

Obtenção e caracterização de farinha das folhas de ora-pro-nóbis

Obtaining and characterization of ora-pro-nóbis leaf flour

Obtención y caracterización de harina de las hojas de ora-pro-nóbis

Recebido: 20/08/2025 | Revisado: 28/08/2025 | Aceitado: 29/08/2025 | Publicado: 30/08/2025

Heloísa Peraçoli Bonini

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6841-4638>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: heloisaperaboni@gmail.com

Kamyla Luara Tauchert

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7100-5485>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: kamyla.luara@outlook.com

Larissa Gabrielly Ribeiro

ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-2264-4290>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: laryssagabriellyribeiro@gmail.com

Beatriz Ribeiro Zancanaro

ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1160-9201>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: biabeatrizzancanaro@gmail.com

Camilla Adriane Gonçalves

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1192-8918>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: camillaadrianegonsalves@gmail.com

Rafael Vogel Greggianin

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5069-0302>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: rafaelvogel52@gmail.com

Letycia Lopes Ricardo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5862-7768>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: letycia.ricardo@bpk.edu.com.br

Kelly Cristina Massarolo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6834-1771>

Faculdade Donaduzzi, Brasil

E-mail: kelly.massarolo@bpk.edu.com.br

Resumo

A ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) é uma planta medicinal com elevado potencial nutritivo e significativa relevância para pesquisas científicas devido à sua rica composição. Este trabalho teve como objetivo obter e caracterizar a farinha das folhas de ora-pro-nóbis. Para isso, as folhas foram submetidas a branqueamento, secagem e Trituração. A farinha obtida foi então caracterizada quanto ao teor de ácido oxálico, proteínas e à sua qualidade microbiológica. Para avaliar os compostos bioativos, extratos da farinha e suas frações foram analisados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), seguida da quantificação de compostos fenólicos. Adicionalmente, avaliou-se o efeito do extrato de ora-pro-nóbis na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em linfócitos e a atividade antimicrobiana dos extratos. Os resultados mostraram que o processo de branqueamento reduziu o teor de ácido oxálico em 39%. Confirmou-se o alto teor de proteínas na farinha (aproximadamente 20,04%), além da presença de terpenos, flavonoides, alcaloides e substâncias insaturadas. O extrato de acetato de etila apresentou 115,02 mg de compostos fenólicos por grama de extrato, porém não foram observadas alterações significativas na atividade da enzima AChE em linfócitos. Por outro lado, esse extrato demonstrou ação antimicrobiana contra *Escherichia coli*, além disso, a farinha foi considerada segura para o consumo. Conclui-se que a farinha de ora-pro-nóbis representa uma alternativa viável para inclusão na dieta devido aos seus múltiplos benefícios nutricionais e bioativos.

Palavras-chave: Folhas de plantas; Compostos fenólicos; Caracterização de alimentos; Farinha nutricional; *Pereskia aculeata miller*.

Abstract

Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) is a medicinal plant with high nutritional potential and significant relevance for scientific research due to its rich composition. This study aimed to obtain and characterize the flour made from *ora-pro-nóbis* leaves. For this purpose, the leaves were subjected to blanching, drying, and grinding. The resulting flour was then characterized in terms of oxalic acid content, protein content, and microbiological quality. To evaluate the bioactive compounds, extracts of the flour and their fractions were analyzed using Thin Layer Chromatography (TLC), followed by the quantification of phenolic compounds. Additionally, the effect of the *ora-pro-nóbis* extract on the activity of the enzyme acetylcholinesterase (AChE) in lymphocytes and the antimicrobial activity of the extracts were evaluated. The results showed that the blanching process reduced the oxalic acid content by 39%. A high protein content was confirmed in the flour (approximately 20.04%), along with the presence of terpenes, flavonoids, alkaloids, and unsaturated substances. The ethyl acetate extract contained 115.02 mg of phenolic compounds per gram of extract; however, no significant changes were observed in AChE activity in lymphocytes. On the other hand, this extract demonstrated antimicrobial activity against *Escherichia coli*. Moreover, the flour was considered safe for consumption. It is concluded that *ora-pro-nóbis* flour represents a viable dietary alternative due to its multiple nutritional and bioactive benefits.

Keywords: Plant leaves; Phenolic compounds; Food characterization; Nutritional flour; *Pereskia aculeata* Miller.

Resumen

La ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) es una planta medicinal con elevado potencial nutritivo y significativa relevancia para investigaciones científicas debido a su rica composición. Este trabajo tuvo como objetivo obtener y caracterizar la harina de las hojas de ora-pro-nóbis. Para ello, las hojas fueron sometidas a blanqueamiento, secado y trituración. La harina obtenida fue caracterizada en cuanto al contenido de ácido oxálico, proteínas y a su calidad microbiológica. Para evaluar los compuestos bioactivos, extractos de la harina y sus fracciones fueron analizados por Cromatografía en Capa Fina (CCF), seguida de la cuantificación de compuestos fenólicos. Además, se evaluó el efecto del extracto de ora-pro-nóbis sobre la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en linfocitos y la actividad antimicrobiana de los extractos. Los resultados mostraron que el proceso de blanqueamiento redujo el contenido de ácido oxálico en un 39%. Se confirmó el alto contenido de proteínas en la harina (aproximadamente 20,04%), además de la presencia de terpenos, flavonoides, alcaloides y sustancias insaturadas. El extracto de acetato de etilo presentó 115,02 mg de compuestos fenólicos por gramo de extracto, sin embargo, no se observaron alteraciones significativas en la actividad de la enzima AChE en linfocitos. Por otro lado, dicho extracto demostró acción antimicrobiana contra *Escherichia coli*, además, la harina fue considerada segura para el consumo. Se concluye que la harina de ora-pro-nóbis representa una alternativa viable para su inclusión en la dieta debido a sus múltiples beneficios nutricionales y bioactivos.

Palabras clave: Hojas de plantas; Compuestos fenólicos; Caracterización de alimentos; Harina nutricional; *Pereskia aculeata* Miller.

1. Introdução

O consumo de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) é uma excelente alternativa de fonte de nutrientes para a saúde humana. Isso ocorre devido à acentuada diminuição na diversidade de plantas consumidas ao longo dos anos, com a ingestão global de poucas espécies, o que restringe a absorção de calorias a três cereais fundamentais: milho, arroz e trigo (Sousa et al., 2021). Assim, a utilização das PANCs está crescendo, particularmente quando utilizadas como ingredientes no desenvolvimento de novos produtos.

A ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) é uma planta alimentícia não convencional (PANC), frequentemente negligenciada pela população devido à falta de conhecimento sobre seu valor nutricional. Contudo, essa hortaliça tem folhas que podem ser consumidas e pode ser empregada em várias preparações, incluindo farinhas, saladas, refogados, tortas e massas culinárias (Cazagrande et al., 2022; Rocha et al., 2009). Ela é uma rica fonte de fibras, ferro, cálcio e vitaminas A, B e C, bem como possui uma elevada concentração de proteínas (Teixeira et al., 2023; Fernandes et al., 2018). Além dos nutrientes, as folhas de ora-pro-nóbis também apresentam alguns compostos bioativos, os quais, dependendo da concentração, podem ser benéficos à saúde (Laverde et al., 2022). Estudos recentes documentaram efeitos biológicos desses compostos, especialmente em extratos orgânicos. No campo da farmacognosia, essas moléculas fitoquímicas são classificadas em diferentes categorias, a exemplo dos terpenos, alcaloides e flavonoides, que são substâncias comumente encontradas nas folhas de ora-pro-nóbis (Da

Silva Ortiz et al., 2023). A alta concentração desses compostos na planta confere a ela propriedades biológicas vantajosas para o organismo, como a ação antioxidante, a atividade antimicrobiana (Garcia et al., 2019), atividade cicatrizante e potencial anti-inflamatório (E Silva et al., 2024; Pinto et al., 2006) e sua síntese depende de fatores relacionados ao ambiente e às condições em que são submetidos (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Nesse sentido, a enzima acetilcolinesterase (AChE) é um componente essencial do sistema colinérgico. Presente em todos os neurônios colinérgicos como uma enzima ligada à membrana, a AChE desempenha um papel fundamental na regulação de eventos fisiológicos sinalizados pelo neurotransmissor acetilcolina (Mesulam, 2002). Além disso, a AChE está envolvida em diversas funções no neurotransmissor colinérgico, incluindo adesão celular (Johonson, 1999), extensão de neuritos (Layer, 1993) e na regulação estrutural da diferenciação pós-sináptica (Fujii et al., 2017; Soreq, 2001). A enzima também é encontrada em eritrócitos e linfócitos, onde provavelmente atua na hematopoiiese e na modulação de funções imunológicas (Kawashima, 2003). O sistema colinérgico nos linfócitos, independente dos neurônios colinérgicos, regula a função dos linfócitos em conjunto com o sistema de citocinas (Fujii, 2017). Além disso, ACh atua inibindo a produção de TNF, IL-1, MIF e HMGB1 e suprime a ativação da expressão de NF-κB, e aumenta a produção de eNO (Borovikova, 2000).

Atualmente, há um interesse crescente em encontrar alternativas alimentares que sejam ricas em proteínas, não apenas de origem animal, mas também de origem vegetal. Pesquisas indicam que a ora-pro-nóbis, possui aproximadamente 20% de proteína, o que é considerado um valor atrativo para a produção de farinha, no qual poderia ser utilizada como um ingrediente no mercado alimentício (Santos et al., 2022). Em contrapartida, as folhas de ora-pro-nóbis também apresentam elevados teores de ácido oxálico, substância considerada um fator antinutricional, pelo fato de se acumular na forma de cristais de oxalato, os quais podem ser encontrados em quantidades que chegam a até 80% do peso seco das plantas (Silva, et al., 2021). Portanto, ao produzir farinha a partir dessas folhas, é recomendável que se realize um processo para reduzir ou remover o ácido oxálico presente, a fim de tornar a farinha mais segura e saudável para o consumo (Huynh; Nguyen & Nguyen, 2022; Hartman et al., 1991).

Um dos maiores desafios enfrentados pelas indústrias farmacêuticas e alimentícias é a presença de altos teores de ácido oxálico na ora-pro-nóbis. Esse composto, quando consumido em excesso, pode causar danos à saúde (Kumar et al., 2023; Almeida et al., 2014), atuando como um potente inibidor da absorção de cálcio, este, ao combinar-se com o ácido oxálico, forma oxalato de cálcio, que é pouco solúvel na urina, e esse aumento de oxalato na urina aumenta o risco da formação de cálculos de oxalato de cálcio nos rins, causando assim, irritações na mucosa intestinal. Também pode se complexar com o ferro, formando assim, oxalato ferroso, que ao ser absorvido, torna o ferro indisponível para o organismo, e assim, sendo excretado na urina (Kumar et al., 2023; Oliveira et al., 2017).

O desafio é o desenvolvimento de farinha de OPN com redução do teor de antinutrientes, sem comprometer os benefícios dos compostos bioativos. Assim, o objetivo deste trabalho foi obter e caracterizar a farinha das folhas de ora-pro-nóbis.

2. Metodologia

Realizou-se uma pesquisa experimental, com coleta de material em campo e, investigação laboratorial e, de natureza qualitativa e quantitativa (Pereira et al., 2018) com uso de estatística descritiva simples com valores de média, desvio padrão e frequência relativa porcentual (Shitsuka et al., 2014).

2.1 Obtenção da farinha

As amostras de ora-pro-nóbis foram coletadas em propriedades rurais localizadas nas cidades de Quatro Pontes e

Toledo, Paraná. Após a coleta, as folhas foram levadas ao laboratório e sanitizadas com água corrente, imersas em solução de hipoclorito de sódio 0,001% durante 5 minutos e lavadas em água corrente novamente. Em seguida, parte das folhas foi submetida ao processo de branqueamento, sendo mergulhadas em água fervente por 5 minutos e, imediatamente após, inseridas em água gelada, para que então fossem dispostas sobre a bancada, objetivando a secagem superficial. Posteriormente, as amostras foram levadas à estufa com temperatura de 60 °C, por um período de 5 dias. Depois da obtenção do material vegetal seco, ocorreu a Trituração em moinho de facas, resultando assim na farinha de ora-pro-nóbis (Figura 1).

Figura 1 - Etapas para obtenção da farinha de ora-pro-nóbis.



Fonte: Autoria própria (2024)

2.2 Efeito do branqueamento no teor de ácido oxálico

A quantificação do teor de ácido oxálico foi determinada pelo método de oxidação do permanganato de potássio (Naik; Mahavidyalaya e Sindhudurg, 2014) com curva padrão de ácido oxálico (1,67 a 8,33 µg/mL). A extração do ácido oxálico, tanto das folhas branqueadas quanto das não branqueadas, foi realizada com HCl 0,25M e aquecimento em banho maria a 100 °C.

2.3 Determinação de proteínas da farinha

Para a dosagem de proteínas, foi utilizada a metodologia de Kjeldahl (ISO 8968-1, 2014) com fator de conversão de 6,25.

2.4 Qualidade microbiológica da farinha

Para verificar os padrões microbiológicos da farinha de ora-pro-nóbis foi avaliado a presença de bactérias Escherichia coli e Salmonella, conforme a IN Nº 161, de 1º de julho de 2022. O preparo da amostra de farinha foi realizado a partir de 2,5 g de farinha e 22,5 mL de água peptonada 0,1% (diluição 1:1), e em seguida foram realizadas diluições seriadas até a diluição de

10-3. Por fim, 1 mL de cada diluição foi inoculada em placas petrifilm contendo o meio de cultura para *Escherichia coli* e *Salmonella*, e estas foram incubadas por 24 horas a 37 °C, seguida da contagem de colônias, cálculo dos resultados e interpretação (Silva et al, 2010).

2.5 Compostos bioativos da farinha

2.5.1 Obtenção dos extratos com compostos bioativos da farinha

Para produção do extrato bruto hidroetanólico foram utilizados 25,44 g do material vegetal previamente seco e moído em 500 mL de EtOH:H₂O 7:3, que foi submetido à extração a frio por maceração exaustiva. O solvente foi removido com o auxílio de um evaporador rotativo, obtendo-se 15,12 g do extrato bruto hidroetanólico. Já o extrato aquoso, foi preparado com 25,44 g do material vegetal seco e moído em 200 mL de água, após 24 horas foi filtrado e liofilizado por 48 horas, resultando em 0,8478 g de extrato aquoso.

O extrato bruto hidroetanólico foi ressuspendido em EtOH: H₂O 1:1 (500 mL) e submetido à partição líquido-líquido com os solventes hexano (7 x 100 mL), diclorometano (6 x 100 mL) e acetato de etila (4 x 100 mL). O solvente de todas as frações foi removido com rotaevaporador. O rendimento da fração hexânica foi de 0,0951 g, da fração diclorometano 0,0163 g e da fração acetato de etila 0,0104 g, representados na Figura 2.

Figura 2 - Etapas para o fracionamento dos extratos.



Fonte: Autoria própria (2024)

2.5.2 Identificação dos compostos bioativos por Cromatografia em Camada Delgada

A identificação das substâncias presentes nas frações dos extratos foi feita utilizando a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), descrita na Farmacognosia (Simões et al, 2017). Para tal, diluíram-se pequenas quantidades de cada fração em hexano e metanol, que foram aplicadas na fase estacionária de sílica gel 60 F 264 (Merck KGaA) com o auxílio de capilares. Posteriormente, estas placas foram colocadas em cubas cromatográficas, anteriormente ambientadas com pedaços de papel, que continham as fases móveis adequadas a cada polaridade de substância, sendo elas: Hex/AcetEt 10%, AcOEt 100%, Hex/AcetEt 100% e MeOH/AcOEt 20%. Após ocorrer a eluição das substâncias nas placas, estas foram borrifadas com os reveladores Anisaldeidosulfúrico, Cloreto de Alumínio, Dragendorff e Vapores de iodo (Tabela 1).

Tabela 1 - Cores referentes ao método de revelação.

REAGENTE	COR	COMPOSTOS FENÓLICOS
Anisaldeidosulfúrico	Azuis-violeta	Terpenos
Cloreto de Alumínio	Alaranjado e amarelo esverdeado	Flavonóides
Dragendorff	Alaranjada	Alcalóides
Vapores de iodo	Marrom	Substâncias insaturadas

Fonte: Autoria própria (2024).

2.5.3 Quantificação dos compostos fenólicos

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada com o reagente Folin Ciocalteu, conforme método do Singleton et al (1999). Inicialmente foi necessário construir uma curva padrão de ácido gálico (1,67 µg/mL a 8,33 µg/mL). Após, os extratos foram diluídos em metanol e as alíquotas foram utilizadas para a reação com carbonato de sódio e Folin. Após 30 min de reação, as amostras foram lidas no espectrofotômetro em comprimento de onda de 760 nm. Com as absorbâncias, os resultados de compostos fenólicos foram calculados utilizando a equação da reta ($y = 0,1057x + 0,0599$) com coeficiente de correlação de 0,9994.

2.5.4 Efeito do extrato de ora-pro-nóbis sobre a atividade da AChE em linfócitos humanos

Foi avaliado o efeito do extrato de ora-pro-nóbis na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em linfócitos humanos, considerando suas possíveis implicações em processos inflamatórios de acordo com Ellman (1961) modificado por Fitzgerald and Costa (1993) e por Gutierrez et al. (2014). Para realizá-lo, amostras de sangue de doadores voluntários foram coletadas, utilizando EDTA como anticoagulante, para serem posteriormente submetidas ao método de separação de linfócitos sanguíneos utilizando Ficoll-Histopaque, conforme descrito por Boyum (1968). Este método permite o isolamento das células mononucleares do sangue periférico através da formação de um gradiente de densidade. Em seguida, para fazer a quantificação das proteínas presentes nas amostras, foi elaborada uma curva padrão de albumina medida através do método colorimétrico com Comassie Blue (Bradford, 1976). Finalizadas as respectivas etapas, foram adicionados 50 µL dos extratos de ora-pro-nóbis (fração acetato de etila), nas concentrações 0, 0,01%, 0,1%, e 1%, em cada sistema reacional contendo a enzima ativa. Após o período de incubação, as absorbâncias de cada amostra foram lidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 412 nm (Figura 3). Por fim, com a leitura das absorbâncias, efetuaram-se os cálculos necessários para a identificação da ação do extrato na atividade da AChE. Para os testes com amostras sanguíneas, o projeto foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos com o seguinte número CAAE: 70239623.9.0000.0267.

Figura 3 - Etapas para análise da inatividade da AChE.



Fonte: Autoria própria (2024).

2.5.5 Atividade antimicrobiana dos extratos

Inicialmente, os extratos foram diluídos em água ou tween 5%, sendo: aquoso 1:2 água, bruto 1:2 tween 5%, hexânico 1:2 tween 5%, diclorometano 1:4 tween 5% e acetato de etila 1:1 água. Na sequência, foi realizada a preparação das suspensões bacterianas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, por meio da semeadura das amostras em meio de cultivo Ágar Mueller-Hinton de acordo com a padronização da escala de Mcfarland 0,5, mantendo-se em crescimento por 24h a 37 °C. Em seguida, a inoculação das bactérias foi executada através do estriamento dos microrganismos com swab. Em placa de Petri, aplicou-se o método disco-difusão (Kirby e Bauer, 1966), tendo como controle positivo o antibiótico Nitrofurantoína, segundo a BrCAST (2024), e o controle negativo água estéril. Dos extratos diluídos utilizou-se 10 mL, que foram empregados em triplicata. Posteriormente, a placa seguiu para incubação por 24 horas a 37°C. Por fim, realizou-se a leitura do halo de inibição (Silva et al, 2010).

3. Resultados e Discussão

Para a farinha branqueada, o teor de ácido oxálico foi de 58,47 mg por grama de farinha. Já em relação à amostra que não passou pelo processo de branqueamento foram obtidos cerca de 148,12 mg por grama de farinha, ou seja, o método foi eficaz na redução do ácido oxálico, tendo uma redução de 39%. Esse resultado é compatível com o estudo de Almeida (2014) que apresentou 41,79 mg por 100g de ácido oxálico na ora-pro-nobis. O valor obtido desse antinutriente pela *Pereskia aculeata* não é suficiente para impedir absorção significativa de minerais, tendo outros vegetais com maiores concentrações como o rúbarbo cru ou cozido que apresenta cerca de 260 - 1.235 mg de ácido oxálico a cada 100g, sendo um dos vegetais que possui maior concentração desse antinutriente (Higashijima et al., 2019). O ácido oxálico é um antinutriente tóxico que não pode ser metabolizado pelos humanos e induz a condição de hiperoxalúria (Gomes; Wilcken; Broetto, 2023). A dose letal de ácido oxálico é de 1.500 mg (Santos, 2015).

3.1 Teor de proteínas na farinha

O teor de proteínas na farinha de ora-pro-nobis, em base seca, foi em média $20,04\% \pm 0,15$, valor coerente com estudo de Takeiti (2009), Souza et al. (2016) e Teixeira et al. (2023) que obtiveram teores de proteínas de 20,10%, 21,86% e 23,00% respectivamente. A presença de alto teor de proteínas na *Pereskia aculeata* é promissor, especialmente em um contexto global onde a busca por fontes de proteínas alternativas e sustentáveis está em ascensão. Essa característica destaca o potencial dessa planta como um recurso valioso para suplementar dietas e atender às necessidades nutricionais de populações diversas. Isso porque a ora-pro-nobis tem valores muito próximos de fontes de proteínas muito estudadas como: peito de frango cozido (31,5%), farinha de soja (38,4%), feijão rajado cozido (15,2), ovo cozido (13%) (TACO, 2011). Também por possuir teor proteico superior a outras PANCs como *Portulaca oleracea* (1,27%) e *Tropaeolum majus* (5%) (Botrel, 2020).

3.2 Análise microbiológica da farinha

A contagem de *Escherichia coli* foi menor que 10^{-1} UFC/g, o que indica que o número de unidades formadoras de colônias está dentro do limite máximo permitido pela Instrução Normativa (IN) nº 161, de 1º de julho de 2022 em farinhas vegetais (menor que 10^2 UFC/g). Na pesquisa de *Salmonella* não foram observadas colônias características — marrons ou vermelhas com bolhas de ar —, o que indica ausência do patógeno em 25 g da amostra.

3.3 Identificação de compostos bioativos da farinha

Os alcaloides não foram identificados nos extratos e frações da OPN, já os compostos insaturados estão presentes somente na fração hexânica, os esteroides e terpenos estão na fração hexânica e acetato de etila e os flavonoides estão na fração hexânica e diclorometano.

Outros estudos indicam a presença de metabólitos secundários do tipo flavonoides, monoterpenos, carotenóides e alcalóides (Teixeira et al, 2023; Pinto et al, 2015; Souza et al, 2016) em extratos de OPN. As diferenças nos resultados podem ser atribuídas a diversos fatores. A produção de metabólitos secundários nas plantas, como os compostos bioativos, é influenciada por condições naturais como luminosidade, temperatura, estresse biótico, disponibilidade hídrica, nutrientes do solo, altitude e genética (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

3.4 Compostos fenólicos da farinha

Em relação à quantificação dos compostos fenólicos, a fração acetato de etila apresentou maiores quantidades de compostos fenólicos (115,02 mg/g de extrato) quando comparada com a diclorometano (34,86 mg/g de extrato). Santana (2019) obteve da fração etanol 50%, 132 mg de fenóis por 100g de extrato. Já Sommer; Ribeiro e Kminski, (2022) obtiveram 5,78 mg/g \pm 36,37 quando extraído com solução contendo etanol, acetona e ácido clorídrico 0,01M. As variações entre os resultados podem ser explicadas por alguns fatores como a aplicação de diferentes solventes e métodos de extração e o cultivo da planta. A produção dos metabólitos secundários, como os compostos fenólicos, depende das condições climáticas, do solo, da exposição a substâncias/poluentes, ataques de patógenos, dentre outros (Gobbo-Neto & Lopes, 2007). Isso significa que a concentração desses compostos apresenta especificidade em relação ao local no qual a planta está inserida.

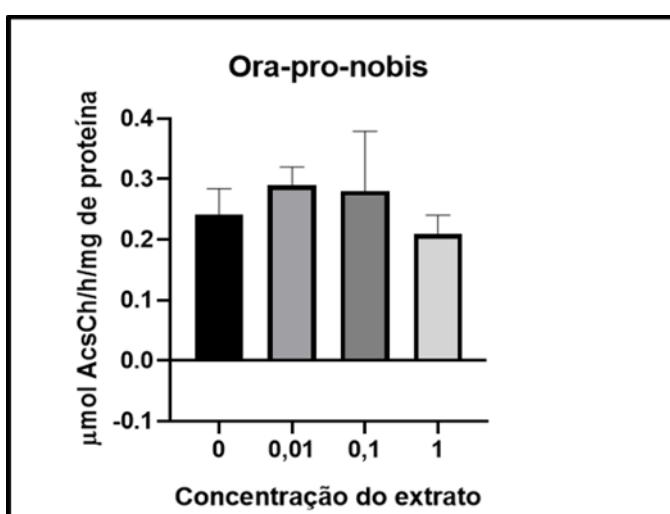
Além disso, a maior concentração de compostos fenólicos na fração extraída com acetato de etila, em comparação à fração com diclorometano, deve-se principalmente à diferença de polaridade entre os solventes. O acetato de etila possui polaridade intermediária e capacidade de formar ligações de hidrogênio, o que favorece a extração de compostos fenólicos, que geralmente apresentam grupos hidroxila e estruturas aromáticas. Já o diclorometano, menos polar e com menor afinidade por compostos fenólicos, é mais eficaz na extração de substâncias hidrofóbicas. Assim, o desempenho superior do acetato de etila

na extração de fenólicos se deve à sua melhor compatibilidade com a natureza química desses compostos (Jacobsen et al, 2024).

3.5 Efeito do extrato de ora-pro-nóbis na atividade da AChE em linfócitos

Foi analisado o efeito do extrato de acetato de etila de ora-pro-nóbis na atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) em linfócitos utilizando uma análise de variância (ANOVA) de uma via. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as concentrações testadas (0, 0,01, 0,1 e 1 mg/mL), como mostrado na Figura 4, uma vez que o valor de p foi maior que 0,05 ($P = 0,535$).

Figura 4 - Efeito do extrato de ora-pro-nóbis na atividade da AChE em linfócitos.



Fonte: Autoria própria (2024).

De acordo com dados da literatura, entende-se que a concentração do extrato pode ter influenciado a ausência de efeito significativo, uma vez que há uma tendência na maior concentração em diminuir a atividade da enzima. Estudos anteriores, como o de Kwon (2010) demonstraram que o ácido clorogênico possui atividade inibitória sobre a AChE. Ao analisar seu trabalho, percebe-se que a inibição da atividade da AChE aumentou com a concentração de ácido clorogênico, atingindo um efeito máximo em concentrações mais altas (até 400 µg/mL).

Dessa forma, os resultados indicam que a concentração utilizada do extrato de ora-pro-nóbis pode ter sido insuficiente (baixa quantidade de ácido clorogênico presente na fração polar). Portanto, para futuros estudos deve-se considerar a utilização de concentrações mais elevadas do extrato para avaliar seu efeito específico sobre a atividade da AChE em linfócitos.

3.6 Atividade antimicrobiana dos extratos

A atividade antimicrobiana dos extratos: bruto, hexânico e diclorometano, frente a cepa de *Escherichia coli*, não apresentaram halo de inibição significativo, já o extrato acetato de etila apresentou halo de inibição de 7 mm. Ao comparar este resultado com o documento oficial do Comitê Brasileiro de Testes de Sensibilidades aos Antimicrobianos (BrCAST), apresenta-se promissor, pois o escrito oficial, utilizando o antibiótico Nitrofurantoína, demonstra sensibilidade maior ou igual a 11 mm para a mesma bactéria. Levando em consideração que foi realizada a diluição do extrato para facilitar seu manuseio, esse poderia exibir maior capacidade antimicrobiana se não estivesse diluído, aumentando seu potencial.

No que se refere a cepa de *Staphylococcus aureus*, os extratos não apresentaram halo de inibição. Segundo a BrCAST,

um halo de inibição efetivo, utilizando a Nitrofurantoína, seria maior ou igual a 13 mm. O estudo de Vargas (2017), que realizou a análise antimicrobiana dos extratos éter de petróleo, diclorometano e etanol de folhas de ora-pro-nobis, apenas o extrato éter de petróleo apresentou potencial de inibição de crescimento microbiano de *Staphylococcus aureus*, já para a cepa de *Escherichia coli* o estudo também não apresentou inibição.

4. Considerações Finais

A farinha de OPN obtida com o processo de branqueamento apresentou redução no teor de ácido oxálico em 39% e alto teor proteico ($20,04\% \pm 0,15$). Além disso, os testes microbiológicos indicam segurança para o consumo da farinha e potencial ação antimicrobiana. Foram identificados, por CCD, compostos como terpenos, flavonoides, alcaloides e substâncias insaturadas. O teor de compostos fenólicos foi positivo com teores de 115,02 mg/g na fração acetato de etila. Em relação ao potencial anti-inflamatório, sugere-se refazer a análise do efeito do extrato de ora-pro-nobis na atividade da AChE com a fração acetato de etila mais concentrado, o que poderia resultar em valores mais expressivos.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com o apoio da Faculdade Donaduzzi e sua infraestrutura.

Referências

- Almeida, M. E. F., Junqueira, A. M. B., Simão, A. A., & Corrêa, A. D. (2014). Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como Ora-pro-nóbis. *Bioscience Journal* (Online).
- Borovikova, L. V., Ivanova, S., Zhang, M., Yang, H., Botchkina, G. I., Watkins, L. R., Wang, H., Abumrad, N., Eaton, J. W., & Tracey, K. J. (2000). Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. *Nature*, 405(6785), 458–462. <https://doi.org/10.1038/35013070>
- Botrel, N., et al. (2020). Valor nutricional de hortaliças folhosas não convencionais cultivadas no Bioma Cerrado. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23.
- Böyum, A. (1968). Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. Supplementum*, 97, 77–89. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4179068/>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brasil. Ministério da Saúde, & Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. (2011). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) (4^a ed.). NEPA/UNICAMP. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/seguranca-alimentar/composicao-de-alimentos>
- Brasil. Ministério da Saúde. (2022, julho 6). Instrução normativa nº 161 de 1º de julho de 2022. Estabelece, nos termos da Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 724, de 1º de julho de 2022, as listas de padrões microbiológicos de alimentos. *Diário Oficial da União*, Seção 1, 126.
- BrCAST. (2024). Tabela de pontos de corte - BrCAST (Versão de 13 de abril de 2024). <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-BrCAST-13-04-2024.pdf>
- Cazagrande, C., Amancio, R., Feiten, M. C., Gilioli, A., Gonzalez, S. L., & Fagundes, C. (2022). Obtenção de farinha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) e sua aplicação no desenvolvimento de biscoitos tipo cookie. *Cadernos De Ciéncia & Tecnologia*, 39(3), e27148. <https://doi.org/10.35977/0104-1096.cct2022.v39.27148>
- Da Silva Ortiz, M. C., Guimarães, L., & De Oliveira, L. S. (2023). Estudo do potencial farmacológico das folhas de *Pereskia aculeata* Miller (Ora-pro-nóbis): utilizada popularmente como alimento e medicamento. *Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciéncias e Educação*.
- E Silva, D. M., Nunes, L. G. A., Prado da Silva, N., de Freitas, P. H. S., Scio, E., Tavares, G. D., Almeida Alves, I., & de Carvalho da Costa, J. (2024). Anti-Inflammatory Activity and Acute Toxicity Of *Pereskia aculeata*, In *Zophobas morio* Larvae. *Chemistry & biodiversity*, 21(9), e202400686. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202400686>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. Jr., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Fernandes, A. A., Rodrigues, E., Lisot, L., & Zanetti, S. (2018). Caracterização físico-química e funcional da farinha de ora-pro-nóbis obtida por diferentes processos de desidratação.

- Fitzgerald, B. B., & Costa, L. G. (1993). Modulation of muscarinic receptors and acetylcholinesterase activity in lymphocytes and in brain areas following repeated organophosphate exposure in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 20(2), 210–216. <https://doi.org/10.1006/faat.1993.1028>
- Fujii, T., Mashimo, M., Moriwaki, Y., Misawa, H., Ono, S., Horiguchi, K., & Kawashima, K. (2017). Expression and function of the cholinergic system in immune cells. *Frontiers in Immunology*, 8, 1085. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01085>
- Garcia, J. A. A., Corrêa, R. C. G., Barros, L., Pereira, C., Abreu, R. M. V., Alves, M. J., Calhelha, R. C., Bracht, A., Peralta, R. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. *Food Chemistry*.
- Gobbo-Neto, L., & Lopes, N. P. (2007). Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*.
- Gutierrez, J. M., Carvalho, F. B., Schetinger, M. R., Agostinho, P., Marisco, P. C., Vieira, J. M., Rosa, M. M., Bohnert, C., Rubin, M. A., Morsch, V. M., et al. (2014). Neuroprotective effect of anthocyanins on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia in rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 33, 88–97.
- Hartman, L., Lago, R. C. A., & Jablonka, F. H. (1991). Utilização de ácido oxálico no processamento de óleos vegetais. *EMBRAPA CTAA*.
- Higashijima, N. S., Lucca, A., Rebizz, L. R. H., & Rebizzi, L. M. H. (2019). Fatores antinutricionais na alimentação humana. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 27, e020013. <https://doi.org/10.20396/san.v27i0.8653587>
- Huynh, N. K., Nguyen, D. H., & Nguyen, H. V. (2022). Effects of processing on oxalate contents in plant foods: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, 112, 104685.
- Jacobsen, S. S., et al. (2024). Selective extraction process and characterization of antioxidant phenolic compounds from *Pereskia aculeata* leaves using UPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS. *ACS Omega*, 9(35), 37374–37385. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c04073>
- Kumar, A., Gupta, K., Islam Apu, M. A., Abrol, G. S., & Tomer, V. (2023). Effect of household processing on nutritional and antinutritional composition, mineral-mineral ratios, and functional properties of *Cocosa* leaves. *Helijon*, 9(6), e17137. <https://doi.org/10.1016/j.helijon.2023.e17137>
- Kwon, S. H. (2010). Neuroprotective effects of chlorogenic acid on scopolamine-induced amnesia via anti-acetylcholinesterase and anti-oxidative activities in mice. *European Journal of Pharmacology*, 649(1–3), 210–217.
- Laverde, A., Rezende, B. H. M., Cavéquia, B. M., & Rodrigues, M. V. (2022). O potencial nutracêutico de *Pereskia grandifolia* Haw. (Cactaceae). In *Fitoquímica: potencialidades biológicas dos biomas brasileiros*.
- Oliveira, L. C. S., Kamonseki, D. H., & Ferreira, S. R. (2017). Determinação dos teores de ácido oxálico em diferentes amostras de tomate. *Nutríviva: Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde*.
- Pereira, A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free ebook]. Santa Maria. Editora da UFSM.
- Pinto, N. D. C. C. (2015). *Pereskia aculeata: A plant food with antinociceptive activity*. Pharmaceutical Biology.
- Proença, I. C. de L., Araujo, A. L. R., Tomazella, V. B., Mendes, R. C., Gomes, L. A. A., & Resende, L. V. (2018). Plantas alimentícias não-convencionais (PANCs): Relato de experiência em horta urbana comunitária do sul de Minas Gerais. *Revista Extensão em Foco*.
- Rocha, D. R. C., Pereira Júnior, G. A., Vieira, G., Pantoja, L., Santos, A. D., & Pinto, N. A. V. D. (2009). Macarrão adicionado de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) desidratado. *Alimentos e Nutrição*.
- Santos, A. Q., Santos, R. X., & Marisco, G. (2018). Atividades biológicas, toxicológicas e parâmetros nutricionais da *Pereskia aculeata* Miller: Uma revisão bibliográfica. *Scientia Amazonia*.
- Santos, C. M. (2015). Caracterização e utilização de subprodutos do mamão (*Carica papaya* L.) [Tese de doutorado, Universidade Federal de Lavras].
- Santos, P. P. A., Ferrari, G. D. S., Rosa, M. D. S., Almeida, K., Araújo, L. D. A. D., Pereira, M. H. C., Wanderley, M. E. F., & Morato, P. N. (2022). Desenvolvimento e caracterização de sorvete funcional de alto teor proteico com ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller) e inulina. *Revista Brasileira de Tecnologia de Alimentos*.
- Shitsuka, R. et al. (2014). Matemática fundamental para tecnologia. (2ed). Editora Érica.
- Silva, R., Silva, T. S., & Silva, U. L. T. (2021). Bioensaio toxicológico de plantas alimentícias não-convencionais em *Artemia salina* Leach. *Revista Eletrônica Funvic*.
- Silva, V. A., et al. (2010). Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana do extrato da *Lippia sidioides* Cham. sobre isolados biológicos de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 12, 452–455.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152–178). Academic Press.
- Sommer, M. C., Ribeiro, P. F. de A., & Kaminski, T. A. (2022). Obtenção e caracterização fisico-química da farinha de ora-pro-nóbis / Obtention and physicochemical characterization of ora-pro-nóbis flour. *Brazilian Journal of Health Review*, 5(2), 6878–6892. <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n2-256>
- Sousa, D. O., & Lima, M. D. (2021). Produção e aplicação da farinha de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) para o desenvolvimento de produtos alimentícios: Uma revisão. Universidade Federal de Uberlândia.

Teixeira, V. M. C., Oliveira, A., Backes, E., Souza, C. G. M., Castoldi, R., Sá-Nakanishi, A. B., Bracht, L., Comar, J. F., Corrêa, R. C. G., Leimann, F. V., Bracht, A., & Peralta, R. M. (2023). A Critical Appraisal of the Most Recent Investigations on Ora-Pro-Nobis (*Pereskia* sp.): Economical, Botanical, Phytochemical, Nutritional, and Ethnopharmacological Aspects. *Plants* (Basel, Switzerland), 12(22), 3874. <https://doi.org/10.3390/plants12223874>

Vargas, A. G. de. (2017). Influência da sazonalidade na composição química e nas atividades antioxidante e antimicrobiana das folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miller). [Dissertação de mestrado].