento C-H da carbonila esterificada com açúcar e ao grupo aldeído. A banda forte na região de  $1645\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao estiramento C=O de compostos ácidos, como apresentado na análise de pH das amostras.

As bandas  $1558$ ,  $1535$  e  $1510\text{ cm}^{-1}$  de baixa intensidade foram observadas apenas no extrato hidroalcoólico do fruto, correspondendo ao dobramento N-H das amidas primárias e secundárias, onde isto se deve a análise do fruto integral, contendo a vagem e a semente, rica nestes compostos.

As bandas vibracionais  $1452$ ,  $1416$  e  $1385\text{ cm}^{-1}$  de dobramento  $\text{CH}_3$  foram observadas em ambos os extratos analisados com baixa intensidade, e também observadas por Dias et al. (2013) ao analisar extrato do fruto do jucá.

A banda vibracional na região de  $1331\text{ cm}^{-1}$  do grupo C-N das aminas também foi observada nas amostras. As bandas observadas de  $1271$  a  $1045\text{ cm}^{-1}$ , são estiramentos vibracionais do grupo C-O dos álcoois presente no solvente extrator, ésteres e ácidos carboxílicos.

A banda 1163 é de grupo C-O do anel piranosídico das amostras. As bandas em 995 e 878  $\text{cm}^{-1}$  são relacionadas a ligações anoméricas dos grupos D-manopiranoses e D-galactopiranoses, respectivamente, adequadas ao ciclo piranosídico também identificadas por Cunha, et al. (2017).

Os espectros FTIR demonstraram que os extratos possuem diversos compostos orgânicos redutores, capazes de sequestrar radicais livres e reduzir compostos, como os compostos fenólicos, terpenóides, esteróides e ácidos carboxílicos, representados nas bandas largas e fortes. Estes resultados estão alinhados com as análises *in vitro*, onde os extratos hidroalcoólicos do jucá apresentaram alto teor de compostos fenólico e elevada atividade antioxidante pelos métodos sequestrador de radical livre DPPH e redutor de ferro.

### 3.3 Avaliação *in vivo* dos antioxidantes

As 11 formulações de óleo de soja aditivado com extratos hidroalcoólicos do jucá foram analisados quanto ao índice de peróxido ao longo de 90 dias e os resultados estão expressos na Tabela 6. Houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as formulações e o controle, e também com o tempo de armazenamento. Os óleos bioaditivados apresentaram um menor aumento no índice de peróxido quando comparados ao controle (óleo sem o bioaditivo), indicando a eficácia dos extratos como aditivos antioxidantes.

**Tabela 6** - Índice peróxido presente no óleo de soja, em meq/kg.

Formulações (%Fruto - %Casca)	30 dias	45 dias	60 dias	90 dias
<b>C1</b> (0,00%-0,00%)	5,00 ± 1,41 <sup>aD</sup>	13,50 ± 1,05 <sup>aC</sup>	18,65 ± 0,57 <sup>aB</sup>	27,30 ± 0,63 <sup>aA</sup>
<b>F1</b> (0,15%-0,15%)	4,80 ± 0,57 <sup>aD</sup>	9,06 ± 0,90 <sup>bC</sup>	11,53 ± 0,56 <sup>bB</sup>	14,88 ± 0,30 <sup>cA</sup>
<b>F2</b> (0,15%-0,85%)	2,00 ± 0,00 <sup>bcC</sup>	7,57 ± 0,91 <sup>bcB</sup>	8,72 ± 1,12 <sup>cAB</sup>	9,89 ± 0,57 <sup>eA</sup>
<b>F3</b> (0,85%-0,15%)	1,60 ± 0,00 <sup>bcC</sup>	3,24 ± 0,41 <sup>eBC</sup>	3,77 ± 0,26 <sup>eB</sup>	8,91 ± 0,23 <sup>eA</sup>
<b>F4</b> (0,85%-0,85%)	1,40 ± 0,28 <sup>cC</sup>	3,86 ± 0,08 <sup>deB</sup>	5,57 ± 0,01 <sup>deAB</sup>	6,25 ± 0,74 <sup>fA</sup>
<b>F5</b> (0,00%-0,50%)	2,20 ± 0,28 <sup>bcD</sup>	11,45 ± 1,13 <sup>aC</sup>	17,11 ± 0,54 <sup>aB</sup>	19,30 ± 0,61 <sup>bA</sup>
<b>F6</b> (1,00%-0,50%)	3,80 ± 0,28 <sup>abB</sup>	4,25 ± 0,04 <sup>deB</sup>	5,38 ± 0,29 <sup>deB</sup>	9,64 ± 1,63 <sup>eA</sup>
<b>F7</b> (0,50%-0,00%)	3,00 ± 0,28 <sup>abcC</sup>	5,33 ± 0,53 <sup>cdeB</sup>	6,76 ± 0,51 <sup>cdB</sup>	13,98 ± 0,27 <sup>cdA</sup>
<b>F8</b> (0,50%-1,00%)	2,80 ± 0,57 <sup>abcC</sup>	4,65 ± 0,53 <sup>deB</sup>	5,93 ± 1,18 <sup>deB</sup>	9,12 ± 1,62 <sup>eA</sup>
<b>F9</b> (0,50%-0,50%)	3,40 ± 0,28 <sup>abcC</sup>	5,66 ± 0,20 <sup>cdB</sup>	6,93 ± 0,30 <sup>cdB</sup>	12,63 ± 0,60 <sup>dA</sup>
<b>F10</b> (0,50%-0,50%)	3,20 ± 0,00 <sup>abcC</sup>	6,04 ± 0,21 <sup>cdB</sup>	7,16 ± 0,01 <sup>cdB</sup>	13,61 ± 0,29 <sup>cdA</sup>
<b>F11</b> (0,50%-0,50%)	3,80 ± 0,85 <sup>abC</sup>	5,77 ± 0,07 <sup>cdB</sup>	7,35 ± 0,24 <sup>cdB</sup>	13,08 ± 0,29 <sup>cdA</sup>

\*Resultados expressos com média ± desvio-padrão (n=3).

\*\*As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ), com letras minúsculas para análise nas colunas e com letras maiúsculas para análise nas linhas. **Fonte:** Elaboração dos autores.

Comparando o óleo sem aditivo (C1) com as formulações, em 45 dias de monitoramento, óleo sem aditivo (13,50 meq/kg) já apresentava índice de peróxido acima do recomendado pela legislação brasileira vigente, que é de até 10meq/kg (BRASIL - Ministério da Saúde, 2005). Enquanto que, entre as formulações, apenas a formulação F5 (11,45meq/kg), contendo somente o extrato da casca do caule do jucá apresentou valor superior ao recomendado pela legislação.

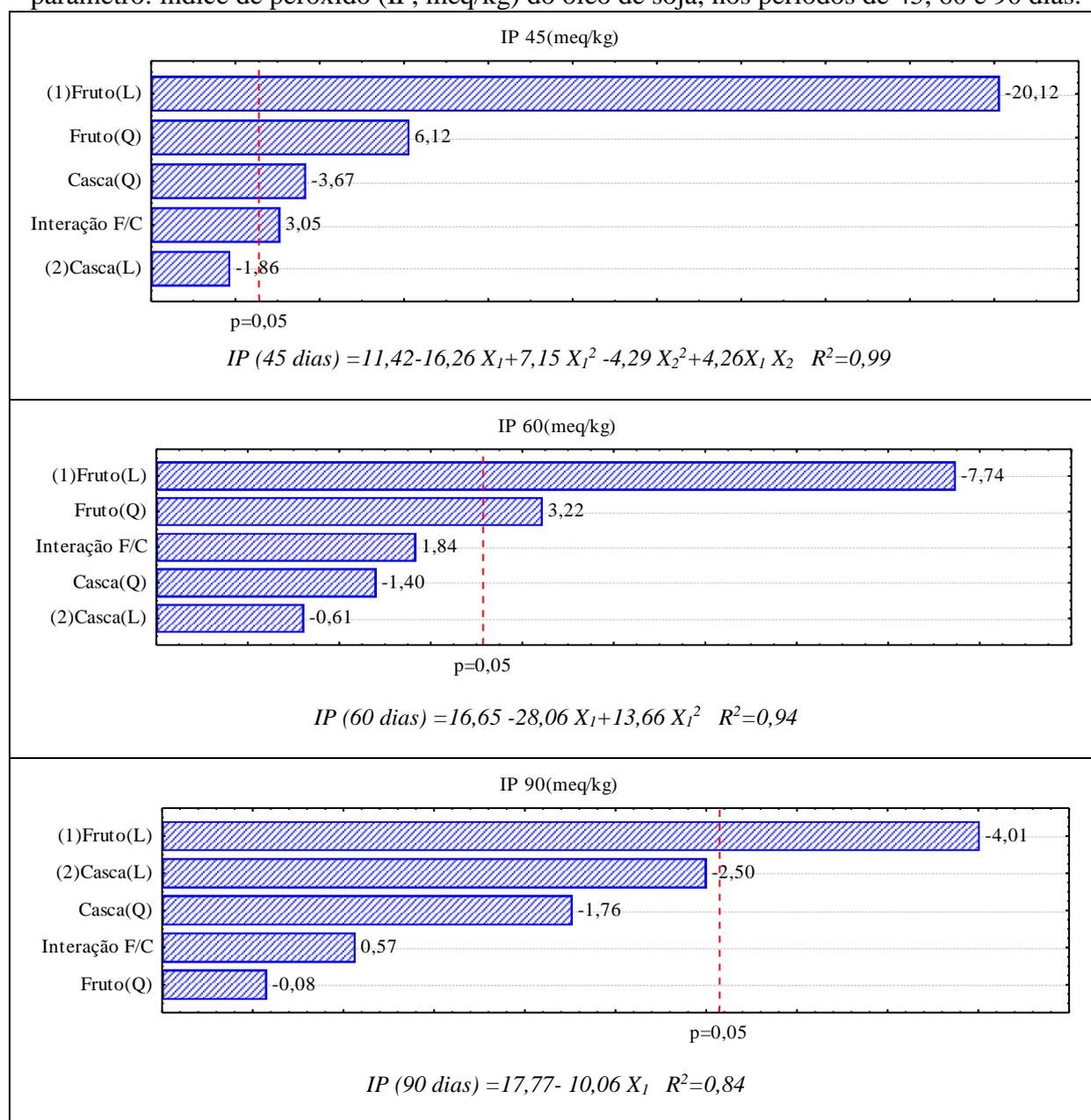
Nos primeiros 60 dias de monitoramento, o aumento do índice de peróxido foi pouco significativo na mesma formulação. No entanto, com 90 dias de monitoramento apenas as formulações F2, F3, F4, F6 e F8 ficaram dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira. Este aumento do índice de peróxido pode ter ocorrido devido à aplicação direta dos aditivos naturais ao óleo de soja, onde foi perceptível a falta de homogeneidade das amostras devido à diferença de polaridade dos extratos e do óleo de soja, fazendo com que os bioaditivos não ficassem totalmente miscíveis no óleo de soja.

Na Figura 2 estão os gráficos Pareto e as equações polinomiais de segunda ordem, que representam a equação do modelo para os resultados das análises de índice de peróxido do óleo de soja bioaditivado (IP, meq/kg), nos períodos de 45, 60 e 90 dias de monitoramento. Na equação do modelo, ( $X_1$ , %) representa o extrato hidroalcoólico do fruto do jucá, ( $X_2$ , %) é o extrato hidroalcoólico da casca do caule do jucá, ( $X_1X_2$ , %) é a interação entre os extratos hidroalcoólicos do fruto e da casca do caule do jucá, e ( $R^2$ ) é o coeficiente de correlação.

O gráfico Pareto dos 45 dias de monitoramento indicou que tanto o extrato do fruto quanto da casca do caule do jucá teve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) na proteção do óleo, e que os extratos atuaram como antioxidantes eficazes, retardando as reações de oxidação. A análise de Pareto indicou que o uso simultâneo do extrato do fruto e da casca do caule do jucá resultou em um efeito sinérgico, reduzindo a formação de peróxido no óleo aditivado, como visto na formulação (F4) com 0,85% de ambos os extratos hidroalcoólicos do jucá.

Porém, pelos gráficos Pareto e as equações polinomiais nos períodos de 60 e 90 dias, apenas o extrato hidroalcoólico do fruto teve efeito significativo. Como visto, na formulação (F5) contendo apenas o extrato da casca do caule do jucá e na formulação (F7) contendo apenas o extrato do fruto do jucá, onde com 60 dias de monitoramento a formulação F5 (17,11meq/kg) já apresentava um elevado índice de peróxido enquanto que a formulação F7 (6,76meq/kg) atendia a legislação brasileira.

**Figura 2** – Gráfico Pareto e Equação polinomial com o coeficiente de correlação ( $R^2$ ) para o parâmetro: índice de peróxido (IP, meq/kg) do óleo de soja, nos períodos de 45, 60 e 90 dias.



**Fonte:** Elaboração dos autores.

#### 4. Considerações Finais

Concluiu-se que o objetivo da pesquisa foi alcançado completamente, uma vez que o vegetal estudado, o jucá, apresentou elevado teor de compostos fenólicos e significativa atividade antioxidante por meio das análises *in vitro* e *in vivo*.

O fruto e a casca do caule do jucá se mostraram viáveis para extração de compostos bioativos com solventes de diferentes polaridades, como água e etanol. Os extratos hidroalcoólicos do jucá foram mais eficientes na extração de compostos fenólicos, com elevada atividade antioxidante e mais estável para armazenamento sob refrigeração. A aplicação dos extratos no óleo, também confirmou a eficácia do jucá como antioxidantes. A amostra bioaditivada, com 0,85% de extrato hidroalcoólico do fruto e 0,85% de extrato hidroalcoólico da casca do caule do jucá, deram uma maior proteção ao óleo de soja, retardando as reações de oxidação.

Portanto, os extratos estudados podem ser utilizados como aditivo natural, com função antioxidante, para estabilizar o óleo de soja, retardando as reações de oxidação e prolongando sua vida útil. Sendo recomendado novas pesquisas sobre a aplicação destes bioaditivos na forma de nanocápsula, encapsulando o extrato hidroalcoólico do jucá, para melhorar a incorporação dos compostos ativos em matrizes oleaginosas. Bem como, recomenda-se a aplicação destes bioaditivos em diferentes tipos de óleo e azeite.

### **Agradecimentos**

Os autores gostariam de agradecer a CAPES pelo suporte financeiro e pela bolsa de estudos. As universidades federais envolvidas nesta pesquisa pela disponibilidade dos equipamentos e estrutura laboratorial para execução do projeto. A empresa Cargill Agrícola SA pela doação do óleo de soja sem aditivo.

### **Referências**

Alcântara M. A, Polari I. L. B, Meireles B. R. L. A, Lima A. E. A, Silva Jr J. C, Vieira É. A & Cordeiro A. M. T. M. (2019). Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. *Food Chemistry*, 275, 489–96.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.133>

American Oil Chemists Society. (1990). AOCs Cd 8-53 - Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society. Champaign:AOCS.

Association of Official Analytical Chemists. (1995). AOAC 920.39,C - Official methods of

analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Arlington: AOAC.

Barros, A. O, Souza, R. S, Aranha, E. S. P, Costa, L. M, Souza, T. P, Vasconcellos, M. C, & Lima, E. S. (2014). Antioxidant and hepatoprotective activities of *Libidibia ferrea* bark and fruit extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(11), 1–6.

Brand-Williams, W, Cuvelier, M. E, & Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

BRASIL - Ministério da Saúde. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 270, de 22 de Setembro de 2005. Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal, Diário Oficial da União N° 184 § (2005). Brasília, Brasil.

[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270\\_22\\_09\\_2005.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html)

Carvalho, W. T, Reis, RC, Velasco, P, Soares Júnior, M. S, Bassinello, P. Z, & Caliar, M. (2011). Características Físico-Químicas De Extratos De Arroz Integral, Quirera De Arroz E Soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 41(3), 422–429.

<https://doi.org/10.5216/pat.v41i3.9885>

Cecília, M, Vasconcelos, E, & Souza, V. R. (2018). Fruits from the Brazilian Cerrado Region: physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 245(1), 305–311.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.104>

Costa, A. B, Oliveira, A. M. C, Silva, A. M. E, Mancini-Filho, J. L, & Lima, A. (2013). Atividade antioxidante da polpa, casca e sementes do Noni (*Morinda citrifolia* Linn). *Rev. Bras. Frutic*, 35 (2), 345–354.

Costa, L. M, Guilhon-Simplicio, F, & Souza, T. P. (2015). *Libidibia ferrea* (Mart. Ex tul) L. P. Queiroz var. *Ferrea*: Pharmacological, phytochemical and botanical aspects. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 48–53.

<https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5706>

Cunha, A. P, Ribeiro, A. C. B, Ricardo, N. M. P. S, Oliveira, A. C, Dávila, L. S. P, Cardoso, J. H. L, Ricardo, N. M. P. S. (2017). Polysaccharides from *Caesalpinia ferrea* seeds – Chemical characterization and anti-diabetic effects in Wistar rats. *Food Hydrocolloids*, 65, 68–76. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.039>

Dias, A. M. A, Rey-Rico, A, Oliveira, R. A, Marceneiro, S, Alvarez-Lorenzo, C, Concheiro, A, Sousa, HC. (2013). Wound dressings loaded with an anti-inflammatory jucá (*Libidibia ferrea*) extract using supercritical carbon dioxide technology. *Journal of Supercritical Fluids*, 74, 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2012.12.007>

Ferreira, M. R. A, & Soares, L. A. L. (2015). *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz: A review of the biological activities and phytochemical composition. *Journal of Medicinal Plants Research*, 9(2), 140–150. <https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5706>

Kobayashi, Y. T. S, Almeida, VT, Bandeira, T, Alcântara, BN, Silva, ASB, Barbosa, WLR, Almeida, MB. (2015). Avaliação fitoquímica e potencial cicatrizante do extrato etanólico dos frutos de Jucá (*Libidibia ferrea*) em ratos Wistar. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 52(1), 34–40.

Nascimento, P, Silva, T, Gomes, J, Silva, M, Souza, S, Falcão, R, Moreira, K. (2015). Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extract of *Libidibia ferrea* pods. *Revista Fitos*, 9(3), 207–216. <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20150017>

Ng, K R, Lyu, X, Mark, R, & Chen, W. N. (2019). Antimicrobial and antioxidant activities of phenolic metabolites from flavonoid-producing yeast : Potential as natural food preservatives. *Food Chemistry*, 270(1), 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.077>

Pereira, A. S, Shitsuka, D. M, Parreira, F. J & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: [https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic\\_Computacao\\_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1](https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1).

Rossi, J. A. J, & Singleton, V. L. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.

Rufino M. S. M, Alves R; E, Brito E. S, Morais S. M, Sampaio. D. G, Pérez-Jiménez J & Saura-Calixto F. D. (2006). Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP) *Comunicado Técnico 125 - Embrapa*. ISSN 1679-6535

Silva, H. R, Costa, R. H. F, Neto, J. C. P, Júnior, C. A. A. M, Coutinho, I. V. L, Macêdo, L. O, Pessoa, GT. (2020). Analysis of the effects of supplementation of certain antioxidants on adjuvative cancer treatment. *Research, Society and Development*, 9(2), 1–13.

Soares, J. A, Barros, M, Gonzalez, W. P, Crisci, A. R, & Jorge, M. H. S. (2013). Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia férrea ex. TUL. var ferrea* e da *Aloe vera (L.) Burm. f.* em lesões cutâneas totais em ratos. *Biologia e Saúde*, 11(3), 33–42.

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Cristiani Viegas Brandão Grisi – 40%

Angela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro -10%

Malanna Kauanne Gomes do Nascimento – 10%

Simone Alves Monteiro da Franca -10%

Sulamita Moreira Maia Freire -10%

Carolina Lima Cavalcanti de Albuquerque -5%

Adriano da Silva Marques -5%

Gilmar Trindade de Araújo-10%