



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIA AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

TATIANA MARIA DE FREITAS GOMES LIMA

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO DE JAMBU (*Acmella ciliata*) E ANÁLISE DO
POTENCIAL DE APLICAÇÃO COMO INGREDIENTE FUNCIONAL

FORTALEZA

2021

TATIANA MARIA DE FREITAS GOMES LIMA

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO DE JAMBU (*Acmella ciliata*) E ANÁLISE DO
POTENCIAL DE APLICAÇÃO COMO INGREDIENTE FUNCIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.

Coorientadora: Profa. Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L711c Lima, Tatiana Maria de Freitas Gomes.
Caracterização de extrato de jambu (*Acmella ciliata*) e análise do potencial de aplicação como ingrediente funcional / Tatiana Maria de Freitas Gomes Lima. – 2021.
92 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.
Coorientação: Profa. Dra. Larissa Morais Ribeiro da Silva.
1. Plantas medicinais. 2. Alimentos funcionais. 3. Jambu. I. Título.

CDD 664

TATIANA MARIA DE FREITAS GOMES LIMA

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO DE JAMBU (*Acmella ciliata*) E ANÁLISE DO
POTENCIAL DE APLICAÇÃO COMO INGREDIENTE FUNCIONAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovado em: 31/05/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Larissa Moraes Ribeiro da Silva (Coorientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Paulo Henrique Machado de Sousa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Nágila Maria Pontes Silva Ricardo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ícaro Gusmão Pinto Vieira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Com muito amor, aos meus filhos Carolina e Murilo, razão pela qual me empenho, me esforço e luto todos os dias da minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por segurar em minhas mãos e me dar capacidade e resiliência para lograr essa conquista.

Ao meu esposo, Ricardo, por toda assistência e paciência necessárias nos momentos difíceis.

Às minhas irmãs, Daniela e Priscila, por me ajudarem com meus filhos e por me passarem tranquilidade quando eu precisei.

À minha filha Carolina, que trabalhou comigo nas tarefas de casa e com seu jeitinho doce aquece o coração da mamãe. Te amo, minha filha!

Ao meu filho Murilo, que mesmo tão pequenino enfrentou minha ausência e me deu forças para seguir. Te amo, meu filho!

À minha mãe, Ladjane Valença, que mesmo distante me apoiou no que pôde.

Aos meus amigos Keliane, Sansão, Clara, Carol e Marinara, por todo o apoio e persistência.

Ao professor Dr. Wilane Figueiredo por sua orientação.

À professora Dra. Larissa Moraes por tanta atenção, orientação, carinho e dedicação prestada sempre com muita alegria e muito conhecimento. Suas instruções foram fundamentais para realização de mais uma conquista acadêmica em minha vida.

À professora Nágila Ricardo, que com maestria e delicadeza transbordou conhecimentos que foram enriquecedores para minha vida acadêmica e para este trabalho.

Ao professor Dr. Ícaro Gusmão, pela disponibilização do espaço para realização dessa pesquisa e por todas as orientações engrandecedoras para este trabalho.

Ao professor Dr. Paulo Henrique, pela sabedoria transmitida com tanta destreza e pela participação essencial neste trabalho.

Aos bolsistas Fernando Eugênio, Eurilany, Rayane, Lerrena e Michele, que não mediram esforços para me ajudar nas análises laboratoriais em virtude de minha gestação. Serei eternamente grata à vocês por isso.

Aos técnicos dos laboratórios por todo acolhimento e disponibilidade prestada, em especial a Fernando, Liana e Sr. Omar do Laboratório de Frutos e Hortaliças da UFC e ao Matheus, Neto, Rafael e Débora, do Laboratório de Polímeros e Inovação de Materiais (LabPIM), do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos que engrandeceram minha vida profissional com tanto conhecimento e contribuíram de forma substancial para minha formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

A utilização das plantas medicinais faz parte da história da humanidade. Essas plantas são tidas como fontes consideráveis de compostos bioativos. O jambu (*Acmella ciliata* (Kunth) Cass.) é uma planta pertencente à família Asteraceae, amplamente distribuída nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. A sensação de dormência e formigamento deixado nos lábios são características marcantes desse vegetal em virtude da presença do espilantol. Esse composto tem atraído atenção de muitos pesquisadores e indústrias por suas numerosas atividades biológicas e farmacológicas. À vista disso, o presente trabalho teve por objetivo produzir um extrato etanólico de jambu e avaliar o rendimento do extrato, realizar a caracterização química por CG-MS, identificar, isolar e quantificar o espilantol por CLAE, determinar o limite de detecção e o limite de quantificação do espilantol, analisar o conteúdo fenólico total (CFT) e a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS⁺⁺ e DPPH, avaliar a atividade antimicrobiana por difusão em ágar, observar possíveis efeitos tóxicos frente ao Zebrafish (*Danio rerio*), aplicar o extrato em gelatina vegetal, avaliar a bioacessibilidade do espilantol nas gelatinas adicionadas do extrato e por fim, avaliar a aceitação do produto através da análise sensorial. O rendimento do extrato apresentou um valor de 4,75%. O CG-MS identificou o espilantol no Rt 37,299, revelando pureza de 83,60%. O limite de detecção foi determinado em 0.434 µg/mL e o limite de quantificação foi definido em 0.868 µg/mL. Os cromatogramas obtidos por CLAE revelaram um teor de 86,83± 1,07 mg de espilantol/g de extrato. O CFT apresentou um valor de 1053,27 mg EAG/100g, e para a capacidade antioxidante, observou-se melhor potencial pelo método ABTS⁺⁺ (117,54 µM Trolox/g extrato). A atividade antimicrobiana foi positiva contra três *L. monocytogenes* e *S. aureus* (Gram+) e *S. enteritidis* (Gram-). Na análise de toxicidade, houve redução na atividade locomotora na concentração de 1000 ppm em relação ao grupo de 500 ppm, porém, não ocorreram mortes nas concentrações. Após a avaliação do grupo focal, foram aplicadas em gelatina vegetal de uva as seguintes concentrações de extrato: 7,5, 12,5 e 25% e posteriormente foi realizada a análise sensorial que revelou um produto com boa aceitação de forma geral, mostrando maior preferência dos provadores para a amostra A com 33,75% (27 provadores). O percentual bioacessível do espilantol foi determinado por CLAE-DAD obtendo-se os valores de 23,38, 26,86 e 18,53% de espilantol após o processo de digestão simulada.

Palavras-chave: plantas medicinais; alimentos funcionais; jambu.

ABSTRACT

The use of medicinal plants is part of human history. These plants are considered to be considerable sources of bioactive compounds. The jambu (*Acmella ciliata* (Kunth) Cass.) Is a plant belonging to the Asteraceae family, widely distributed in the tropics and subtropics of the world. The sensation of numbness and tingling left on the lips are hallmarks of this vegetable due to the presence of spilantol. This compound has attracted the attention of many researchers and industries due to its numerous biological and pharmacological activities. In view of this, the present work aimed to produce an ethanolic extract of jambu and evaluate the yield of the extract, perform the chemical characterization by CG-MS, identify, isolate and quantify the spilantol by HPLC, determine the detection limit and the limit quantification of spilantol, analyze the total phenolic content (CFT) and the antioxidant capacity by ABTS + • and DPPH methods, evaluate the antimicrobial activity by agar diffusion, observe possible toxic effects against Zebrafish (*Danio rerio*), apply the extract in gelatin vegetable, evaluate the bioaccessibility of spilantol in gelatins added to the extract and, finally, evaluate the acceptance of the product through sensory analysis. The extract yield showed a value of 4.75%. CG-MS identified spilantol in Rt 37,299, revealing 83.60% purity. The detection limit was determined at 0.434 µg / mL and the limit of quantification was set at 0.868 µg / mL. The chromatograms obtained by HPLC showed a content of 86.83 ± 1.07 mg of spilantol / g of extract. The CFT had a value of 1053.27 mg EAG / 100g, and for the antioxidant capacity, a better potential was observed by the ABTS + method (117.54 µM Trolox / g extract). Antimicrobial activity was positive against three *L. monocytogenes* and *S. aureus* (Gram +) and *S. enteritidis* (Gram-). In the toxicity analysis, there was a reduction in locomotor activity in the concentration of 1000 ppm in relation to the group of 500 ppm, however, there were no deaths in the concentrations. After the evaluation of the focus group, the following extract concentrations were applied in vegetable grape gelatin: 7.5, 12.5 and 25% and subsequently a sensory analysis was carried out that revealed a product with good general acceptance, showing greater tasters' preference for sample A with 33.75% (27 tasters). The bioaccessible percentage of spilantol was determined by HPLC-DAD, obtaining the values of 23.38, 26.86 and 18.53% of spilantol after the simulated digestion process.

Key words: medicinal plants; functional foods; jambu.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	<i>Acmella ciliata</i> (Kunth) Cass.....	17
Figura 2 –	Principais classes de compostos fenólicos presentes nos vegetais.....	21
Figura 3 –	Representação da rota biossintética do espilantol	22
Figura 4 –	Classificação botânica do material vegetal (<i>Acmella ciliata</i> (Kunth) Cass.)	28
Figura 5 –	Fluxograma demonstrativo do processo de obtenção do EEJ.....	29
Figura 6 –	Fluxograma de fracionamento e identificação do espilantol.....	31
Figura 7 –	Curva de calibração da quantificação de espilantol no EEJ.....	33
Figura 8 –	Fluxograma da avaliação de toxicidade por zebrafish.....	38
Figura 9 –	Cromatograma do padrão de Espilantol obtido por CLAE.....	45
Figura 10 –	Cromatograma do Extrato Etanólico de Jambu obtido por CLAE.....	45
Figura 11 –	Cromatograma do padrão de Espilantol obtido por CG-MS.....	47
Figura 12 –	Cruzamento de linhas do Zebrafish frente ao EEJ.....	58
Figura 13 –	Formulação final de gelatina vegetal de uva adicionada de EEJ.....	63
Figura 14 –	Processos de biodisponibilidade, bioacessibilidade e bioatividade.....	69
Figura 15 –	Cromatogramas de identificação e quantificação de espilantol nas gelatinas adicionadas de EEJ.....	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Composição de macronutrientes e micronutrientes presentes no jambu (100g), recomendação (DRIs) e percentual representativo.....	18
Tabela 2 –	Parâmetros fitoquímicos qualitativos de <i>Acmella oleraceae</i>	20
Tabela 3 –	Limite de detecção, Limite de quantificação, Linearidade, Coeficiente de determinação e Tempo de retenção do espilantol.....	46
Tabela 4 –	Resultados obtidos para CFT, ABTS e DPPH do EEJ.....	50
Tabela 5 –	Susceptibilidade microbiana frente ao EEJ - Zona de inibição.....	54
Tabela 6 –	Resultados dos testes de toxicidade aguda (96 h) para o EEJ.....	58
Tabela 7 –	Aspectos gerais de consumo de gelatina – Grupo focal.....	61
Tabela 8 –	Resultado da apuração sensorial do grupo focal.....	61
Tabela 9 –	Ingredientes utilizados no preparo da gelatina.....	63
Tabela 10 –	Descrição do perfil dos provadores das amostras de gelatina vegetal.....	64
Tabela 11 –	Resultados do teste de aceitabilidade (Escala hedônica).....	65
Tabela 12 –	Percentual de bioacessibilidade do espilantol nas amostras de gelatina.....	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	14
2.1	Objetivo geral	14
2.2	Objetivos específicos	14
3	REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1	Plantas medicinais	15
3.2	Gênero <i>Acmella</i>	16
3.2.1	<i>Acmella ciliata (Kunt) Cass.</i>	17
3.3	Compostos bioativos	19
3.4	Espilantol	21
3.5	Compostos antioxidantes	23
3.6	Atividade antimicrobiana	24
3.7	Bioacessibilidade	25
3.8	Alimentos funcionais	25
3.9	Análises físico-químicas (CLAE, CG-EM)	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	Material vegetal e produção do extrato	28
4.1.2	<i>Rendimento do extrato</i>	29
4.2	Caracterização do extrato	30
4.2.1	<i>Química, equipamentos e procedimentos gerais</i>	30
4.2.2	<i>Isolamento, quantificação e identificação do espilantol (CLAE e CG-EM)</i>	30
4.3	Determinação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH e ABTS)	34
4.4	Determinação da atividade antimicrobiana – Difusão em ágar	35
4.5	Toxicidade Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)	36
4.5.1	<i>Atividade locomotora (Teste de campo aberto)</i>	37
4.5.2	<i>Toxicidade aguda (96 h)</i>	37
4.6	Aplicação do extrato em gelatina vegetal	39
4.7	Análise sensorial	40
4.7.1	<i>Grupo focal</i>	40
4.8	Bioacessibilidade	42

4.8.1	<i>Percentual bioacessível</i>	43
4.9	Análise estatística.....	43
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1	Rendimento do extrato.....	44
5.2	Caracterização do extrato etanólico de jambu	44
5.2.1	<i>Isolamento, quantificação e identificação do espilantol</i>	44
5.2.2	<i>Curvas de calibração, precisão, linearidade, limite de detecção e de quantificação do espilantol</i>	46
5.3	Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH e ABTS).....	49
5.4	Atividade antimicrobiana – Difusão em ágar.....	54
5.5	Toxicidade Zebrafish (<i>Danio rerio</i>).....	57
5.6	Análise sensorial.....	61
5.6.1	<i>Grupo focal</i>	61
5.6.2	<i>Produção da Gelatina Vegetal de Uva</i>	61
5.6.3	<i>Caracterização dos provadores</i>	63
5.6.4	<i>Teste de aceitabilidade - Escala hedônica</i>	65
5.7	Bioacessibilidade do espilantol.....	68
6	CONCLUSÃO	73
	REFERÊNCIAS	74

1 INTRODUÇÃO

Com o crescimento da população, o processamento de alimentos se tornou substancial para atender a demanda. No entanto, os alimentos ultraprocessados, possuem altos níveis de gorduras saturadas e trans, açúcares, sódio, além de aditivos sintéticos que muitas vezes estão associados ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). O consumo desses alimentos, de acordo com o Guia alimentar para a população brasileira, deve ser evitado, porém, ainda apresenta um percentual de ingestão elevado. Segundo evolução dos dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) em 2002-2003, 2008-2009 e 2017-2018, ocorreu um declínio no consumo de alimentos *in natura* ou minimamente processados e um aumento no percentual de ingestão de alimentos ultraprocessados, chegando a 18,4% das calorias totais ingeridas, repercutindo negativamente na dieta do brasileiro (IBGE, 2004; IBGE, 2011; IBGE, 2020; LOUZADA *et al.*, 2015).

Ao longo dos últimos anos, alterações ocorreram na percepção do consumidor quanto à relação entre alimentação e saúde, dessa forma, observa-se atualmente a existência de uma busca crescente por qualidade de vida, fazendo com que seja intensificada a procura por produtos menos processados ou incrementados com substâncias detentoras de propriedades funcionais, enfatizando cada vez mais esses alimentos como um dos determinantes de saúde (FIESP, 2018; MENDES *et al.*, 2018).

As plantas alimentícias não convencionais, por exemplo, vêm ganhando cada vez mais adeptos, em razão da presença de metabólitos primários (polissacarídeos) e secundários (terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados), que, por sua vez, são capazes de agir biologicamente contra diferentes fatores nocivos à saúde humana e deste modo, sendo responsáveis pelas propriedades funcionais que elas apresentam (AGISHO; OSIE; LAMBORE, 2014; KALNY *et al.*, 2007; SANA; RANI; SULAKSHANA, 2014).

A *Acmella ciliata*, conhecida popularmente como jambu é uma erva consumida em preparações culinárias da região Norte do Brasil e é bem distribuída em todo o mundo. A planta contém uma substância conhecida como espilantol ou afinina, uma substância oriunda do metabolismo secundário e responsável pela sensação de dormência e formigamento *in loco* (PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2016).

Além do uso culinário, a erva também é utilizada na medicina popular, em razão dos seus numerosos efeitos biológicos, dentre eles anti-inflamatório, fungicida, larvicida, bactericida, anestésico e antioxidante atribuídos ao espilantol, além da ação gastroprotetora, antitumoral, cicatrizante e antioxidante atribuídos aos polissacarídeos presentes na planta. Tais

efeitos vem atraindo a atenção dos pesquisadores da indústria farmacêutica e da área de alimentos, e desse modo, transparecendo a necessidade de aplicação de meios que impulsionem estudos nessas áreas, fortalecendo, através dessa interação, a produção de alimentos com propriedades funcionais (BALIEIRO *et al.*, 2020; FERREIRA *et al.*, 2013; SEKO *et al.*, 2020).

A funcionalidade é uma característica extranutricional de um alimento, ou seja, vai além do seu benefício como nutriente. Os alimentos funcionais viabilizam a oportunidade de conciliar um produto comestível com substâncias bioativas e assim atuar como adjuvante na prevenção de distúrbios do metabolismo humano e conseqüentemente reduzir o risco de desenvolvimento de doenças, bem como contribuir para a manutenção da saúde. Portanto, encontrar extratos vegetais com propriedades funcionais, representam desafios e oportunidades contínuas para a indústria de alimentos, proporcionando uma maior produção de alimentos dessa classe dentro de um mercado em ascensão (ANJO, 2020; MENDES *et al.*, 2018; WALZEM, 2004).

Dentre os principais alimentos funcionais, as fibras recebem um destaque importante em razão da sua relação com a redução de DCNT como diabetes melito tipo 2, doenças cardiovasculares, obesidade, neoplasias cólon-retal, síndrome do cólon irritável, diverticuloses, entre outras. Contudo, o consumo de fibras deve ser realizado de forma regular para que assim, seus efeitos benéficos possam ser atingidos. (COZZOLINO; COMINETTI, 2018; WAITZBERG, 2004).

Nesse cenário, o presente trabalho teve por objetivo caracterizar o extrato de jambu (*Acmella ciliata*) avaliar sua toxicidade, bem como seu potencial bioativo, elaborar um produto a base de fibras solúveis, corantes, saborizantes, edulcorantes e aromatizantes naturais, extinguindo dessa forma os riscos associados ao consumo de aditivos sintéticos, através da preparação de um produto natural e exclusivamente de origem vegetal, além de enriquecer este produto com ativos biológicos e assim, servir como veículo para redução de risco de desenvolvimento de DCNT, agregando benefícios à saúde.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar o extrato etanólico de jambu (*Acmella ciliata* (Kunth) Cass.), e avaliar o potencial de aplicação em gelatina vegetal, visando a produção de um alimento funcional.

2.2 Objetivos específicos

Objetivos específicos:

- a) preparar o extrato etanólico de jambu e realizar sua caracterização;
- b) quantificar compostos fenólicos totais
- c) determinar atividade antioxidante total;
- d) analisar a atividade antimicrobiana do extrato;
- e) analisar a toxicidade do extrato de jambu;
- f) elaborar formulação de gelatina vegetal e avaliar aspectos de aplicação do extrato;
- g) avaliar a bioacessibilidade do espilantol na gelatina vegetal adicionada de extrato de jambu;
- h) avaliar a aceitação do produto por meio de análise sensorial com provadores não treinados.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Plantas medicinais

As plantas são largamente empregadas em muitos sistemas de medicina indígena como meio curativo para uma variedade de doenças. A popularização dessa medicina alternativa é cada vez mais comum em todo o mundo, especialmente nos países emergentes, onde as mesmas são facilmente adquiridas e financeiramente acessíveis. Além disso, os usuários dessas plantas acreditam que elas apresentam menos efeitos adversos que drogas sintéticas (KRISTANC, 2016).

O uso medicinal das plantas remota de longa data, pois estas constituem uma fonte essencial de substâncias bioativas, que por sua vez, atuam como substrato para produção de medicamentos para a espécie humana, desempenhando função importante como constituinte da atenção primária à saúde em países em desenvolvimento, devido a sua acessibilidade e aceitação cultural. Contudo, ao final do século XIX, quando se deu início a síntese de medicamentos por via química, e conseqüentemente iniciou-se uma fase de desenvolvimento acelerado destes, o uso de plantas medicinais foi reduzido. Nos dias atuais, aproximadamente 50% dos medicamentos utilizados são de origem sintética e cerca de 25% são de origem vegetal, isolados ou produzidos por semi-síntese (CALIXTO, 2000; FULLAS, 2007; MAROYI, 2013; VAN WYK *et al.*, 1997).

O entendimento sobre plantas medicinais muitas vezes é símbolo de padrões terapêuticos em diversas coletividades e gerações. A utilização das plantas no tratamento e na restauração da saúde, é tão antigo quanto a espécie humana. Ainda hoje, nas regiões mais desamparadas de países em desenvolvimento como o Brasil, e até mesmo nas suas grandes metrópoles, é comum o comércio de plantas medicinais em feiras, nos mercados e em domicílios (BEVILACQUA, 2010; FONSECA, 2012).

Com 55 mil espécies já catalogadas, o Brasil possui o título de maior biodiversidade do planeta, o que perfaz a flora profusa do país, correspondendo a 20% do total distribuído pelo mundo. Devido a existência desse bioma exuberante, parte importante da população se beneficia através do uso de plantas medicinais no tratamento alternativo dos problemas de saúde. Entretanto, mesmo com a prática do extrativismo vegetal irregular demasiada, o país mantém-se como fornecedor de matérias primas naturais para a cadeia produtiva em áreas diversificadas (BRASIL, [2020]; FONSECA, 2012).

O olhar atento da população quanto à utilização e eficácia das plantas medicinais contribui expressivamente para a divulgação dos benefícios fisiológicos dos vegetais, prescritos de forma frequente, por razão de suas propriedades medicinais eficientes, mesmo não havendo conhecimento dos seus constituintes químicos.

À vista disso, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm a efetividade da utilização, conservando a validade das informações que foram sendo alcançadas e acumuladas durante muitos anos. De modo indireto, este tipo de conhecimento medicinal aguça o interesse de pesquisadores no desenvolvimento de pesquisas abrangendo múltiplas áreas, como por exemplo, botânica, farmacologia, fitoquímica e tecnologia de alimentos, para que, em confluência, possam contribuir e engrandecer os conhecimentos sobre a infindável fonte medicinal natural, a fauna mundial (MACIEL *et al.*, 2002).

Desse modo, em detrimento do mercado crescente e em virtude do interesse dos consumidores por recursos cada vez mais naturais, se faz necessário o estabelecimento de novas ações direcionadas ao desenvolvimento de tecnologias e elaboração de novos produtos, visando a utilização dessas espécies vegetais de baixo custo, visto que, além de reafirmar valores às plantas medicinais, por seus efeitos curativos, também podem atuar como via de fortalecimento econômico da agricultura familiar.

3.2 Gênero *Acmella*

Segundo Jansen (1985), o gênero *Acmella* foi determinado em 1807 e contém 30 espécies identificadas. No Brasil, o mesmo autor denotou a existência de 10 espécies: *Acmella bellidioides* (Smith in Rees) R.K. Jansen, *A. brachyglossa* Cass., *A. ciliata* (Kunth) Cass., *A. decumbens* var. *decumbens* R.K. Jansen, *A. leptophylla* (DC.) R.K. Jansen, *A. oleracea* (L.) R.K. Jansen, *A. psilocarpa* R.K. Jansen, *A. pusilla* (Hooker & Arnott) R.K. Jansen, *A. serratifolia* R.K. Jansen e *A. uliginosa* (Sw.) Cass.

A planta é uma hortaliça da família *Astraceae*, extensamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, nativa da África, Ásia-tropical e América do Sul e comumente encontrada em países como Venezuela, Brasil, Indonésia e Malásia. Também conhecida como agrião-do-pará, agrião-do-norte, agrião-do-brasil, abecedária, jambuarana, jamburana, é uma planta perene, possui cerca de 20-40 cm de altura, com inclinação semi-ereta ou quase rasteira, caule cilíndrico, carnoso e de ramos decumbentes. A raiz principal é axial, com muitas ramificações laterais (GUSMÃO; GUSMÃO, 2013; HOMMA *et al.*, 2011; LORENZI; MATOS, 2002; PANDEY *et al.*, 2007).

Figura 1 – *Acmella ciliata* (Kunth) Cass.



Fonte: Acervo da autora.

O jambu é uma planta que vem gerando perspectivas positivas para pesquisadores de diversas áreas devido as propriedades biológicas do espilantol. Com isso, seu cultivo tem sido expandido no Brasil, nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais e Piauí. No estado de São Paulo, por exemplo, o cultivo intensificado está diretamente relacionado a extração do óleo essencial, para avaliação da atividade de seus constituintes. Já no Estado do Pará, o cultivo é direcionado para o consumo local, visto que nesta região, a planta faz parte das preparações culinárias típicas (BORGES; GOTO; LIMA, 2014; SAMPAIO *et al.*, 2018).

3.2.1 *Acmella ciliata* (Kunth) Cass.

O cultivo da *Acmella ciliata* tem o ciclo de 45-70 dias, exigindo pouca tecnologia para o manuseio, é muito cultivado entre os pequenos agricultores. Sua germinação ocorre entre 5-7 dias aproximadamente. A colheita, na Região Norte, é realizada entre 35 a 50 dias após o transplante e no Estado do Ceará, a espécie de jambu tem apresentado, geralmente, ciclo de 90 dias (CARDOSO; GARCIA, 1997).

A planta como um todo, produz o espilantol, uma alcalóide que possui efeito sialagogo, e é considerado um potente inseticida e anestésico local. Ela também é utilizada na profilaxia do escorbuto e para facilitar o processo de digestão, além de ser usada como tempero para aperitivos, suas folhas são usadas topicamente no tratamento de doenças da pele, a decocção das folhas é utilizada em razão de suas propriedades diuréticas e litotrópicas, enquanto a planta inteira é usada no tratamento de disenteria e seu extrato é usado como um material aromatizante para dentifrícios (LENG *et al.*, 2011; RAO; RAO; RAO, 2012; SANA; RANI; SULAKSHANA, 2014).

Além da presença de constituintes com atividades biológicas, a planta também possui compostos importantes para uma alimentação saudável e fundamentais na prevenção de doenças. Os vegetais folhosos como o jambu, podem oferecer uma dieta balanceada, tendo em vista seu conteúdo de vitaminas, minerais e fibras alimentares. Apesar disso, somente uma pequena porção desses vegetais comestíveis são consumidos. No Brasil os vegetais folhosos mais conhecidos e consumidos são alface, rúcula, couve, chicória, repolho, espinafre e agrião, com isso o consumo de outras plantas não convencionais se torna negligenciado, desperdiçando-se uma boa fonte de vitaminas e minerais (IPGRI, 2002; KAWASHIMA; SOARES, 2003).

A Tabela 1 apresenta a composição de macronutrientes e micronutrientes do jambu, juntamente com as recomendações da Organização Mundial de Saúde e o percentual que representa (*Spilanthes acmella*).

Tabela 1 – Composição de macronutrientes e micronutrientes presentes no jambu (100g), recomendação (DRIs) e percentual representativo

Macronutrientes	Quantidade em 100 g		
Proteína	1,90 g		
Carboidrato	7,20 g		
Lipídeos	0,30 g		
Valor calórico	32 Kcal		

Micronutrientes	Recomendação (DRIs)	Quantidade (100 g)	%
Cálcio	1.000 mg	162 mg	16,2
Ferro	8 mg / 18 mg	4 mg	50 / 22
Fósforo	700 mg	41 mg	5,85
Vitamina A (Retinol)	700 mcg / 900 mcg	392 mcg	56 / 43
Vitamina B1 (Tiamina)	1,1 mg / 1,2 mg	0,03 mg	2,72 / 2,5
Vitamina B2 (Riboflavina)	1,1 mg / 1,3 mg	0,21 mg	19 / 16
Vitamina B3 (Niacina)	14 mg / 16 mg	1 mg	7 / 6
Vitamina C (Ácido ascórbico)	75 mg / 90 mg	20 mg	26,67 / 22
Fibra alimentar	25g	1,3 g	5

Fonte: World Health Organization; Food and Agriculture Organization (2003); IBGE (2011).

Apesar de numerosos estudos envolvendo o gênero *Acmella* na redução do risco e no tratamento complementar de patologias, ainda podem ser consideradas escassas as investigações quanto as propriedades químicas ou biológicas da espécie *A. ciliata* (AHMED *et al.*, 2012).

3.3 Compostos bioativos

A alimentação usual oferece além de macro e micronutrientes essenciais, alguns compostos químicos, que exercem uma impetuosa atividade biológica, já comprovada por diversas pesquisas científicas. Tais compostos são denominados como compostos bioativos de alimentos (CBA) ou, em algumas vezes, de fitoquímicos. Eles estão presentes em sua maioria nas frutas e hortaliças e são oriundos do metabolismo primário e/ou secundário das plantas. Geralmente, esses compostos bioativos estão relacionados com os sistemas de defesa das plantas contra a radiação ultravioleta, ataque de insetos ou patógenos e podem desempenhar diversos papéis em benefício da saúde humana (CARRATU; SANZINI, 2005; LHOSTE *et al.*, 2004).

Durante muito tempo construiu-se uma relação complexa entre os temas saúde e nutrição. No momento atual, em razão dessa complexidade, os consumidores estão cada vez mais propensos à escolha de alimentos que contenham não só o necessário para a homeostasia efetiva do metabolismo humano, mas também que apresentem compostos com efeitos positivos a longo prazo. A ascensão de evidências, indicam que esses compostos bioativos estão estreitamente associados à saúde humana e à prevenção de doenças (GUERIN; HUNTLEY; OLAIZOLA, 2003; LOBO *et al.*, 2010).

A busca gradativa por compostos bioativos ocorre atualmente nos ramos industriais farmacêuticos e alimentares. Isto é devido ao efeito pressuposto dessas substâncias na prevenção de doenças como o câncer e outras diversas doenças crônicas não transmissíveis, devido a sua capacidade de manter ou melhorar a saúde humana em virtude da presença desses compostos com alta atividade biológica (ARCANJO *et al.*, 2012).

A partir dessa demanda, diversos estudos estão sendo realizados com o objetivo de investigar as diferentes atividades biológicas de compostos bioativos, como por exemplo, as que envolvem o perfil fitoquímico de plantas que possam contribuir com o desenvolvimento e produção de novos gêneros farmacêuticos e alimentícios (GUTIÉRREZ-DEL-RÍO; FERNÁNDEZ; LOMBÓ, 2018).

O perfil fitoquímico dessa variedade de *Acmella*, ainda pode ser considerado pouco investigado. Uma pesquisa qualitativa realizada por Abey Siri *et al.* (2013), em relação aos compostos fitoquímicos, demonstrou a presença de todas as classes de substâncias analisadas (alcalóides, flavonóides, saponinas, glicosídeos esteróides e taninos) conforme ilustrado da Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros fitoquímicos qualitativos de *Acmella oleraceae*

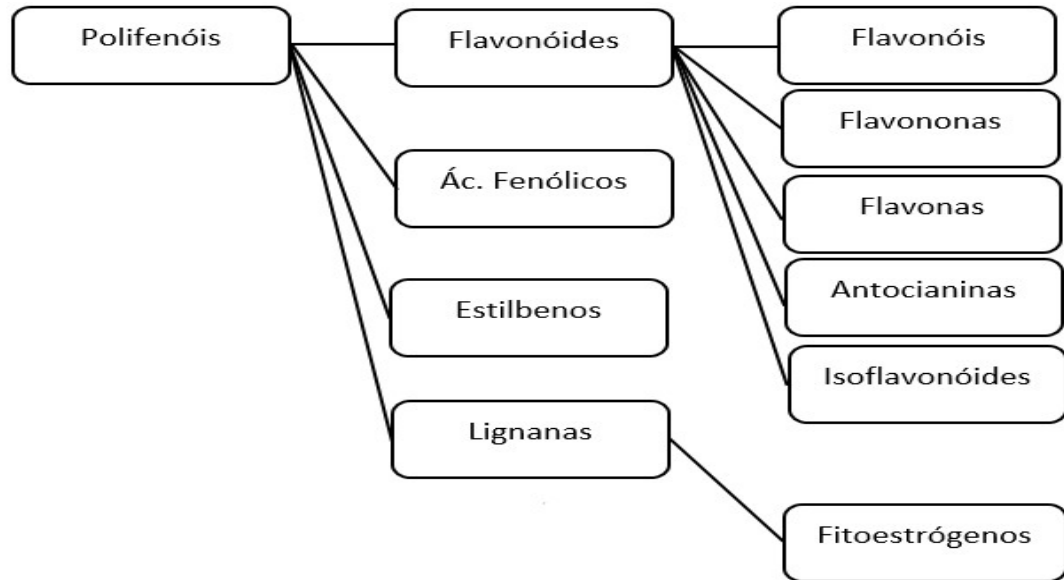
Fitoquímicos	Parte da planta		
	Folha	Haste	Flor
Alcalóides	+	+	+
Flavonóides	+	+	+
Saponinas	+	+	+
Glicosídeos Esteróides	+	+	+
Taninos	+	+	+

Fonte: Abey Siri *et al.* (2013).

+ Presença; - Ausência.

A alimentação saudável posta em prática pode proporcionar aos indivíduos, menores riscos para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, por municiar o organismo com substâncias capazes de exercer atividade protetora, dentre elas os compostos fenólicos. O termo polifenóis ou compostos fenólicos refere-se a um abrangente e volumoso grupo de moléculas amplamente presentes nos vegetais. Trata-se de produtos do metabolismo secundário de origem vegetal que vêm sendo estudados e relacionados à prevenção de diversas patologias, em razão da atividade antioxidante e moduladora do estresse oxidativo que possuem (ANDRÉS-LACUEVA *et al.* 2010; GIADA; MANCINI FILHO, 2006; HU, 2011; LAMARÃO; NAVARRO, 2012).

Figura 2 – Principais classes de compostos fenólicos presentes nos vegetais.



Fonte: Adaptado de Horst; Lajolo (2009).

Estudos apontam evidências que o consumo de vegetais e antioxidantes naturais pode ser utilizado na preservação da saúde humana, em virtude do seu efeito protetor contra várias doenças, incluindo câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Os antioxidantes naturais, quando consumidos em quantidades razoáveis, auxiliam o sistema antioxidante endógeno na proteção contra o estresse oxidativo, além de ajudar na reparação das lesões causadas pela ação das espécies reativas de oxigênio (EROs) (ELMASTAS *et al.*, 2007; SEN; CHAKRABORTY, 2011; SHIRWAIKAR *et al.*, 2011).

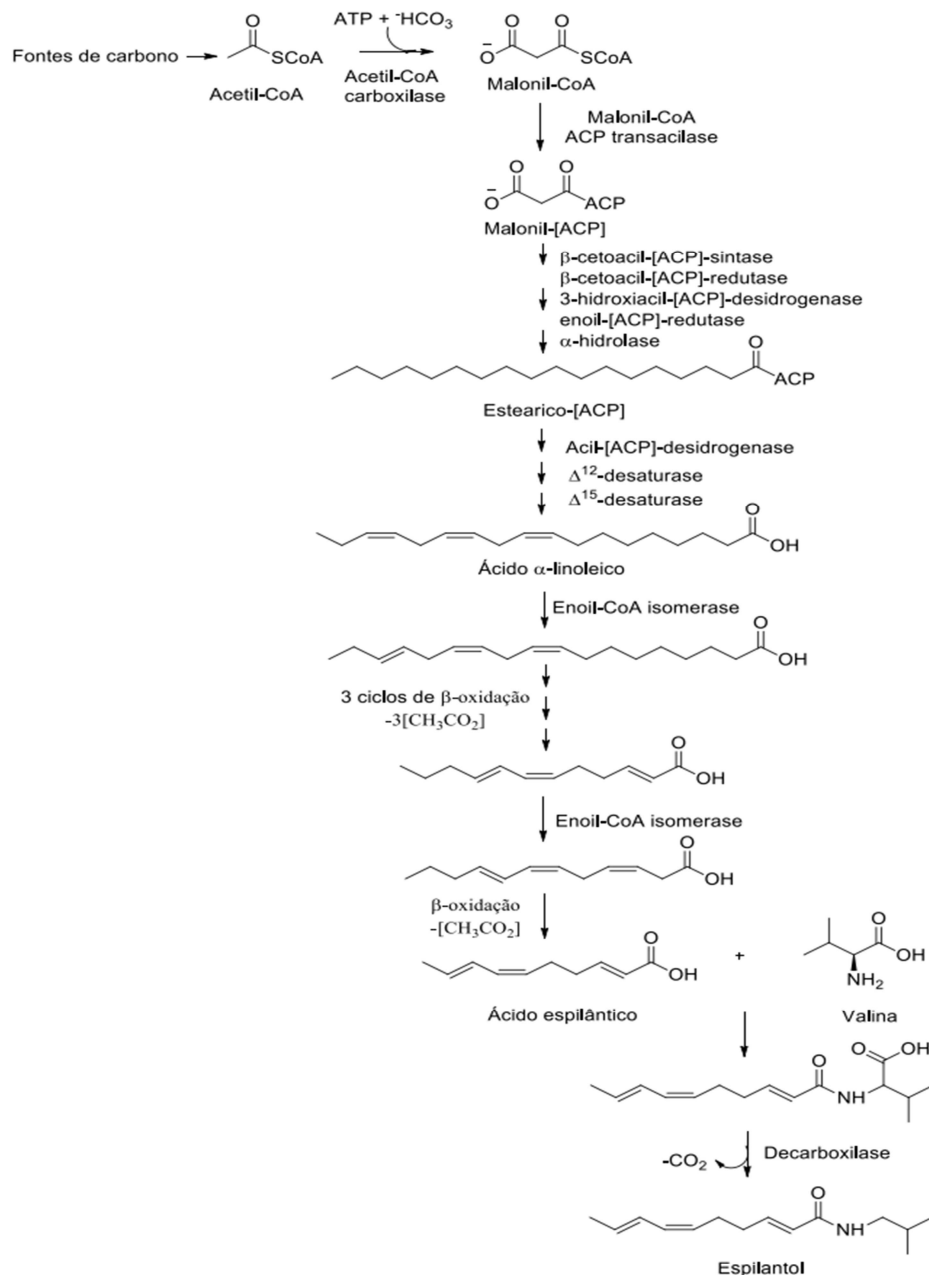
Inúmeras pesquisas já mostraram a relação sinérgica entre compostos fenólicos e a atividade antioxidante de diversas plantas, amplificando a relevância desses compostos no combate ao desequilíbrio oxidação/redução, bem como na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo. Dessa forma, pesquisas com antioxidantes naturais vêm recebendo, ao longo dos anos, sua devida importância para justificar o impulso global no sentido de reconhecimento e utilização de antioxidantes naturais (SEN *et al.*, 2010).

3.4 Espilantol

As pesquisas que estudam as atividades biológicas do jambu, referem-se ao espilantol como principal bioativo. O espilantol é uma alquilamida (alcalóide), presente no gênero *Acmella* encontrado em todas as partes da planta e em maior concentração nas inflorescências. Biossinteticamente, o espilantol é composto a partir de um ácido α -linolênico e do aminoácido valina, o que lhe confere o caráter hidrofílico e lipofílico em razão da presença

da amida relativamente polar e do ácido graxo menos polar. Diversas espécies que contêm alquilamidas têm sido usadas em medicamentos tradicionais, como é o caso das famílias Asteraceae, Solanaceae e Piperaceae. Portanto, a utilização dessas plantas para fins medicinais se deve ao espilantol, sendo este citado como o componente responsável pela bioatividade das mesmas (ALBUQUERQUE; LEITE, 2020; NAKATANI; NAGASHIMA, 1992; PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2016). A Figura 3 mostra a representação da estrutura química do espilantol.

Figura 3 – Representação da rota biossintética do espilantol (N-isobutil-2E, 6Z, 8E-decatrienamida)



Fonte: Silveira (2016).

Várias atividades biológicas já foram atribuídas ao espilantol, entre elas, atividade analgésica (CILIA-LÓPEZ *et al.*, 2010), antinociceptivo (DÉCIGA-CAMPOS *et al.*, 2010) anti-ansiolítico (DÉCIGA-CAMPOS *et al.*, 2012), anti-inflamatório (WU *et al.*, 2008), antimutagênico (ARRIAGA-ALBA; RIOS; DÉCIGA-CAMPOS, 2013), antifúngica e bacteriostática (MOLINA-TORRES *et al.*, 2004), inseticida (SHARMA; KUMAR, 2013), anti-parasitário (SPELMAN *et al.*, 2011).

Em virtude da bioatividade pertinente ao jambu, algumas patentes já foram registradas ao redor do mundo e o interesse da indústria por tais atividades, cresceu substancialmente nas últimas décadas, o que incentivou o cultivo em vários países (GREGGER, 2016).

3.5 Compostos antioxidantes

Grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas em todos os organismos aeróbicos. Essas EROs, quando presentes em níveis altos, são consideradas nocivas à várias organelas celulares, bem como às biomoléculas de DNA, lipídios, açúcares e proteínas, podem provocar uma reação de lipoperoxidação que, através da propagação em cadeia, danifica as membranas e provoca alterações nas funções celulares e teciduais normais, além de contribuir para muitos processos patológicos, incluindo oncogênese e doenças do coração e podem também acelerar o processo de envelhecimento (CLINTON; GIOVANNUCCI, 1998; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1999; HÜPPI, 2009; KRIS-ETHERTON *et al.*, 2002).

O estresse oxidativo se dá a partir de um desbalanço entre a resposta antioxidante do organismo e a produção exacerbada de EROs. Deste modo, uma ingestão insuficiente de antioxidantes pode ser a causa dessa condição. A partir disso, observamos que, em estudos dietéticos, o consumo desses antioxidantes alimentares deve sempre estar em evidência (CHOW, 1991).

Os principais antioxidantes presentes nos alimentos são algumas vitaminas, polifenóis e carotenoides. Os antioxidantes agem combatendo o estresse oxidativo causado pelas EROs, os radicais livres e o oxigênio singlete e desse modo conseguem reduzir as chances de danos nas moléculas, bloqueando reações de propagação através da quebra de reações em cadeia, pois possuem uma boa capacidade de sequestrar os radicais livres, bem como de inativar o oxigênio singlete (BERNARDES; PESSANHA; OLIVEIRA, 2010).

Em pesquisa sobre ação antioxidante de extratos de *Acmella uliginosa*, Lagnika *et al.* (2016), observaram que, os extratos metanólicos e aquosos apresentaram uma considerável atividade sequestradora de radicais livres que, conforme a autora, se deve à presença de compostos fenólicos como as cumarinas e taninos nesses extratos. Abeysiri *et al.* (2013), analisando as características fitoquímicas, físico-químicas e bioativas de extrato metanólico de diferentes partes de *Acmella oleraceae* Murr. (Asteraceae), observou uma capacidade antioxidante total significativamente alta, nos extratos de folhas e flores da planta. Segundo o autor a presença de maior teor de fenólicos e capacidade antioxidante nessas regiões certifica cientificamente a utilização dessa planta em benefício humano.

3.6 Atividade antimicrobiana

Os óleos essenciais (OEs) das plantas, geralmente são constituídos por compostos aromáticos voláteis que conferem a essas plantas muitas funções biológicas, como por exemplo a atividade antimicrobiana e antifúngicas, já bem estabelecidas na literatura. Essa atividade contra várias espécies de micro-organismos faz com que os OEs sejam conceituados como uma opção relevante na substituição de antimicrobianos de uso tradicional (SANTOS; PICCOLI; TEBALDI, 2017; SARTO; ZANASSO JÚNIOR, 2018).

De acordo com os resultados obtidos por Rincón Mejía, Castaño Osório e Vázquez (2012), a análise da atividade antimicrobiana de extrato de *Acmella ciliata*, contra os micro-organismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *S.epidermidis* (CIP8039), *Staphylococcus aureus* e um Gram-negativos: *Escherichia coli* (CIP 53126), demonstrou sensibilidade frente aos micro-organismos e por sua vez inibiu o crescimento das bactérias.

Rani e Murty (2006), avaliaram os efeitos de extrato de flor de *Spilanthes acmella* em concentrações distintas contra os fungos: *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium moniliformi* e verificaram que em todas as concentrações utilizadas no ensaio, houve inibição de ambas as espécies, sendo constatados halos de inibição de metragem significativa nas espécies *F. oxysporium*, *F. moniliformis*, *A. niger* e *A. parasiticus* progressivamente.

Os resultados acima descritos corroboram com os dados observados por Sathyaprasad *et al.* (2015), onde foi observado que, a *Spilanthes acmella* possui uma notável atividade contra patógenos.

3.7 Bioacessibilidade

A bioacessibilidade de um nutriente é a quantidade máxima do mesmo que consegue chegar ao lúmen intestinal para ser absorvido, e posteriormente atingir a circulação sanguínea. Os ensaios de bioacessibilidade *in vitro* são realizados com base na fisiologia do trato gastrointestinal (TGI) e recriam o ambiente de digestão humana. Para isso, utilizam-se soluções artificiais compostas de enzimas, aminoácidos, sais e ácido clorídrico, simulando as soluções liberadas em cada fase de digestão no TGI (FERNÁNDEZ-GARCÍA; CARVAJAL-LÉRIDA; PÉREZ-GÁLVEZ, 2009).

As substâncias bioativas presentes nos alimentos conseguem agir de diferentes formas, tanto em seus alvos fisiológicos como nos mecanismos de ação. Um estudo completo sobre a atividade biológica dessas substâncias deve envolver, entre outros critérios, a bioacessibilidade, que representa a liberação de um determinado composto de sua matriz alimentar, tornando-o acessível para a absorção e mantendo sua estabilidade durante o processo de digestão (COZZOLINO, 2016).

Os testes de bioacessibilidade *in vitro* são largamente utilizados quando comparados aos testes *in vivo*, uma vez que possuem execução simplificada, são menos dispendiosos e realizáveis em menor tempo. Através desse teste pode-se analisar o benefício ou risco relacionado a diferentes substâncias inerentes aos alimentos. Dessa forma, os ensaios de digestão *in vitro* colaboram para uma melhor compreensão da liberação dos nutrientes no TGI bem como de sua absorção (CARDOSO *et al.*, 2015; INTAWONGSE; DEAN, 2006; MOREDA-PIÑEIRO *et al.* 2011; PEREIRA *et al.*, 2018; TOKALIOĞLU *et al.*, 2014).

3.8 Alimentos funcionais

A definição de “alimentos funcionais” ocorreu primeiramente no Japão, na década de 1980, onde foram designados como alimentos para utilização específica em saúde. Vale realçar que, apenas no Japão, os “alimentos funcionais” tem definição estabelecida por lei, baseando-se na relação de entendimento alimento-saúde e recebem certificado de segurança de uso. Alguns países como Austrália, Canadá e Estados Unidos também classificaram como funcionais, alimentos e componentes alimentares naturais que comprovadamente beneficiam o organismo humano através de efeitos fisiológicos e revertam condições que comprometam a saúde (GRANATO *et al.*, 2010; JONES; VARADY, 2008).

Alimentos funcionais são classificados de acordo com as funções metabólicas e/ou fisiológicas exercidas. Segundo Roberfrid (2000), para que seja classificado como funcional, o alimento precisa apresentar de forma convincente, efeitos benéficos em uma ou mais funções do organismo, adaptando-se a nutrição e, à sua maneira, reduzindo o risco de doenças e proporcionando saúde e bem estar. No Brasil, essa especificação deriva da “alegação de propriedade funcional” e não estabelece o alimento funcional propriamente dito (BRASIL, 1999).

Dessa forma, alimentos funcionais podem ser considerados como aqueles que colaborem com a prevenção de distúrbios homeostáticos, promovendo saúde por intermédio de ações ou efeitos que vão além da nutrição básica.

De acordo com Salgado (2017), existe uma exigência crescente de consumidores buscando alimentos que possuam características sensoriais agradáveis e que tragam benefícios à saúde, preferencialmente por meio da prevenção de doenças. Segundo a autora, este fato resulta da cuidado dos consumidores na tentativa de amenizar o risco para o desenvolvimento de patologias associadas a transformação dos hábitos alimentares da população ocorrida nas últimas décadas.

Além disso, o baixo índice de doenças nem alguns grupos populacionais despertou interesses para o entendimento da relação entre alimentação e saúde. Os orientais, com intenso consumo de soja, rica em fitoestrógenos, apresentando baixo índice de câncer de mama. Os esquimós, com o consumo predominante de peixes fontes de ômega 3 e 6, e os franceses com o consumo habitual de vinhos, têm baixa incidência de problemas cardíacos. Além disto, frutas e verduras são consumidas em prevalência, culminando em excelentes desfechos na redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e oncológicas, já comprovados por pesquisas epidemiológicas (ANJO, 2020).

Portanto, é de especial interesse que a indústria de alimentos busque inovar na elaboração de produtos, incentivando a investigação de compostos bioativos, bem como de outras pesquisas que viabilizem o uso desses compostos em alimentos e dessa forma possibilite ao consumidor uma maior multiplicidade de produtos à sua escolha, respondendo de forma hábil a demanda do mercado.

3.9 Análises físico-químicas (CLAE, CG-EM)

A cromatografia é um método físico-químico de separação que consiste na passagem dos constituintes de uma amostra após diferentes interações, entre duas fases que não

se misturam, fase estacionária e fase móvel. A partir da heterogeneidade entre essas fases, pode-se analisar uma diversidade de compostos e realizar estudos como a avaliação da conformidade de produtos farmacêuticos, identificar fraudes em alimentos, como azeite de oliva e leite, por exemplo (CARVALHO *et al.*, 2007).

Diversos métodos de separação vêm sendo utilizados para isolar, quantificar e qualificar compostos químicos presentes em uma determinada matriz. Entre esses métodos destacam-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-MS). Por meio do isolamento, quantificação e qualificação dos compostos, pode-se definir as técnicas cromatográficas como multivalentes e com significativa aplicação (DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998; PERES, 2002).

Diante disso, observa-se que os métodos físico-químicos são de fundamental importância para as análises qualitativas e quantitativas em diversos processos industriais e pesquisas científicas (LOPES; FASCIO, 2004).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material vegetal e produção do extrato

O material vegetal, *Acmella ciliata*, foi coletado em uma horta comunitária localizada no bairro Lagoa Redonda na cidade de Fortaleza – CE, sob as coordenadas - 3.811899, -38.446418. A planta foi identificada, e uma exsicata foi depositada no Herbário Prisco Bezerra (EAC) da Universidade Federal do Ceará sob o número EAC 62377.

Figura 4 – Classificação botânica do material vegetal (*Acmella ciliata* (Kunth) Cass.)



Fonte: Herbário Prisco Bezerra (2019).

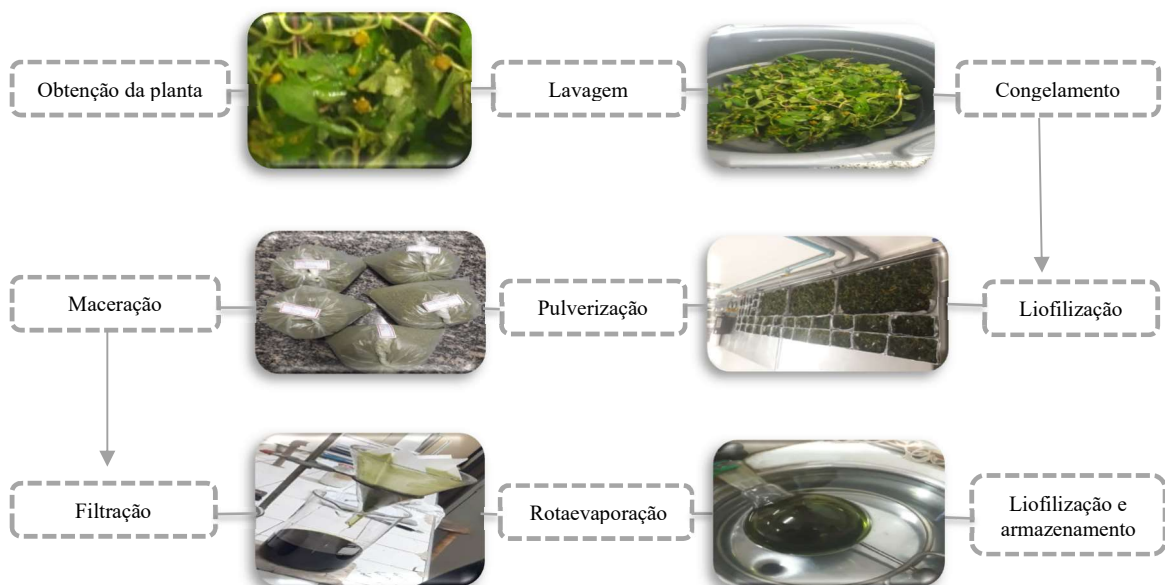
Após a coleta, as plantas (5kgs de planta fresca) foram transportadas para o Laboratório de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal do Ceará, onde foram lavadas em água corrente para retirada de resíduos. Em seguida, partes aéreas (folhas, caules e capítulos florais) da planta foram juntamente submetidas ao congelamento a -50°C e liofilizadas a -50°C sob vácuo de 5mTorr (9,67 x IO5 psi) em secador Labconco Freeze Dry-5 (Labconco, MO) até secagem completa (RODRIGUES *et al.*, 2006).

Para a obtenção do extrato, a metodologia utilizada foi a descrita por Yamane (2016) com modificações. O material previamente selecionado e liofilizado, foi pulverizado em um Termomix Yammi (SPM-018) até a obtenção de um pó fino (480g).

O material resultante foi submetido ao procedimento de extração etanólica, ficando em repouso em solução etanólica 96% durante 5 dias, ao abrigo de luz, na concentração 1:5 (matéria prima: solvente). A solução extrativa resultante foi filtrada sob vácuo em funil de Büchner com papel de filtro e depois concentrada utilizando um evaporador rotativo (TECNAL – TE/211, Brasil).

Após concentração, o material foi liofilizado e pesado, resultando em 22,8g de extrato etanólico bruto de jambu e foi acondicionado em recipiente de vidro âmbar, estéril e mantido em freezer convencional (-12 ° C) ao abrigo de luz, até o momento das análises. O processo de obtenção do extrato etanólico de jambu está brevemente descrito na Figura 5.

Figura 5 – Fluxograma demonstrativo do processo de obtenção do EEJ (*Acmella ciliata*)



Fonte: A autora.

4.1.2 Rendimento do extrato

No cálculo do rendimento do extrato, foi utilizado o peso da planta seca e o peso do extrato liofilizado. Os valores foram inseridos na equação abaixo, conforme Rodrigues *et al.* (2011).

$$R (\%) = EL/PS \times 100$$

Onde,

R = Rendimento global do extrato (%);

ES = Peso do extrato liofilizado (g);

PS = Peso da planta seca (g).

4.2 Caracterização do extrato

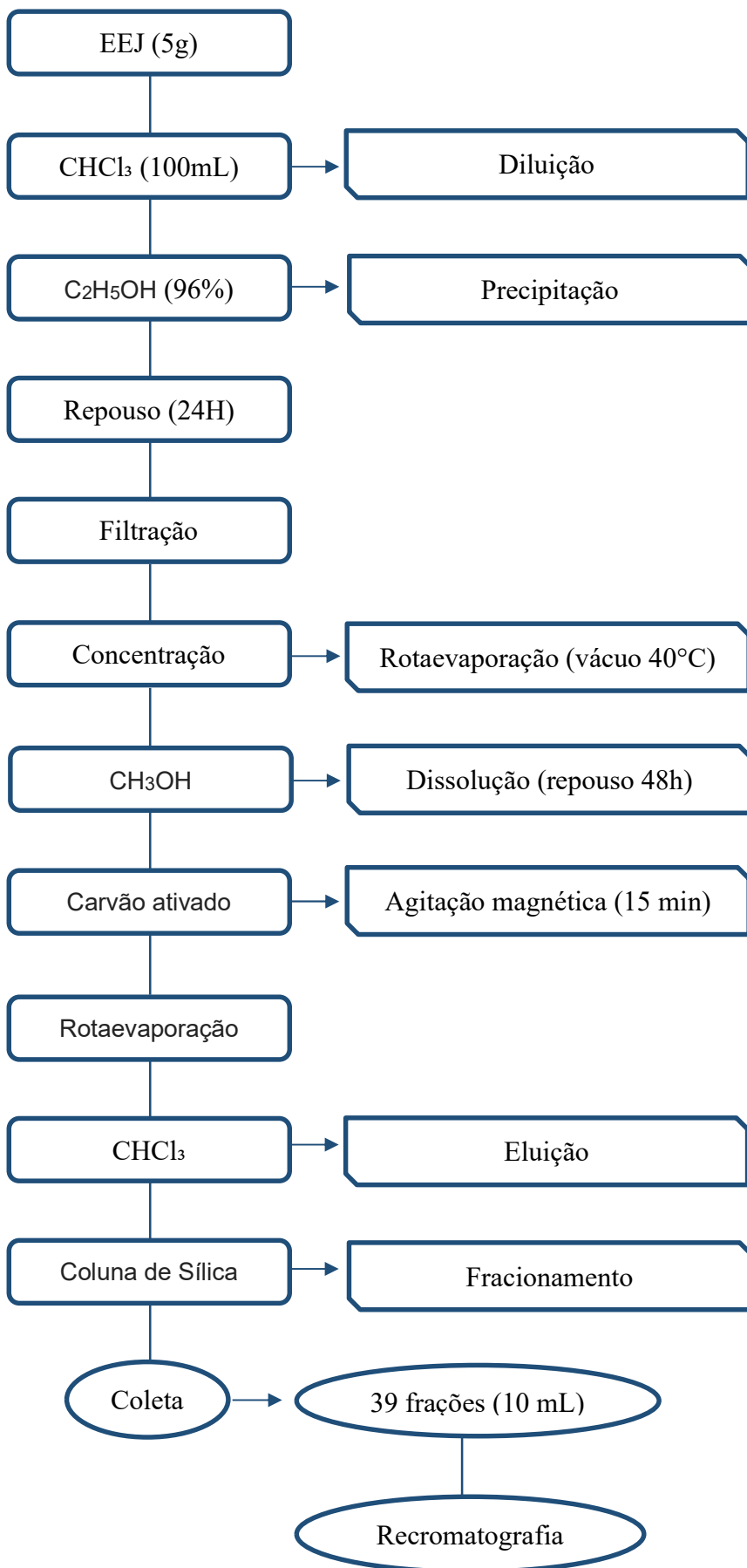
4.2.1 Química, equipamentos e procedimentos gerais

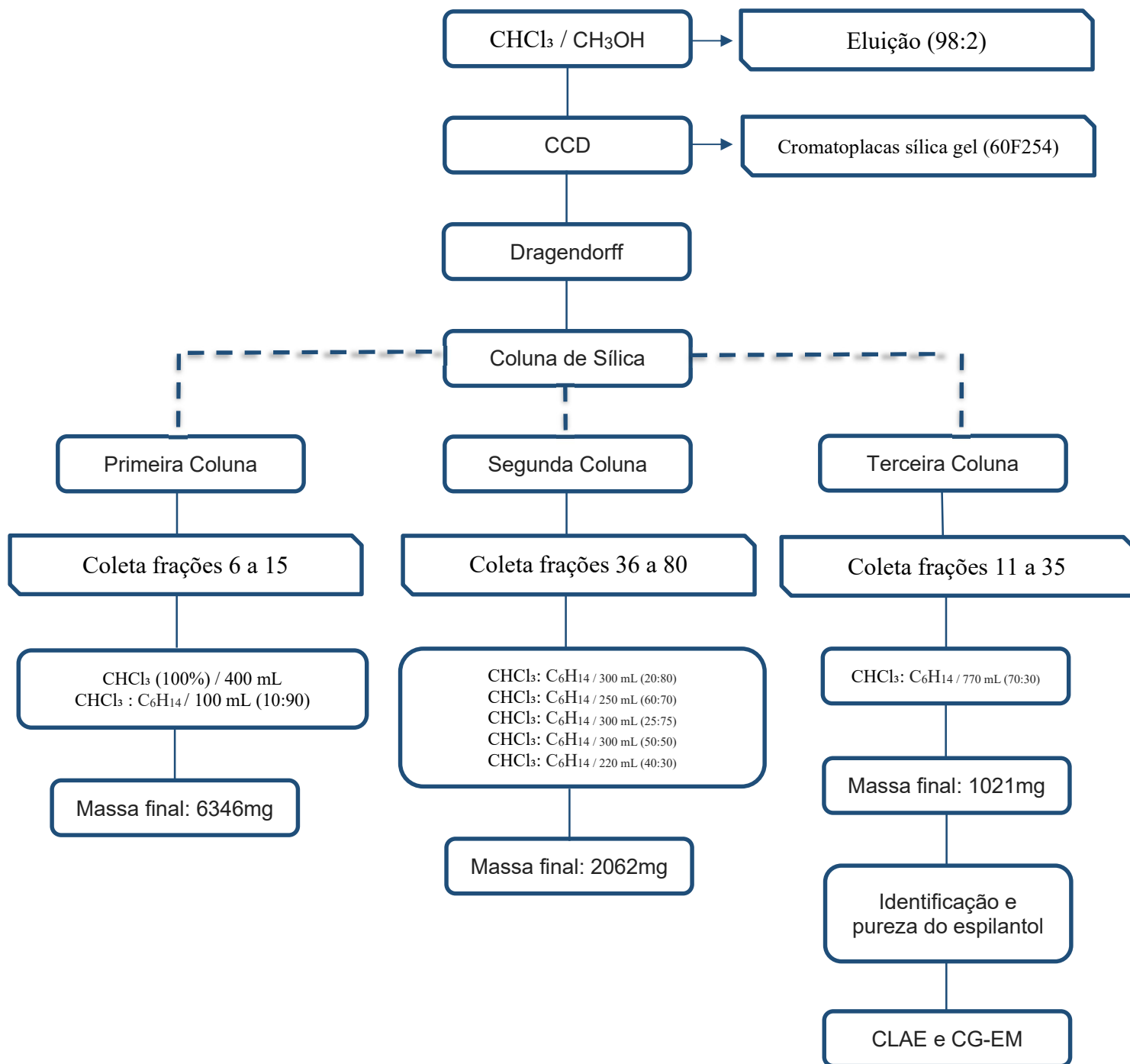
O isolamento do padrão de espilantol foi realizado no Laboratório de Análises Cromatográficas e Espectrocópicas da Universidade Estadual do Ceará (LACES) localizado na cidade de Fortaleza-Ceará-Brasil. A caracterização química foi realizada comparando os cromatogramas obtidos por GC-MS com dados da literatura. Os solventes usados para a extração foram de grau analítico (Vetec®), e nas análises por CLAE foram utilizados solventes de grau CLAE (J.T. BAKER®). A água foi purificada com um sistema (Direct-Q 3 UV). Todas as amostras e soluções preparadas para análises por CLAE foram filtradas em membrana de náilon de 0,45 µm e filtro de membrana de 0,22 µm (Millipore), respectivamente, antes do uso. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.2 Isolamento, quantificação e identificação do espilantol

O espilantol, principal substância bioativa da planta, está disponível comercialmente, no entanto, é vendido com uma pureza isomérica de 80% a valores significativamente altos, chegando a custar \$ 250,00 para 1 mg ou \$ 2.400,00 para 10 mg (SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, 2020). Portanto, para a realização da análise de quantificação, foi utilizado um padrão de produção própria, e realizados procedimentos de identificação e isolamento de acordo com a metodologia descrita por Boonen *et al.* (2010) com modificações, conforme descrito no fluxograma de fracionamento e identificação do espilantol (Figura 6).

Figura 6 – Fluxograma de fracionamento e identificação do espilantol





Fonte: Elaborado pela autora.

O epilantol foi isolado do EEJ por sistema de CLAE semi-preparativo. O sistema de CLAE consistia em um Cromatógrafo Líquido Shimadzu SPD-10AVP (Shimadzu Corporation, Tóquio, Japão), com um detector UV-VIS, conectado a um computador executando o software LC solução 1.22 SP1 e as seguintes condições cromatográficas: coluna Supercosil LC-18 (250x10mm, 5µm), tempo de execução 15min, comprimento de onda 254nm, taxa de fluxo 5,00 mL / min, metanol de fase móvel (70%) com 30% de água deionizada, o extrato etanólico de jambu (17,8mg) dissolvido em metanol (10mL), que a solução foi filtrada através de um filtro de membrana de 0,45 µm antes da injeção (BOONEN *et al.*, 2010).

As curvas de calibração dos padrões foram construídas (no Microsoft Office Excel 2010) por meio da média das áreas de picos *versus* as concentrações utilizadas.

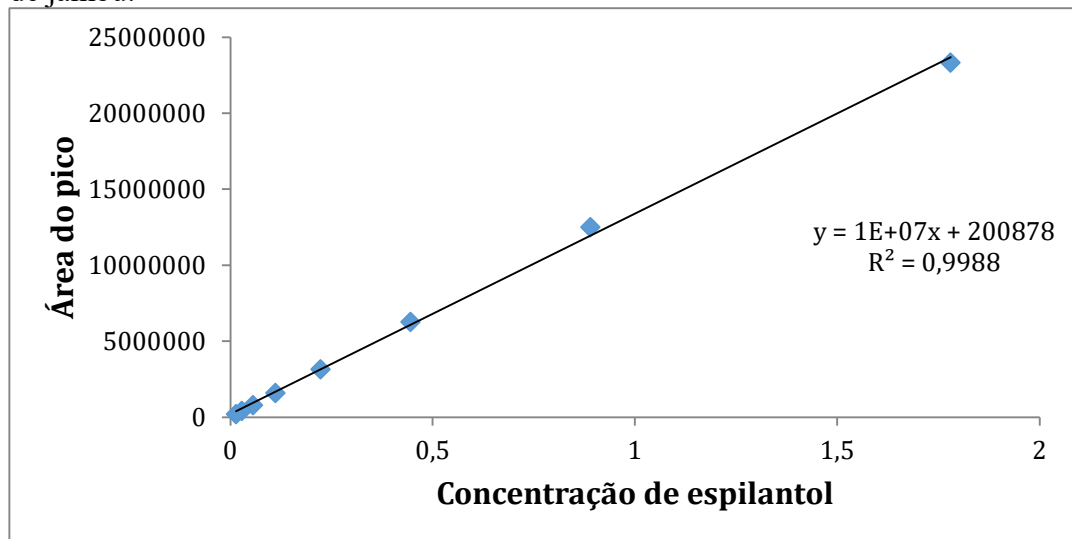
A curva de calibração com a equação para quantificação de epilantol do extrato analisado está representada na Figura 7. O coeficiente de correlação (R^2) obtido foi de 0,9988, indicando comportamento linear na faixa de concentração avaliada. A equação da reta obtida por regressão linear conforme a Equação 1: $Y = 1 \times 10^7 x + 200878$

Onde,

Y = área dos picos;

x = concentração de epilantol (mg/mL).

Figura 7 – Curva de calibração utilizada na quantificação de epilantol no extrato de jambu.



Fonte: A autora.

A Cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE-DAD) foi realizada com um sistema CLAE Shimadzu Prominence Auto Sampler (SIL-20A) (Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com bombas recíprocas Shimadzu LC-20AD conectadas a um degaseificador DGU 20A5 com um CBM 20A integrador, detector de matriz de diodos SPD-M20A e solução LC 1.22 SP1 software. As análises cromatográficas foram realizadas usando uma coluna de fase reversa Shim-pack CLC-ODS (M) (250x4,6 mm, 5 μ m). A vazão foi de 1,0 mL / min, com volume de injeção de 20 μ L e comprimento de onda de 254nm. A solução estoque de espilantol de referência padrão foi preparada no metanol CLAE na faixa de concentração de 0,0139-1,78mg / mL, também eluída com um sistema de fase móvel isocrática, que consiste em fases móveis de metanol e água deionizada (70:30, v / v), B e A correspondentemente (BOONEN *et al.*, 2010).

Os picos das cromatografias foram confirmados comparando seu tempo de retenção com o do padrão de referência e por espectros DAD (254 nm). O EEJ foi analisado por dissolução em metanol a uma concentração de 20,00mg / mL.

A análise química dos constituintes do óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-MS) com um cromatógrafo Shimadzu QP-2010 Ultra empregando as seguintes condições: coluna Rtx-5MS (Crossbond 5%, difenil / 95% dimetil polissiloxano) com 30m x 0.25 mm x 0.25 μ m df; gás de arraste He (24,2 mL/min, no modo de velocidade linear constante); a temperatura do injetor foi de 250 °C, em modo split (1: 100), e a temperatura do detector foi de 250 °C. A temperatura da coluna foi programada para 35–180 °C a 4 °C / min, depois 180–280 °C a 17 °C / min e a 280 °C por 10 min; espectro de massa: impacto de elétrons 70 eV. A amostra foi injetada em volume de 1 μ L (Barros *et al.*, 2015).

Os compostos foram identificados por seus tempos de retenção relativos em CG a compostos conhecidos e por comparação de seus espectros de massa com aqueles presentes no banco de dados do computador (NIST) e na literatura publicada (SPARKMAN, 2005).

Com os resultados das áreas obtidas a partir do CG-MS, foi realizada a identificação do espilantol a partir das fragmentações apresentadas no gráfico do espectro.

4.3 Determinação dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH e ABTS)

As análises de compostos fenólicos totais foram realizadas no Laboratório de Frutos e Hortaliças do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

Os polifenóis totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, Saint Louis, EUA), conforme metodologia descrita por Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997) através da leitura do extrato bruto em um espectrofotômetro (Shimadzu, modelo UV-1800) a 700 nm. A análise foi feita em triplicata, sendo utilizada uma curva padrão preparada com ácido gálico como referência. Os resultados estão expressos em microgramas de ácido gálico por miligrama de extrato.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelos métodos ABTS^{·+}, e DPPH. O extrato utilizado para as análises foi o mesmo utilizado para a determinação de polifenóis totais.

A análise de sequestro do radical ABTS^{·+} foi realizada de acordo com o método desenvolvido por Miller *et al.* (1993) adaptado por Rufino *et al.* (2007). Foi preparada uma solução catiônica de ABTS misturando-se partes iguais (v:v) de solução de ABTS 7mM e persulfato de potássio 145mM que ficou reagindo ao abrigo de luz e em temperatura ambiente por 12 a 16 h antes do uso. Após a formação do radical ABTS^{·+} a solução foi diluída com etanol e posteriormente, foram adicionados 30 µL de amostra a 3 ml de ABTS^{·+}. A determinação da absorbância da amostra foi realizada após 6 minutos de reação através de leitura em espectrofotômetro de marca SHIMADZU (UV- 1800). Como antioxidante padrão, foi utilizado como referência o Trolox. Os resultados foram expressos como Atividade antioxidante Equivalente ao Trolox - (TEAC) (ácido 2- carboxílico -6- hidroxí -2,5,7,8 - tetrametilcromano), em µM/g de amostra.

A análise de captura do radical DPPH foi realizada através da metodologia descrita por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995), com modificações. Alíquotas de 0,5mL do extrato foram colocadas em tubos de ensaio diferentes, contendo 5,5mL da solução de DPPH em metanol (0,1M). Posteriormente, os tubos ficaram em repouso, ao abrigo de luz, e ao final de 15, 30, 45 e 60 minutos, a absorbância foi aferida. A capacidade de capturar o radical, foi expressa através do cálculo do valor do EC₅₀ (quantidade de amostra suficiente para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH).

4.4 Determinação da atividade antimicrobiana – Difusão em ágar

O potencial antimicrobiano foi avaliado por meio do método qualitativo de difusão em ágar de acordo com a metodologia descrita por Porfirio *et al.* (2009), com breves adaptações e seguindo-se as recomendações do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) (CLSI, 2017).

As análises supracitadas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará. As cepas foram fornecidas pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LMA) da Universidade Federal do Ceará (Fortaleza/CE). Os microrganismos foram escolhidos por sua importância para a indústria de alimentos e são representantes de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, respectivamente.

As culturas bacterianas utilizadas foram: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Salmonella Enteritidis* IAL 1132, *Pseudomonas aeruginosa* IAL 1026 e *Staphylococcus aureus* ATCC 27664 e ATCC 25923 a partir do método de difusão em ágar adaptado de acordo com a CLSI (2017). As cepas bacterianas foram cultivadas em ágar tripcase de soja (TSA/Difco) a 35 ° C por 24 horas. Posteriormente, colônias foram separadas entre 1 e 2 mm de diâmetro e em seguida transferidas para tubos contendo 5 ml de caldo tripcase de soja (TSA/Difco), após este processo, foram incubadas a 35 ° C por 24 horas. A concentração do inóculo utilizada foi 10⁸ UFC/ml.

As suspensões bacterianas foram inoculadas em placas de Petri contendo meio de cultura ágar Müeller Hinton, através da técnica de espalhamento em superfície com o auxílio de um swab. Posteriormente, foram realizadas microperfurações com capacidade aproximada para a inserção de 50µL de solução teste, de acordo com a metodologia descrita por Porfírio *et al.* (2009), com breves adaptações. O extrato foi inserido nas perfurações, em duplicata, e posteriormente as placas foram incubadas a 37 ° C por 24 a 48 horas. A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada pela medição do halo de inibição do crescimento microbiano, considerando-se como atividade antimicrobiana as concentrações que apresentaram halos com milimetragem ≥ 8 mm. A concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada a menor concentração utilizada em que se observou halo de inibição com milimetragem ≥ 8 mm (PALMEIRA *et al.*, 2010).

4.5 Toxicidade – Zebrafish (*Danio rerio*)

Para a análise de toxicidade, foram utilizados zebrafish (*Danio rerio*) adulto (ZFa), selvagens, ambos os sexos com idade de 60-90 dias, tamanhos de 3.5 ± 0.5 cm e peso 0.4 ± 0.1 g, adquiridos na Agroquímica: Comércio de Produtos Veterinários LTDA, fornecedor localizado na cidade de Fortaleza (Ceará, Brasil). Um grupo de 32 peixes foi aclimatados por 24 horas em aquários de vidro (40 x 20 x 25 cm), contendo água desclorada (anticloro ProtecPlus[®]) e bombas de ar com filtros submersos, a 25 ° C e pH 7.0, com ciclo cicardiano de

14:10 horas de claro/escuro. Os peixes receberam ração (*Spirulina*[®]) *ad libitum* 24 horas antes dos experimentos. Após a realização dos experimentos, os peixes foram sacrificados por imersão em água gelada (2-4 °C), durante 10 minutos, até a perda da mobilidade opercular (CONCEA, 2018). Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC), sob protocolo nº 5639090320.

A análise de toxicidade por zebrafish foi realizada a partir da metodologia proposta por Magalhães *et al.* (2017). No momento do experimento, os animais foram selecionados de forma aleatória, transferidos para uma esponja úmida e tratados com as amostras testes ou controle, por via oral (*v.o.*) (COLLYMORE; RASMUSSEN; TOLWANI, 2013). Em seguida, os animais foram acondicionados individualmente em copos de vidro (250 mL) contendo 150 mL de água do mesmo aquário para repouso. Para os tratamentos via oral foi usada pipeta automática variável de 20 µL com ponteiros estéreis.

4.5.1 Atividade locomotora (Teste de Campo Aberto)

O teste de campo aberto foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Ahmad e Richardson (2013), com o objetivo de analisar possíveis alterações ou não na atividade locomotora, seja por sedação e/ou relaxamento muscular dos animais, conforme ilustrado na Figura 7. Inicialmente, os animais (n=8/gupo) foram tratados com 20 µL, via oral, de extrato etanolico de jambu nas concentrações de 500 ppm, 1.000 ppm e 1.500ppm, e o grupo controle com água destilada estéril.

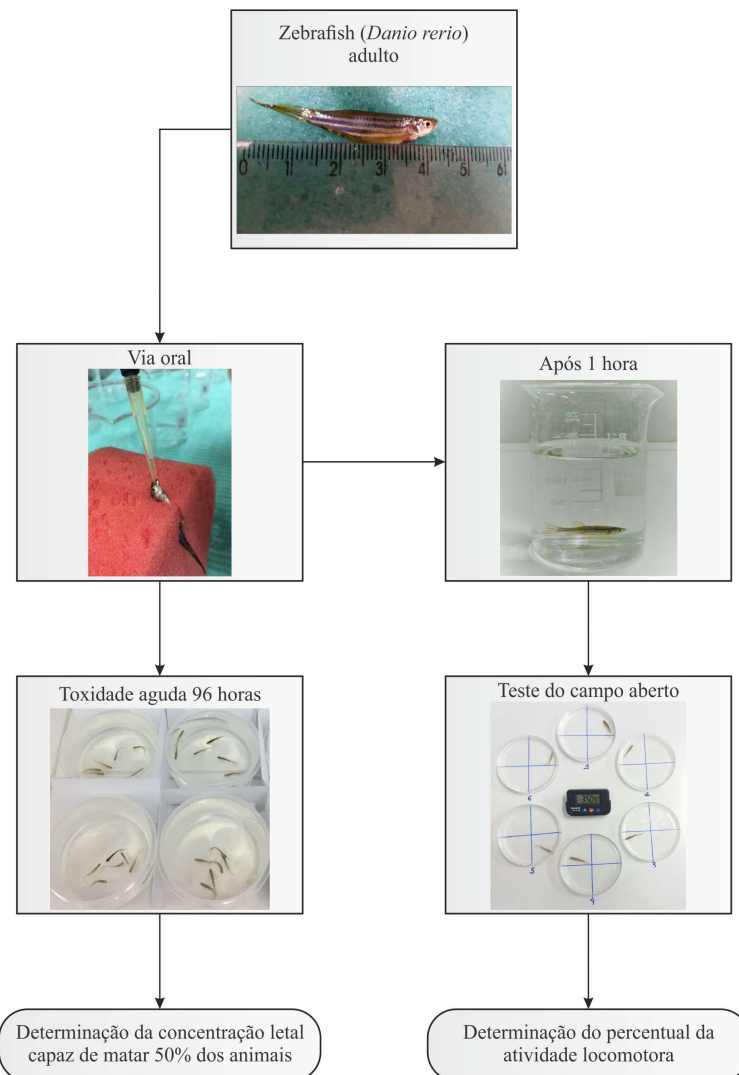
Um grupo de animais sem tratamentos foi incluído (Naive). Após 1 hora dos tratamentos, os animais foram realocados em placas de Petri de vidro (10 x 15 cm), contendo a mesma água do aquário, marcadas com quatro quadrantes e avaliada a atividade locomotora através da contagem do número de cruzamento de linhas (CL). Fundamentando-se com o valor do CL do grupo Naive (100%), foi calculado o percentual de atividade locomotora (AL%) de forma individual durante 0-5 minutos.

4.5.2 Toxicidade aguda 96 h

O teste de toxicidade aguda foi realizado com zebrafish (*D. rerio*) adulto, de acordo com a metodologia proposta pela *Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) (OECD, 1992) e Huang *et al.* (2014) com algumas adaptações. Os peixes (n=8/cada)

foram tratados com 20 μ L, via oral, de extrato etanólico de jambu (500 ppm, 1.000 ppm e 1.500ppm), e o controle com 20 μ L água destilada estéril e deixados em repouso para a avaliação da taxa de mortalidade. Após 96 horas dos tratamentos, foi observado a existência ou não de peixes mortos em cada grupo e determinado a concentração letal capaz de matar 50% dos animais (CL_{50}) através da metodologia matemática Trimmed Spearman-Kärber com intervalo de confiança de 95% (ARELLANO-AGUILAR *et al.*, 2015).

Figura 8 – Fluxograma da avaliação de toxicidade por zebrafish



Fonte: Magalhães (2017).

4.6 Aplicação do extrato em gelatina vegetal

A gelatina é um produto de origem animal, obtido a partir de um prévio processamento físico-químico do colágeno oriundo de bovinos e suínos, amplamente utilizado em elaborações alimentícias. No Brasil, a produção pouco dispendiosa e o retorno financeiro considerável, faz com que sua produção seja realizada em grandes proporções. O produto é comercializado com diversos sabores e cores, sendo bem aceito pela população, por ser um alimento de fácil preparo e atraente, principalmente para o público infantil. Contudo, a composição desse tipo de alimento, o encaixa na categoria de ultraprocessado, contendo ingredientes pouco usados nas preparações culinárias (número de ingredientes ≥ 5), como aditivos, corantes, adoçantes e saborizantes artificiais (ALMEIDA; VANALLE; SANTANA, 2012; BRASIL, 2014; FREITAS; MELNIKOV, 2006; NOVADZKI; ROSÁRIO FILHO, 2006).

A utilização de aditivos alimentares pela indústria, garante o provimento de maior vida útil ao alimento, preservando-o por um período substancialmente superior quando comparado ao alimento sem aditivo. Entretanto, o uso desponderado desses compostos, tem levado ao surgimento de manifestações clínicas como alergias, câncer e outras enfermidades (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012; HONORATO *et al.*, 2013).

Os colóides hidrofílicos ou hidrocolóides, comumente chamados de gomas, são polissacarídeos de grau alimentício amplamente utilizados pela indústria de alimentos e também pela indústria farmacêutica e de alimentos devido as suas propriedades gelificantes, espessantes, emulsificantes e estabilizantes. A utilização de dois ou mais hidrocolóides é comum na indústria alimentícia, devido a existência de sinergia entre eles (SANDOLO *et al.*, 2007).

Essa combinação é de fundamental relevância, uma vez que, alguns hidrocolóides, se utilizados separadamente, perdem parte de sua força de gelificação ou até mesmo não formam géis (FERREIRA *et al.*, 2013; FRANCK, 2002; HE *et al.* 2017). Uma combinação clássica entre hidrocolóides é a utilização de goma carragena juntamente com goma de alfarroba que possibilitam a formação de géis tênues e lípidos, proporcionando o desenvolvimento de produtos com características de textura e firmeza novas ou melhores (BORGES; VENDRUSCOLO, 2008; KATZBAUER, 1998).

Por outro lado, o uso popular de plantas medicinais, representa uma prática complementar à terapia medicamentosa e vem se intensificando ao longo dos últimos anos. O jambu (*Acmella ciliata*) é uma planta popularmente utilizada na culinária da região norte do

país, tanto para culinária quanto como planta medicinal no tratamento de dor de dente, garganta, nefrolitíase e desordens na bexiga (ELDIN, 2001; HOMMA *et al.*, 2011; SOUZA *et al.*, 2019; YAROM *et al.*, 2013).

A maioria dos autores atribuem às atividades biológicas do jambu à presença do espilantol, sendo este o responsável pela quantidade expansiva de estudos envolvendo a planta, uma vez que, diversas atividades biológicas já foram identificadas como atividade antiinflamatória (BAKONDI *et al.*, 2019), estímulo a atividade de mineralização óssea (WIDYOWATI *et al.*, 2020), efeito anestésico (PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2013), antinocepcivo (RIOS; AGUILAR-GUADARRAMA; DEL CARMEN GUTIÉRREZ, 2007), antimutagênico (ARRIAGA-ALBA; RIOS; DÉCIGA-CAMPOS, 2013), antifúngico e antimicrobiano (CRUZ *et al.*, 2014) antiplasmódico (SILVEIRA *et al.*, 2016) entre outros.

O jambu ainda é consumido por ser uma considerável fonte de ferro (AGUIAR *et al.* 2014) podendo ser uma alternativa complementar ao tratamento de anemias e também é fonte de compostos fenólicos que podem exercer função antirradicais, contribuindo para a redução de danos oxidativos oriundos das EROs (TANIA *et al.*, 2015).

Diante desse contexto, neste trabalho, decidiu-se pela elaboração de um produto de fácil preparação, composto exclusivamente por produtos de origem vegetal, a saber, Gelificant Vegetal Sosa® (100% natural) composto por goma carragena e goma de alfarroba, suco de uva integral, xilitol e água, objetivando-se a exclusão de aditivos artificiais, fatores alergênicos inerentes as proteínas de origem animal, e, não obstante, elaborar um alimento com agregação de benefícios a saúde humana por meio da utilização de fibras alimentares solúveis, presentes no gelificante vegetal (gomas) e no extrato de jambu (rGAL), além dos compostos bioativos presentes tanto no suco de uva integral como no extrato de jambu.

4.7 Análise sensorial

4.7.1 Grupo focal

Para a determinação das concentrações de extrato bruto de jambu a serem utilizadas nas amostras de gelatina, foi realizada uma apuração sensorial prévia e de caráter qualitativo exploratório por meio de um grupo focal, seguindo-se a metodologia descrita por Arruda *et al.* (2006).

O grupo focal constitui-se de uma reunião informal com a participação de 6 a 12 pessoas, que, de forma dinâmica, discutem sobre aspectos qualitativos de um novo produto. A

reunião é dirigida por duas pessoas, um moderador que destaca os tópicos abordados no roteiro e, através de táticas de investigação, busca extrair as opiniões, preferências e sugestões dos participantes quanto ao produto avaliado (GOMES; BARBOSA, 1999).

Deste modo, com o objetivo de identificar preferências quanto aos atributos sensoriais das amostras de gelatina vegetal e adicionar possíveis melhorias ao produto, foi realizado o pré-teste de grupo focal, com 8 participantes não treinados, onde foram avaliadas 7 formulações.

Para realização do grupo focal, foram seguidas algumas fases. Na primeira fase determinou-se a concentração de gel vegetal a ser utilizada de forma que obtivéssemos uma textura equivalente a de uma gelatina tradicional, em seguida, definiu-se a concentração de EEJ a ser adicionada no produto. Escolheu-se 7 formulações com as seguintes concentrações: 9mg, 15mg, 30mg, 50mg, 100mg, 150mg (por porção de 120mL) e uma amostra controle (sem a adição de extrato).

A segunda fase constituiu-se na elaboração de um roteiro com questões sobre o produto a serem exploradas pelo mediador. As perguntas foram elaboradas em concordância com os aspectos pretendidos relativos ao produto. Na fase seguinte, convidou-se os alunos matriculados no curso de Engenharia de Alimentos para participação na sessão.

Na quarta fase realizou-se a sessão do grupo de foco na qual foi conduzida por um moderador que descreveu o objetivo da sessão aos participantes e deu continuidade ao roteiro de perguntas, onde foram abordados os seguintes tópicos: aparência/cor, aroma, textura e sabor, além do hábito de consumo de gelatina por parte dos participantes. Os dados revelados na sessão foram salvos em gravações e anotações, foram lidos, escutados, analisados e discutidos, e em razão do caráter qualitativo das informações, não houve análise estatística.

Na última fase, após avaliação dos dados obtidos, foram escolhidas para a análise sensorial, as formulações que apresentaram melhor aceitabilidade.

A aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Ceará/PROPESQ referente a este trabalho teve como Certificado de Apresentação de Apreciação Ética (CAAE) nº 41822420.2.0000.5054 conforme norma regulamentadora para pesquisas com seres humanos do Conselho Nacional de Saúde (Ministério da Saúde).

4.8 Bioacessibilidade

O teste de bioacessibilidade foi realizado no Laboratório de Frutos e Hortaliças do Departamento de Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

As digestões foram realizadas com as amostras de gelatina contendo concentrações de 7,5% (9mg extrato), 12,5% (15mg de extrato) e 25% (30mg de extrato), utilizando fluido gástrico e fluido intestinal simulados, ambos preparados de acordo com procedimentos descritos por Verruk *et al.* (2015), com adaptações.

Foram preparados fluidos para a simulação da fase gástrica onde foram dispersas 6,4 g de pepsina e 2 g de cloreto de sódio em água destilada. Em seguida foi adicionado 7 mL de ácido clorídrico (PA) e o volume completado para 1000 mL com água destilada. Suspendeu-se 120 g de amostra em 200 mL de fluido gástrico simulado e o pH final do foi ajustado para 2 com solução de HCl (PA). A amostra foi agitada em um banho termostático, sob agitação intermitente a 37 ° C, por 2 horas.

Para a elaboração do fluido intestinal simulado, foram dispersas 1,25 g de pancreatina e 6,8 g de fosfato de potássio monobásico em água destilada. Em seguida foram adicionados 77 mL de cloreto de sódio (0,2 M) e o volume foi completado para 1000 mL com água destilada. Ao término do processo simulado de digestão gástrica, a solução resultante foi filtrada e suspensa em 200mL de fluido intestinal simulado. O pH final do fluido intestinal simulado foi ajustado para 7,5 com solução de NaOH (5 M) e a amostra agitada em um termostato a 37 ° C, por 2 horas.

A diálise foi realizada por duas horas em membranas de diálise (33 × 21 mm, peso molecular: 12.000-16.000, porosidade: 25 Angstroms - INLAB, Brasil) contendo NaHCO₃ 0,1 mol L⁻¹ equivalente a acidez titulável. Após ajuste do pH, as membranas de diálise foram adicionadas e agitadas em banho com termostato a 37° C por 30 minutos, em seguida, foi acrescentado 5,0 mL de solução de pancreatina e sais biliares que ficaram sob agitação em banho a 37 ° por 2 horas. Esta etapa simulou a digestão de alimentos no intestino. Ao final desta etapa o conteúdo da membrana (dialisado) foi então removido e a amostra armazenada a -20 ° C para posterior quantificação de espilantol via CLAE.

4.8.1 Percentual Bioacessível

Após os procedimentos de digestão simulada das amostras contendo concentrações de 7,5% (9mg extrato), 12,5% (15mg de extrato) e 25% (30mg de extrato), foi realizada a quantificação por CLAE e calculada a porcentagem de espilantol que ficou disponível para absorção (PDE), através da seguinte equação (LOPES NETO *et al.*, 2017):

$$\text{PEB (\%)} = (\text{CEd/CEa}) \times 100$$

Onde,

PEB: Fração bioacessível de espilantol;

CEd: Concentração de espilantol após a digestão gastrointestinal in vitro;

CEa: Concentração de espilantol antes da digestão gastrointestinal in vitro.

4.9 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. O teste F e a análise ANOVA foram utilizados como critérios significativos para os modelos ajustados. O teste de Tukey foi utilizado para determinar as diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

O teste F e a análise ANOVA foram utilizados como critérios significativos para os modelos ajustados. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando o software Statistica 10.0 (StatSoft).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento do extrato

O cálculo do rendimento do extrato foi realizado conforme descrito anteriormente no item (4.1.2) ($R (\%) = 22,8/480 \times 100$) e o resultado obtido foi de 4,75%.

Dias *et al.* (2012), obtiveram um percentual de rendimento semelhante ao encontrado neste estudo. Os autores analisaram o rendimento do extrato das flores de *Spilanthes acmella* obtido por método de extração por fluido supercrítico e tiveram como resultado o percentual de 4,82% para o rendimento do extrato. Já Yamane *et al.* (2016), avaliando o rendimento do extrato etanólico de *Acmella oleracea*, encontraram um percentual de rendimento de 3,7% e Franca *et al.* (2016), alcançou como maior percentual entre os extratos avaliados o valor de 3,09%.

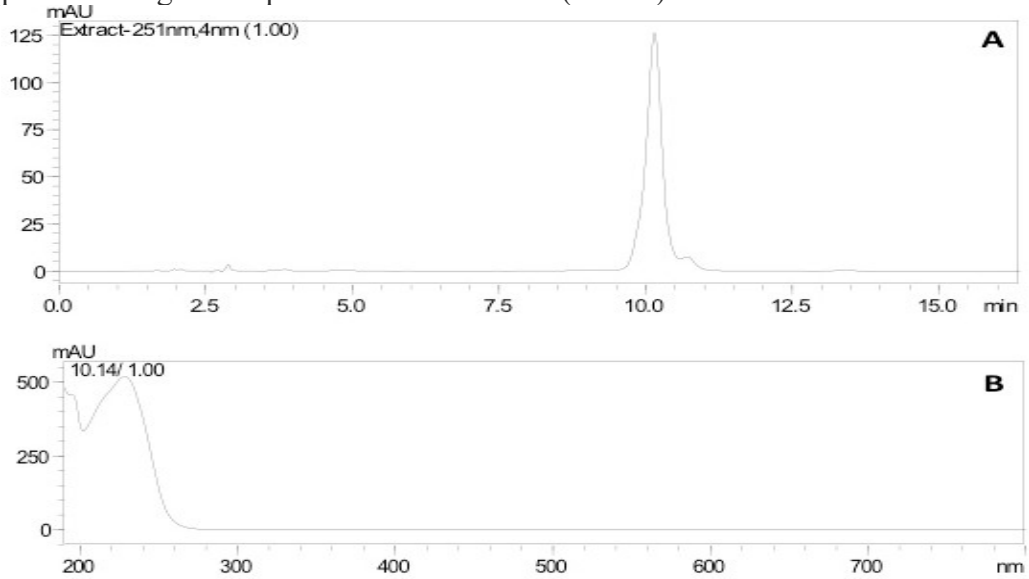
Com base nas informações apresentadas acima, pode-se observar que o percentual de rendimento dos extratos do gênero *Acmella*, comumente são identificados em valores semelhantes.

5.2 Caracterização do extrato etanólico de jambu

5.2.1 Isolamento, quantificação e identificação do espilantol

Os cromatogramas obtidos através da análise do padrão isolado de espilantol e extrato etanólico de jambu (EEJ), são mostrados nas Figuras 9 e 10, respectivamente. O pico majoritário marcado na Figura 9 (RT min 10,144) corresponde ao espilantol, já na Figura 10 o pico do espilantol é apresentado no RT min 10,147.

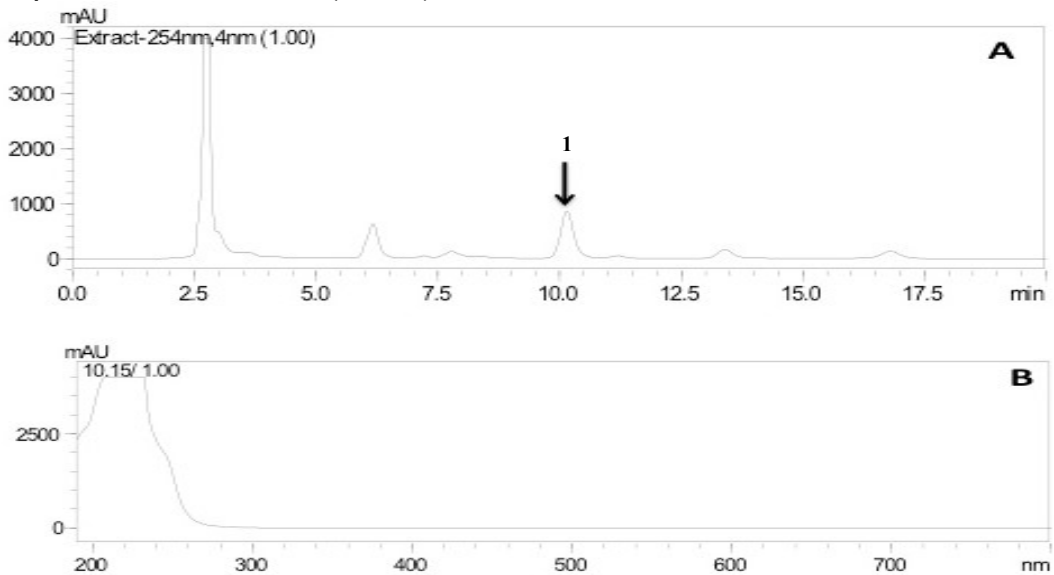
Figura 9 – Cromatograma e curva de calibração do padrão de Espilantol obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).



Fonte: A autora.

(A) Cromatograma do padrão de Espilantol obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RT min: 10,144) Área: 2620523; Comprimento de onda: 227nm. (B) Curva UV do padrão de Espilantol. Pico 1 - obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RT min: 10,147).

Figura 10 – Cromatograma e curva de calibração do EEJ obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).



Fonte: A autora.

(A) Cromatograma do Extrato Etanólico de Jambu obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RT min: 10,147) Área: 17438399; Comprimento de onda: 227nm. (B) Curva UV do Extrato Etanólico de Jambu. Pico 1 - obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (RT min: 10,147).

5.2.2 Curvas de calibração, precisão, linearidade, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

As concentrações calculadas das moléculas encontradas em EEJ, foram expressas em termos de Média \pm DP (mg / g). Os padrões foram executados em diferentes concentrações e considerados lineares na faixa com um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9988 atendendo aos critérios mínimos para aceitação, estabelecidos pela Resolução nº 899 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2003). O limite de detecção (LOD) e o limite de quantificação (LOQ) foram medidos com a relação sinal-ruído (S / N) de 3 e 10 como critérios, respectivamente (SNYDER; KIRKLAND; GLAJCH, 2012). A caracterização química do espilantol padrão foi realizada comparando GC-MS com dados da literatura. Os parâmetros obtidos na validação dos métodos são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Limite de detecção, Limite de quantificação, Linearidade, Coeficiente de determinação e Tempo de retenção do espilantol (n = 6).

Parâmetro	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	Linearidade	R^2	RT min
Espilantol	0.434	0.868	$y = 1.10^7 x + 200878$	0.9988	10.14

Fonte: Elaborada pela autora.

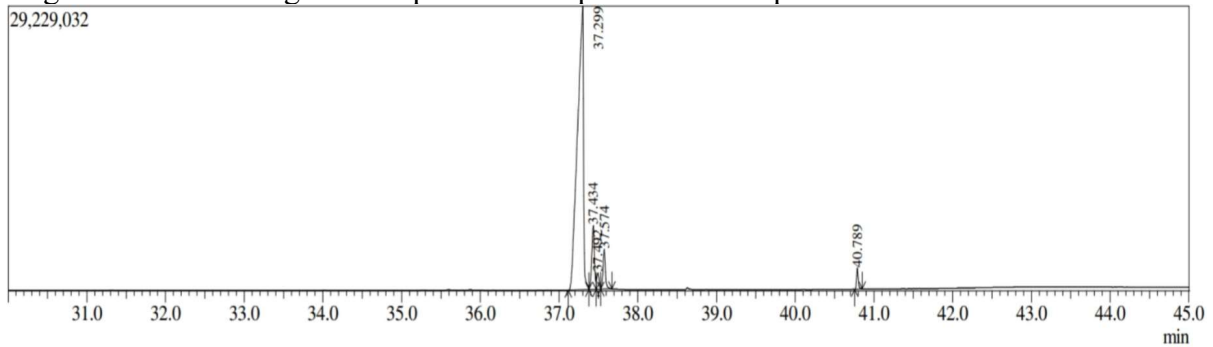
y = a concentração em mg / mL; x = área do pico no comprimento de onda UV designado.

O limite de detecção determina a menor concentração do analito que pode ser detectada, porém, não obrigatoriamente, poderá ser quantificada em um determinado sistema experimental (CASSIANO *et al.*, 2009). O LOD foi realizado pela análise do padrão isolado e foi determinado e 0,434 $\mu\text{g/mL}$. O limite de quantificação determina a menor concentração do do analito que pode ser mensurada (LENG; HAW; LAI-KENG, 2004). O LOQ foi realizado pela análise do padrão isolado e foi determinado e 0,868 $\mu\text{g/mL}$.

Conforme mostrado nos cromatogramas, o comprimento de onda de absorbância máxima (λ_{max}) foi de 227 nm, consistente com o valor semelhante publicado para espilantol por Nakatani e Nagashima (229nm) (1992) e Bae *et al.* (229nm) (2010). De acordo com Jacobson (1957) o valor de absorbância máxima do espilantol é de 228,5. Todos os resultados são semelhantes.

Com os resultados das áreas obtidas a partir do CG-EM, foi realizada a identificação do espilantol a partir das fragmentações apresentadas no gráfico do espectro, conforme demonstrado na Figura 11.

Figura 11 – Cromatograma do padrão de Espilantol obtido por CG-EM



Fonte: A autora.

De acordo com a Figura 11, o espectro de massas identifica o espilantol nos seguintes tempos de retenção 37.299, 37.434, 37.492 e 37.574 N-Isobutyl-2(E),6(Z),8(E)-decatrienamida. Ainda com base no cromatograma apresentado acima, foi possível constatar o pico de maior intensidade do espilantol no tempo de retenção de 37.299 minutos e determinar a pureza do padrão isolado em 83,60%. Além disso, foi constatado um teor de $86,83 \pm 1,07$ mg de espilantol/g de EEJ. A concentração de espilantol encontrada no presente estudo é equivalente aos teores encontrados por Cheng *et al.* (2015).

No estudo os autores avaliaram o teor de espilantol no extrato etanólico de *Acmella oleracea* e encontraram a concentração de $84,52 \pm 0,81$ mg / g do extrato etanólico, valores praticamente idênticos aos valores observados nesta pesquisa.

Em estudo sobre métodos distintos de crescimento e extração de *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen para a avaliação do aumento das concentrações de espilantol, Franca *et al.* (2016), observou que, nas diferentes condições de cultivo, ocorreu uma maior concentração de espilantol no material vegetal aclimatado ($0,954 \text{ mg/mL}^{-1}$) seguido do cultivado em campo ($0,465 \text{ mg/mL}^{-1}$) e, por fim, no cultivo *in vitro* ($0,098 \text{ mg/mL}^{-1}$), em outros estudos, os extratos em etanol (65%) de toda a planta, apresentaram maior concentração de espilantol ($1,030 \text{ mg/mL}$) (BOONEN *et al.*, 2010). Os resultados apresentados demonstram que, variações como sazonalidade, ciclo circadiano, idade e desenvolvimento da planta, clima e tipo de solo, interferem no conteúdo de metabólitos secundários (GOBBO-NETO; LOPES, 2007). Isso leva a concluir que a produção de metabólitos secundários de uma planta, está intimamente relacionada aos fatores externos presentes no ambiente de cultivo, que leva a alterações na composição e na quantidade dos referidos metabólitos.

Segundo Cardoso e Garcia (1997), a temperatura média para o ótimo desenvolvimento vegetativo do jambu, varia entre 15 a 20 ° C, porém o mesmo descreve que a

planta desenvolve-se bem em temperaturas elevadas, o que explica o cultivo prolífero da cultivar em diferentes regiões do país. Para os mesmos autores, ciclos pluviais fortes e excessivos, facilitam a manifestação de doenças, causando danos a planta e induzindo o carreamento de nutrientes para o solo, limitando sua produtividade.

Veloze *et al.* (2007) observaram, em estudo sobre o óleo essencial de flores de jambu, a presença de 15,16% de espilantol. Os valores de espilantol descritos por estes autores, estão muito acima do valor encontrado no presente estudo (8,68%), porém, são justificáveis uma vez que os mesmos utilizaram como matéria de partida para a produção dos seus extratos, as inflorescências das plantas que, segundo Dubey *et al.* (2013), possuem a maior concentração de espilantol em relação as demais partes, o que pode ser explicado, ainda, no estudo de Veloze *et al.* (2007) o achado de 1,46% do composto, no óleo essencial das folhas de jambu.

O método extrativo e os solventes utilizados exercem influência direta na eficiência da extração. Uma pesquisa realizada por Marchesini *et al.* (2020) avaliou a influência do espilantol na atividade acaricida de *Acmella oleracea*. No estudo, foram avaliados extratos produzidos com solventes de diferentes polaridades como metanol, hexano, diclorometano e acetato de etila, a partir do processo de extração líquido-líquido, no qual os componentes da planta foram transportados e isolados de acordo com a afinidade do solvente.

Foram observados diferentes percentuais de espilantol (0,0% 24,5%, 48% e 100% de espilantol). O espilantol tem caráter anfifílico, podendo ser extraído por meio de solventes com polaridades diferentes, como etanol, hexano e metanol (BOONEN *et al.*, 2010; RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999).

Em processos de obtenção de extrato de jambu, bem como o isolamento do espilantol, de acordo com a literatura, quase sempre, são utilizados como solução extrativa solventes orgânicos como hexano, metanol e acetato de etila (RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999) ou uma combinação de solventes de diferentes polaridades (DELARCINA *et al.*, 2007; SHIMADA; GOMI, 1995).

Balieiro *et al.* (2020), em extenso estudo da extração do espilantol, utilizou quatro solventes (metanol, etanol, aceto nitrila e água) em diferentes misturas e, ao investigar a eficiência de extração de cada solvente e mistura de solventes, identificou o etanol como o de melhor eficiência para extrair o espilantol, os autores também observaram que, o etanol, além de possuir uma menor toxicidade, com ele, foi possível extrair uma grande quantidade de espilantol utilizando um pequeno volume de solvente (10g flores de jambu/25mL de etanol) e produzir um extrato altamente concentrado.

A metodologia de extração por meio da utilização de solventes, consiste na separação seletiva de compostos em suas diferentes polaridades, entretanto, conforme Hui (1996), o risco de geração de resíduos tóxicos ao organismo e também ao ambiente, deve ser levado em consideração na preparação desses extratos. Neste sentido, o uso do etanol como solvente extrator corrobora para uma produção menos onerosa, e considerando trabalhos anteriores na obtenção de espilantol, o etanol foi utilizado como solvente de extração para este estudo, pois além de ser um solvente atóxico, segue princípios da química verde (NOMURA *et al.*, 2013; SHARMA *et al.*, 2011; YADAV *et al.*, 2011).

Conforme descrito acima, pode-se assegurar que a literatura majoritária na obtenção de extrato de jambu, bem como no isolamento de espilantol, utiliza-se de partes separadas da planta, especificamente suas inflorescências. Além disso, observa-se também o uso predominante de solventes orgânicos, nocivos a saúde humana. Nesse cenário verifica-se que, estudos para obtenção de espilantol utilizando a planta inteira, ainda podem ser considerados escassos e devem ser estimulados, evitando-se o desperdício, auxiliando para o aproveitamento integral da planta e reduzindo malefícios ao meio ambiente. A substituição dos solventes extratores também deve ser encorajada, almejando-se a eliminação da possibilidade de ingestão de resíduos desses solventes.

5.3 Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (DPPH e ABTS)

Algumas substâncias presentes nos alimentos, vão além da sua capacidade nutricional e possuem a propriedade de trazer benefícios a saúde humana, estes são os chamados compostos bioativos. Nas plantas, esses compostos comumente encontrados em pequenas quantidades, são substâncias que resultam do metabolismo secundário e atuam como agente de proteção, o que lhes confere uma função essencial na reprodução da planta, frente a resistência aos fatores ambientais como o ataque de micro-organismos e pragas (KENNEDY; WIGHTMAN, 2011; VERMERRIS; NICHOLSON, 2007).

Dentro da classe de compostos bioativos, os compostos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas e taninos, etc) frequentemente são estudados. Esses compostos são responsáveis por numerosas atividades biológicas, atuando como veículo de prevenção de doenças, através de propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antitumorais e proteção das células contra a ação oxidativa de radicais. A capacidade dos compostos fenólicos em sequestrar radicais livres, desperta interesses que crescem ano após ano, em razão das

funcionalidades inerentes a eles (CHOI *et al.*, 2018; GERARDI *et al.*, 2016; HUANG *et al.*, 2012).

Estudos epidemiológicos demonstram que, a ingestão habitual de alimentos ricos em compostos bioativos é um fator importante na redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). Dessa forma, a avaliação da capacidade antioxidante presente nos extratos vegetais, torna-se de fundamental importância, pois a atividade sequestrante de radicais livres, se relaciona intimamente com a defesa das membranas celulares dos organismos vivos podendo atuar na quimioprevenção destes (BAMIA *et al.*, 2015).

Conforme demonstrado na Tabela 4, no presente estudo observou-se que o EEJ apresentou concentração de $1053,27 \pm 3,88$ mg EAG / 100g EEJ para compostos fenólicos, e atividade antioxidante de $117,54 \pm 3,69$ μ M Trolox/g EEJ para ABTS e EC_{50} $46 \pm 8,08$ mg/mL para DPPH.

Tabela 4 – Resultados obtidos para CFT, ABTS e DPPH do EEJ

Parâmetro	CFT (mg EAG / 100g EEJ)	ABTS (μ M Trolox/g EEJ)	DPPH (EC_{50} mg/mL)
EEJ	$1053,27 \pm 3,88$	$117,54 \pm 3,69$	$46 \pm 8,08$

Fonte: Elaborada pela autora.

*Resultados expressos em médias e desvio padrão. ABTS: 2,2- azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfônico, expresso em (μ M Trolox/g); DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, expresso em g extrato / g DPPH; CTF: Compostos fenólicos totais, expresso em mg GAE/100 g de extrato.

A investigação e identificação de antioxidantes naturais tem sido objeto de várias pesquisas que tem por objetivo, auxiliar na prevenção de danificações oxidativas. Neste cenário, os ensaios mais utilizados, de acordo com a literatura, são os de captura do radical DPPH e ABTS. O ensaio DPPH é um método que analisa o potencial dos compostos em transferir elétrons para um oxidante, baseando-se na análise espectrofotométrica das alterações ocorridas na quantificação de DPPH após sua reação com uma determinada substância antioxidante (DAWIDOWICZ; WIANOWSKA; OLSZOWY, 2012).

Já o método ABTS, consiste em monitorar a descoloração produzida pela oxidação do $ABTS^{*+}$ que apresenta cor esverdeada, em ABTS frente a um composto antioxidante também via espectrofotometria. Esses tipos de ensaio são considerados excelentes pela sua reprodutibilidade e permitem observar, num plano estabelecido, diferentes comportamentos antioxidantes de um determinado material e compará-los com uma substância padrão (SOARES; ANDREAZZA; SALVADOR, 2003; TIVERON *et al.*, 2012).

O ensaio DPPH deste estudo, apresentou um EC_{50} de 46 mg/mL, o que vai em desacordo com a maioria dos estudos já publicados na literatura. Romão *et al.* (2015), analisando a atividade antioxidante do extrato das flores de *Spilanthes acmella*, através do ensaio de captura do radical DPPH, observou que o extrato aquoso da cultivar apresentou EC_{50} de 307,21 $\mu\text{g/mL}$ e considerou o resultado como atividade antioxidante fraca uma vez que, estudos de Wongsawatkul *et al.* (2008), avaliando a capacidade antioxidante de extrato de acetato de etila e metanol das partes aéreas de *S. acmella*, demonstraram capacidade antioxidante no ensaio de DPPH com EC_{50} de 216 e 223 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Em outros estudos, pesquisadores também encontraram valores de EC_{50} para o ensaio de DPPH, inferiores ao relatados nesse trabalho. Maimulyanti e Prihadi (2016), analisando a capacidade antioxidante de três diferentes extratos de *Acmella uliginosa* (Metanol, Acetato de etila e Hexano) e Rodrigues *et al.* (2009), avaliando atividades biológicas do extrato aquoso das partes aéreas de *Baccharis trimera* (Asteraceae), obtiveram os resultados de EC_{50} de 96,83 $\mu\text{g/mL}$, 123,46 $\mu\text{g/mL}$ e 905,92 $\mu\text{g/mL}$, e 92,39 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

Nesse tipo de ensaio, os menores valores de EC_{50} podem ser avaliados como os de melhor efetividade antioxidante visto que, para reduzir a concentração inicial do radical livre DPPH em 50% é necessária uma menor quantidade da amostra. A captura pouco intensa observada neste ensaio não é inédita. Dallazen *et al.* (2020), ao avaliarem o potencial farmacológico do extrato hexânico de *Acmella oleracea*, verificaram a inexistência de atividade antioxidante no material, corroborando com os valores antioxidantes inferiores encontrados por este método no presente trabalho.

O valor de EC_{50} mais aproximado ao encontrado neste trabalho, foi observado por Lalthanpuii, Lalawmpuii e Lalchhandama, (2017) que, analisando as propriedades fitoquímicas, antioxidantes e antibacterianas de *Acmella Oleracea*, utilizando extrato obtido a partir de uma mistura de solventes (hexano, clorofórmio e metanol) via Soxhlet, verificaram o valor de EC_{50} 13,773 mg/mL. Já Boontha *et al.* (2020) obtiveram como EC_{50} 1,2 mg / ml avaliando os efeitos da maceração etanólica (95%) das flores de *Spilanthes Acmella*.

Segundo Rondanelli *et al.* (2020), os extratos de *Acmella oleracea*, obtidos a partir dos solventes acetato de etila e metanol, são mais eficientes na captura do radical DPPH, ratificando o que foi observado nos estudos de Tanwer, Choudhary e Vijavergia (2010), que observaram melhores resultados na captura deste radical em extrato metanólico das folhas de *Spilanthes Acmella*. Este fato pode justificar a baixa atividade antioxidante apresentada pelo EEJ pelo método DPPH, uma vez que o material analisado tem como solvente extrator, o etanol.

Além disso, de acordo com estudo realizado por Dawidowicz, Wianowska e Olszowy (2012), fatores como o tipo e quantidade de solvente utilizado para a dissolução do extrato, a quantidade de água na amostra, bem como a presença de compostos não antioxidantes no ato da medição, podem afetar consideravelmente na quantidade de DPPH não reagido.

O ensaio de captura do ABTS deste estudo, apresentou melhores resultados para o potencial antioxidante, com 117,54 μM Trolox/g EEJ. Este resultado distingue-se do resultado obtido no ensaio DPPH, o que demonstra a variabilidade dos diferentes comportamentos antioxidantes das substâncias presentes nos vegetais, bem como a influência do solvente nos resultados observados.

Swargiary *et al.* (2019), realizaram um estudo sobre a avaliação das propriedades fitoquímicas de diferentes plantas medicinais, e obtiveram, no ensaio ABTS de *Spilanthes Acmella*, o valor de 57,0 μM Trolox/g. Em outros estudos, Weintraub *et al.* (2020) avaliando a atividade antioxidante das folhas, raíz, caules e inflorescências de *Acmella oleracea*, separadamente, obtiveram os seguintes valores: 4,53, 12,20, 16,74 e 13,93 μM Trolox/g, nesta ordem, e Nascimento *et al.* (2020), em pesquisa sobre o perfil fitoquímico de diferentes partes de *Acmella oleracea* mantidas sob cultivo hidropônico e convencional, observaram que as plantas sob cultivo convencional, apresentaram melhores resultados de ABTS 23,43, 14,17, 10,85 μM Trolox/g, folha, flores e caules, respectivamente. Esses resultados demonstram que, o ensaio ABTS, apresentou-se mais adequado para a identificação das características antioxidantes do extrato etanólico de jambu.

Kim *et al.* (2003) descrevem que a capacidade antioxidante pelo ensaio ABTS é fortemente correlacionada com o conteúdo de fenólicos totais. Floegel *et al.* (2011) avaliando o potencial antioxidante de 50 alimentos, considerados fonte desses compostos, observou que o ensaio ABTS apresentou maior capacidade antioxidante, quando comparado ao ensaio DPPH nas 18 frutas, 13 vegetais e 19 bebidas analisadas.

Conforme Kim *et al.* (2002) o método ABTS é aplicado em sistemas antioxidantes tanto hidrofílicos quanto lipofílicos, por outro lado o ensaio DPPH tem recomendação de aplicação em sistemas hidrofóbicos. Com base nessa premissa, admite-se que o ensaio DPPH, apresentaria melhor as características antioxidantes do óleo essencial da planta e devido a alta solubilidade dos compostos fenólicos e sua correlação com o potencial antioxidantes dos materiais, além do caráter anfifílico do espilantol, observa-se que o método ABTS é superior na avaliação antioxidante de materiais vegetais e portanto reproduziu melhor as características antioxidantes do jambu.

A avaliação do teor de compostos fenólicos demonstrou a concentração de 1053,27 mg de EAG/100g de EEJ. Pires e Silva (2020), avaliaram o efeito do tipo de cultivo (convencional e hidropônico) no estágio fenológico do jambu e obtiveram as concentrações de 360,21 (mg / 100 g) para jambu convencional e 396,89 (mg / 100 g) para jambu hidropônico, não diferindo significativamente. Já Venskutonis *et al.* (2016) avaliaram o teor de fenólicos totais em uma espécie de Asteracea e verificaram variações significantes desses compostos nos diferentes estágios de crescimento da planta. Dessa forma, Vlajsavljevic *et al.* (2016) sugerem que as diferenças observadas para o conteúdo total de compostos fenólicos na planta relacionam-se com seu estágio de crescimento, e refletem as alterações bioquímicas ocorridas durante o desenvolvimento da planta, assim como também as reações aos estresses bióticos e abióticos desses diferentes estágios.

Silva *et al.* (2021) em análise de quantificação dos compostos fenólicos totais do extrato etanólico das flores de duas cultivares de *Acmella* (Nazaré e Jamburana), obtiveram resultados que foram de 8,97 a 22,48 mg AGE/ 100g, já Abey Siri *et al.* (2013), em estudo sobre a bioatividade de *Acmella oleracea*. Sob extração metanólica de partes separadas da planta, foram encontradas as concentrações de 759, 534 e 165 mg EAG/100g para folha, inflorescências e caules, respectivamente.

As concentrações de compostos fenólicos observadas no EEJ, foram superiores em relação as concentrações obtidas por estes autores. De acordo com Rufino *et al.* (2010), o extrato avaliado neste estudo está interposto na classificação de teor de polifenóis intermediário (10 a 50 mg EAG/g). Deve-se observar que, métodos de extração distintos, bem como, condições de cultivo, clima, tipo de secagem e partes da planta analisadas separadamente, podem colaborar para obtenção de diferentes teores fenológicos nas espécies analisadas.

Dessa forma, levando-se em consideração a atenção atual dada aos efeitos adversos relacionados a utilização de antioxidantes sintéticos e sabendo-se que os extratos de plantas medicinais podem ser importantes na obtenção de antioxidantes naturais, estudos sobre a influência dos fatores ambientais na síntese de metabólitos secundários devem ser estimulados, uma vez que, a área de interação entre o meio ambiente e o vegetal, reflete no conteúdo de metabólitos secundários que, frequentemente, tem sua síntese afetada por esses fatores (PEREIRA; MAIA, 2007; SAMPAIO *et al.*, 2011).

5.4 Atividade antimicrobiana – Difusão em ágar

O potencial antimicrobiano dos compostos bioativos presentes nas plantas, tem fundamentado diversas pesquisas no mundo inteiro. De forma geral, o estudo dessas substâncias é realizado através de ensaios *in vitro*, onde é possível verificar a susceptibilidade bacteriana frente a um determinado composto (SOUZA *et al.*, 2003)

A metodologia de difusão em ágar é reconhecida pela *Food and Drug Administration* (FDA) e estabelecida como padrão pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Os métodos de difusão em ágar ou em caldo são equitativamente aceitos na avaliação quantitativa da atividade antimicrobiana de uma dada substância, frente ao inóculo (CLSI, 2017).

Os microrganismos avaliados no presente trabalho são constantemente estudados devido a sua importância para a indústria de alimentos. Os resultados obtidos neste estudo, para a susceptibilidade microbiana frente ao EEJ, são descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Susceptibilidade microbiana frente ao EEJ - Zona de inibição

Concentração EEJ (mg/ml)	Zonas de inibição em mm							
	<i>L. monocytogenes</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. enteritidis</i>	
100	10	11	10	10	-	-	10	10
50	-	-	9	9	-	-	-	-
25	-	-	0	8	-	-	-	-
Gentamicina¹	25		23		-		-	
Amicacina²	-		-		25		27	

Fonte: Elaborada pela autora.

¹Antibiótico padrão utilizado como controle positivo para os micro-organismos Gram-positivos;

²Antibiótico padrão utilizado como controle positivo para os micro-organismos Gram-negativos.

As doenças transmitidas por alimentos (DTA's), podem decorrer da ingestão de alimentos contaminados por micro-organismos, ou de suas toxinas pré-formadas nos alimentos, que causam intoxicação alimentar. Essas intercorrências afetam, em sua maioria, o sistema digestório do hospedeiro, causando manifestações clínicas como náuseas, vômitos e diarreias, acompanhadas ou não de febre (BARBOSA *et al.*, 2017; BRASIL, 2010).

De acordo com a Enciclopedia Britânica (2020), as DTA's são causadas, majoritariamente, por bactérias como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* e suas toxinas. A *Salmonella* é considerada um patógeno importante como

causa de intoxicação alimentar em humanos, gerando manifestações como febre entérica e gastroenterite, este último, causado principalmente por *S. typhimurium* e *S. enteritidis*.

A *Listeria monocytogenes*, é o agente etiológico de uma DTA com forte letalidade, a listeriose. Trata-se de micro-organismo oportunista que, uma vez presente nos alimentos, constitui risco acentuado a saúde humana, causando neuropatias e gastroenterites. Em gestantes a doença manifesta-se com sintomas semelhantes aos da gripe e uma atenção especial deve ser dada a este grupo em função do risco elevado de aborto/natimorto (GOEMINNE; DEVLIES; VANDERLINDEN, 2020; JANZTEN *et al.*, 2006). Para Nakamura *et al.* (2013), o comportamento desse micro-organismo, o torna um obstáculo para indústria de alimentos, em decorrência de sua habilidade em colonizar superfícies, formar biofilmes e até mesmo resistir a ação de substâncias sanitizantes comuns, o que facilita sua disseminação.

A intoxicação causada por pela ingestão de alimentos contaminados por enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* é um dos tipos mais comuns DTA's no mundo. O *S. aureus* é uma bactéria patogênica, cuja doença é classificada pela Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas para Alimentos (ICMSF, 2002) no grupo de risco III, que inclui doenças de natureza moderada, de curso rápido e não muito graves. Seus principais sintomas envolvem náuseas, vômitos e diarreia, e variam de acordo com a sensibilidade de cada indivíduo (JABLONSKY; BOHACH, 1997; SILVA *et al.*, 2010).

Conforme descrito na Tabela 5, o EEJ apresentou efeito contra três espécies testadas, sendo duas Gram + (*Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*) e uma Gram - (*Salmonella enteritidis*), de acordo com a milimetragem do halo de inibição observada, para as concentrações analisadas. Esses resultados ostetam a habilidade inibitória significativa do EEJ frente o crescimento microbiano, visto que, o material apresentou inibição para o crescimento de *S. aureus* em todas as concentrações testadas, demonstrou um percentual de inibição para *L. monocytogenes* de 44% quando comparado ao halo apresentado pelo antibiótico padrão (Gentamicina) e surpreendentemente, apresentou citotoxicidade para uma espécie Gram - (*S. enteritidis*).

Alcantara *et al.* (2015), avaliando a atividade antimicrobiana do extrato etanólico das flores de *Acmella oleracea* (Asteraceae), observou atividade contra bactéria Gram – *Salmonella typhi*. Entretanto, Sekendar *et al.* (2011), avaliando o potencial antimicrobiano de *Spilanthes calva*, não observaram efeito contra o micro-organismo Gram-negativo *E. coli*. Esses resultados são semelhantes aos encontrados no nosso estudo visto que o EEJ não apresentou atividade contra *E. coli*, porém, apresentou citotoxicidade para o Gram-negativo *S. enteritidis*.

A efetividade abreviada dos extratos vegetais, frente as bactérias Gram -, de acordo com Rincón Mejía *et al.* (2015), pode estar relacionada a superfície hidrofílica da membrana bacteriana rica em lipopolissacarídeos (LPS) que funcionam como uma barreira de permeabilidade seletiva contra substâncias tóxicas. Os mesmos autores explicam ainda que, essas barreiras impossibilitam a permeação de grandes moléculas lipofílicas presentes nos extratos, que muitas vezes possuem constituintes antimicrobianos. No entanto, de acordo com Beiting (2011), os componentes lipídicos das moléculas presentes nas membranas (lipídeos A) lhes conferem também propriedades hidrofóbicas.

Neste estudo foi observada inibição de crescimento em uma espécie Gram - (*S. enteritidis*). Dessa forma, tendo como base as explanações supracitadas e em função da polaridade anfifílica do espilantol, sugere-se que o mesmo juntamente com os compostos fenólicos presentes no extrato, podem apresentar uma polaridade ideal capaz de permear a membrana de bactérias Gram -, sendo necessário estudos complementares para determinação de concentrações ideais visando uma melhor efetividade contra esses micro-organismos.

Kumar, Ravindra e Parvati (2020), avaliando a atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais, obtidos a partir de quatro diferentes solventes (Hexano, Éter de petróleo, Etanol e Metanol) via Soxhlate, observaram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, para a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Acmella uliginosa*. No estudo, os autores observaram a presença de halos de inibição contra *S. aureus* e *E. coli*, apresentando medição de 6 mm para ambos. Os mesmos autores relataram uma melhor atividade antimicrobiana para o extrato metanólico, apresentando halos com medição de 10 mm para *S. aureus* e 9 mm para *E. coli* sugerindo que a atividade antimicrobiana dos extratos vegetais pode estar relacionada com o tipo de extração e o solvente utilizado.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com o estudo de Mejía, Castaño e Vázquez (2012). Os autores analisaram o potencial antimicrobiano do extrato das folhas e inflorescências de *Acmella ciliata* contra *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermis* por meio do teste de difusão de disco e observaram que o extrato inibiu o crescimento de *S. aureus* e *S. epidermis* a concentrações de 25 e 15 mg/mL, respectivamente e não apresentou atividade contra *E. coli*.

Os antimicrobianos são substâncias que agem destruindo ou inibindo o crescimento de micro-organismos. O uso exacerbado dessas substâncias, tem levado ao advento das chamadas “superbactérias”, que constituem um sério revés para a saúde pública (CASELANI, 2014; SCALDAFERRI *et al.* 2020).

Essas superbactérias, segundo Tavares (2000), desenvolvem-se a partir do uso inadequado de antimicrobianos, que por sua vez, promovem alterações genéticas de múltiplos aparatos bioquímicos e resultam no impedimento da ação das drogas, desencadeando a resistência bacteriana. Essa resistência bacteriana aos antimicrobianos configura um considerável entrave na saúde pública, em razão de consequências deletérias e nocivas para o âmbito hospitalar e para a sociedade em geral (LOUREIRO *et al.*, 2016).

Neste estudo, o EEJ apresentou ação inibitória contra o crescimento de patógenos importantes, demonstrando o potencial antimicrobiano do extrato. Diante disso, conclui-se que, pesquisas envolvendo plantas medicinais, com propriedades antimicrobianas, são promissoras tanto para indústria de farmacêutica quanto para a indústria de alimentos.

Além disso, esforços devem ser realizados de forma a garantir a produção de alimentos seguros, livres de contaminantes e dessa forma, possamos contribuir, de forma eficaz, na promoção e prevenção da saúde, auxiliando no crescimento de economias por meio da utilização de antimicrobianos naturais e evitando gastos dispendiosos com internações evitáveis.

5.5 Toxicidade – Zebrafish (*Danio rerio*)

O zebrafish adulto (ZFa) tem sido classificado como um modelo vertebrado potencial para testes de toxicidade de diversas substâncias. É um método de fácil aplicabilidade, realizável em pequenos espaços, e não oneroso. Além disso, Howe *et al.*, (2013), em estudo realizado sobre o genoma do zebrafish, observaram uma correlação de 71% entre genes que codificam proteínas humanas (sendo 82% proteínas responsáveis pelo desenvolvimento de doenças). Segundo os autores, existe um ortólogo explícito no genoma do ZFa. Todas essas vantagens consolidam sua utilização como teste complementar em relação aos testes realizados com mamíferos e roedores (HOWE *et al.*, 2012; RESENDE; SOCCOL, 2015; FERREIRA *et al.*, 2020).

Estudos com ZFa tem sido amplamente realizados para monitorar a toxicidade ambiental, avaliar o potencial toxicológico de metais pesados, substâncias relacionadas a processos de carcinogênese, defensivos químicos utilizados na agricultura, bem como a toxicidade de diferentes fármacos que vão desde psicoativos a fármacos redutores de colesterol, por exemplo (LIMA *et al.*, 2020; MU *et al.*, 2015).

A avaliação da toxicidade de uma substância é fundamental para a identificação do seu comportamento toxicológico, bem como da relação entre dose e resposta, para que assim

sejam determinadas possíveis concentrações tóxicas ao organismo humano. Nesse contexto, foi utilizado o zebrafish adulto como modelo animal para avaliar a toxicidade aguda do EEJ. Como resultado, constatou-se que todas as amostras testadas se mostraram seguras, pois não foram tóxicas frente ao ZFa em até 96 h de análise (Tabela 6).

Tabela 6 – Resultados dos testes de toxicidade aguda para o EEJ frente ao zebrafish adulto

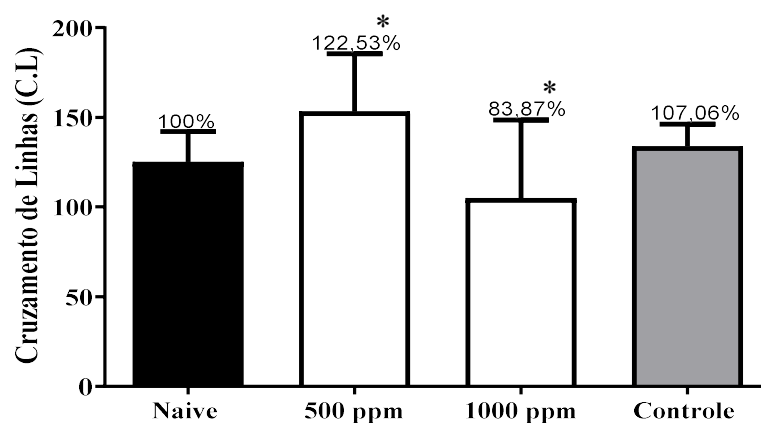
Amostra	Mortalidades do Zebrafish Adulto			96h CL ₅₀ (mg/mL) / IV
	CN	C1	C2	
EEJ	0	0	0	> 1000ppm

Fonte: Autora.

CN- Grupo controle negativo: água destilada estéril. EEJ – extrato etanólico de jambu DC. C1 – concentração 1 (500ppm; 20 μ L; v.o.); C2 – concentração 2 (1.000ppm; 20 μ L; v.o.). CL₅₀-concentração letal para matar 50% dos Zebrafish adulto; IV – intervalo de confiança.

O EEJ na concentração de 500 ppm não ocasionou efeito sedativo e nem comprometimento locomotor nos animais tendo em vista que, os animais apresentaram atividade locomotora (AL) significativamente ($p>0,05$) semelhante para esse grupo em relação aos controles, naive (AL = 100%) e controle (AL = 107,06%) (Figura 12).

Figura 12 – Cruzamento de linhas do ZFa frente ao EEJ



Fonte: A autora.

Naive - animais não tratados; v.o. – administração via oral do extrato etanólico de jambu. Veículo – água destilada estéril (20 μ L; v.o.). Os valores representam a média \pm desvio padrão da média (E.P.M.) para 6 animais/grupo; ANOVA seguida de Tukey. Os números acima de cada coluna indicam porcentagem de atividade locomotora (%AL); * Diferença significativa ($p<0,05$).

A atividade locomotora é um dos métodos de análise comportamental mais utilizados atualmente para examinar possíveis efeitos de determinadas drogas sob o sistema nervoso central do zebrafish (*Danio rerio*) adulto e causando comprometimento locomotor ou não (TAYLOR *et al.*, 2017). Alterações no comportamento desses animais iniciam com o aumento da natação e é um parâmetro que indica o estado geral interno do animal, caracterizando-se pela tentativa de fuga diante da exposição ao estresse (LITTLE; FAIRCHILD; DELONAY, 1993; SANTOS *et al.*, 2016).

O grupo referente a concentração de 1000 ppm apresentou diferença significativa do grupo de 500 ppm, demonstrando efeito no sistema locomotor dos animais por meio da redução da atividade locomotora. Segundo Maximino *et al.* (2011) e Gebauer *et al.* (2011), a redução da locomoção observada no experimento, aponta uma provável atividade sedativa comumente apresentadas por substâncias ansiolíticas frente ao ZFa. Além disso, corroboram com os estudos de Déciga-Campos *et al.* (2012) e Ambavade *et al.* (2014), onde foram observados efeitos ansiolíticos para o espilantol e extrato etanólico das raízes de *Spilanthes Acmella* (em ratos) respectivamente. Além disso, esses resultados podem ser considerados fundamentais para o direcionamento de futuras análises, visando a confirmação e a elucidação de mecanismos envolvidos na atividade ansiolítica apresentada pelo EEJ.

Souza *et al.* (2019), avaliaram a toxicidade aguda do extrato hidroetanólico (70%) das flores de *Acmella oleracea* frente ao zebrafish (*Danio rerio*) e observaram mudanças comportamentais significativas e morte dos animais. No estudo, os autores analisaram a toxicidade das seguintes concentrações: 44,45, 88,915, 199,94, 281,83 e 448,81 mg / kg, por via oral, em animais de 300 e 400 mg. Os autores verificaram que a mortalidade dos animais foi dose dependente, onde nos ensaios com a menor dose (44.45 mg / kg), foi observada a mortalidade de 8,3% dos animais, e a dose maior (448,81 mg / kg) foi observada a mortalidade de 100% dos animais. A dose letal mediana calculada (DL₅₀) foi de 148,42 mg / kg. Os autores sugeriram que, com base nos resultados obtidos, o espilantol pode ser tóxico, dependendo da dose.

Os resultados descritos por Souza *et al.* (2019), são diferentes dos obtidos neste estudo, uma vez que, nas concentrações utilizadas (1mg e 0,5mg/mL) não foram observadas nenhuma morte nos grupos. Entretanto, variações encontradas, como concentração utilizada, o tipo de extrato e a parte da planta que foi utilizada, nos levam a sugerir que influenciaram negativamente nos ensaios de toxicidade. De acordo com Dubey *et al.* (2013), as inflorescências de *Acmella* são detentoras das maiores concentrações de espilantol em relação as demais partes da planta. Esse fator pode ter contribuído para toxicidade apresentada no estudo desses autores,

pois conforme resultados demonstrados no referido estudo, o extrato utilizado no ensaio apresentou um percentual de espilantol de 22,56%, o que pode ter contribuído para uma ingestão de doses elevadas de espilantol resultando na morte dos animais.

Ponpornpisit *et al.* (2011), alegam que na análise de toxicidade do extrato aquoso das folhas de *Spilanthus acmella*, não foram observados efeitos letais para os embriões de peixe-zebra na maior concentração analisada (20%).

Em outros trabalhos envolvendo a toxicidade de algumas cultivares do gênero *Acmella* relatados na literatura, utilizando outros modelos animais, Rocha (2019), avaliou a toxicidade do extrato etanólico de *Acmella oleracea*, frente a *Artemia salina*, nas concentrações 10, 5, 2,5, 1,25 mg/mL e não observou efeitos tóxicos relevantes. Nomura *et al.* (2013) avaliaram possíveis efeitos tóxicos do extrato etanólico das flores de *Acmella oleracea*, nas concentrações de 5, 50, 500 e 5000 mg/Kg por via intraperitoneal em camundongos e observaram que, nas doses de 5, 50, 500 mg/Kg os animais não apresentaram sinal ou sintoma de toxicidade ou morte, já para a dose de 5000 mg/Kg foram observadas alterações respiratórias e convulsão. Chackraborty *et al.* (2004), analisaram a toxicidade do extrato aquoso e Sharma *et al.* (2011), avaliaram a toxicidade do extrato etanólico das flores de *Spilanthus acmella* onde também não foram observadas alterações comportamentais ou mortes nas concentrações de 3000 mg/kg de extrato aquoso e 2000 mg/Kg de extrato etanólico administrado por via oral em ratos.

De acordo com os dados relatados acima, entende-se que os ensaios de toxicidade com ZFa por via oral (gavagem) utilizado neste estudo, podem ser considerados raros e diante disso, a análise de comparação com outras pesquisas fica complexa. Tal fato sobrevém em virtude da presença acentuada de variáveis envolvidas nessas análises, como por exemplo, as diversas concentrações utilizadas nos referidos ensaios, bem como os diferentes modelos de animais submetidos a essas avaliações.

Essas variações são avaliadas de forma positiva, pois manifesta os esforços realizados e a execução dinâmica de pesquisas envolvendo a toxicidade dos extratos do gênero *Acmella*, auxiliando no entendimento e elucidação de possíveis efeitos tóxicos que esses extratos possam manifestar.

É indiscutível a alegação de que o efeito tóxico de qualquer substância, é dependente da dose utilizada, dessa forma, conclui-se que o EEJ nas concentrações 1 mg e 0,5 mg / mL não apresentou letalidade, demonstrando a segurança do seu uso, estimulando futuras pesquisas tanto nos aspectos de avaliação de toxicidade bem como do seu potencial para aplicação em alimentos.

5.6 Análise sensorial

5.6.1 Grupo focal

A sessão de um grupo focal é caracterizada por um conjunto de técnicas abordadas por um mediador imparcial, objetivando a coleta de informações de um determinado produto através de uma interação dos participantes, avaliando-se suas expressões e opiniões sobre o produto. Esse tipo de técnica tem sido utilizada em muitos estudos de alimentos com a finalidade de apreciar um conjunto de aspectos, dentre eles, preferências alimentares, frequência de consumo, entre outros (BERTELSEN *et al.*, 2021; MANZOOR *et al.*, 2021).

Os dados obtidos quanto a avaliação dos aspectos mais generalizados referente ao consumo de gelatina por parte dos 8 participantes não treinados, são descritos na Tabela 7.

Tabela 7 – Aspectos gerais de consumo de gelatina – Grupo focal

Aspecto avaliado	Sim (%)	Não (%)
Tem hábito de consumir gelatina?	50	50
Consome gelatina de uva?	37,5	62,5
Já consumiu gelatina vegetal?	37,5	62,5
Algum outro produto contendo gelatina vegetal?	100	-

Fonte: elaborada pela autora.

Após análise e discussão das informações contidas nas gravações e anotações, os dados revelados na sessão foram compilados e estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8 – Resultado da apuração sensorial do grupo focal

Amostra	Aparência/cor	Aroma	Textura	Sabor	Aceitação Global
Controle (sem EEJ)	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatória
Amostra 1 (9mg)	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatória
Amostra 2 (15mg)	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatória
Amostra 3 (30mg)	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatória
Amostra 4 (50mg)	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório*	Insatisfatória*
Amostra 5 (100mg)	Satisfatório	Insatisfatório*	Satisfatório	Insatisfatório*	Insatisfatória*
Amostra 6 (150mg)	Satisfatório	Insatisfatório*	Satisfatório	Insatisfatório*	Insatisfatória*

Fonte: Elaborada pela autora.

*Avaliação considerada insatisfatória a partir das respostas expressas pela maioria dos participantes.

No primeiro aspecto avaliado, aparência/cor, os participantes relataram opiniões equivalentes para todas as 7 amostras, referindo-se ao aspecto visual do produto como “ótima aparência”, “cor atrativa”, “brilhosa” e “não tem aspecto artificial”.

Na avaliação do quesito aroma, os termos referidos pelos participantes foram “amei o aroma”, “aroma não muito intenso”, “lembra suco de uva integral”, para as amostras controle, amostra 1, 2, 3 e 4, entretanto, a avaliação olfativa das amostras 5 e 6, foram expressos termos como “aroma herbáceo” e “aroma terroso”, o que demonstra que quanto maior a concentração de EEJ adicionado, maior a percepção do seu aroma. Dessa forma, as amostras 5 e 6 foram consideradas insatisfatórias.

Já para o quesito textura, os termos utilizados foram semelhantes para todas as amostras analisadas. Os participantes relataram um produto com boa firmeza, “semelhante a gelatina tradicional”, “exudativa”, “homogênea”, “corte firme”. Diante disso, no quesito textura, todas as amostras foram consideradas satisfatórias.

O penúltimo quesito avaliado revelou insatisfação quanto as amostras 4, 5, e 6. Segundo os avaliadores, as amostras apresentaram sabor residual amargo, com forte adstringência, além de sabor herbáceo e terroso. Dessa maneira, concluiu-se que o limiar de aceitação para a adição de EEJ, no teste de grupo focal, foi determinado em 30mg, classificando assim as amostras controle, 1, 2 e 3 para a etapa da análise sensorial.

O último critério avaliado, a aceitação global, mostrou que o produto foi bem aceito pelo grupo e que apesar de as amostras 4, 5 e 6, terem sido consideradas insatisfatórias pelos participantes, todos eles informaram que consumiriam o produto. Na discussão, eles relataram um fator surpresa, pois quando se referem a uma degustação de gelatina de uva, espera-se um produto visualmente artificial e de sabor muito doce, entretanto, o produto apresentado neste trabalho superou suas expectativas em virtude da composição natural e em refutação a pseudo saudabilidade da gelatina tradicional.

5.6.2 Produção da Gelatina Vegetal de Uva

Para a produção da gelatina foram utilizados 840mL de suco de uva integral, 360mL de água, 50g de xilitol, 30g de gelatina vegetal (50% da indicação do rótulo do fabricante). Inicialmente, foram dissolvidos 30g de gelatina vegetal em 360ml de água mineral fervente, em seguida, foram adicionados 50g de xilitol e por último, adicionou-se 840mL de suco de uva integral. Posteriormente a este processo, a solução resultante foi fracionada em copos

descartáveis (30mL) e acondicionadas sob refrigeração (5 a 8° C). Os ingredientes utilizados e o produto final são demonstrados na Tabela 9 e Figura 13

Tabela 9 – Ingredientes utilizados no preparo da gelatina

Ingredientes	Controle	Amostra A	Amostra B	Amostra C
Suco de uva integral	840mL	840mL	840mL	840mL
Água mineral	360mL	360mL	360mL	360mL
Xilitol	50g	50g	50g	50g
Gelatina vegetal	30g	30g	30g	30g
Extrato bruto de jambu	-	9mg	15mg	30mg

Fonte: Elaborada pela autora.

Figura 13 – Formulação final de gelatina vegetal de uva adicionada de EEJ



Fonte: Acervo da autora.

5.6.3 Caracterização dos provadores

Os 80 provadores que participaram da análise sensorial da gelatina vegetal de uva adicionada de EEJ foram caracterizados com relação ao sexo, escolaridade, faixa etária, consumo de gelatina em casa, frequência de consumo e o quanto gostam, conforme descrito na Tabela 10.

Tabela 10 – Descrição do perfil dos provadores das amostras de gelatina vegetal

Parâmetro		Percentuais (%)
Idade	<18	2,5
	18-25	87,50
	25-35	7,5
	35-45	1,25
	>45	1,25
Sexo	Feminino	60
	Masculino	40
Escolaridade	Fundamental	-
	Médio	3,75
	Superior incompleto	83,75
	Superior completo	7,50
	Pós-graduação	5
Consumo em casa	Sim	48,75
	Não	51,25
Frequência de consumo	Diariamente	1,25
	2 a 4 vezes por semana	1,25
	Quinzenalmente	10
	Mensalmente	87,50
O quanto gosta de gelatina	Gosto Pouco	11,25
	Gosto moderadamente	60
	Gosto muito	28,75

Fonte: A autora.

De acordo com a tabela acima, 60% dos provadores não treinados eram do sexo feminino e 40% do sexo masculino. Destes, 87,50% possuíam idade entre 18 e 25 anos e 83,75% possuíam o nível superior incompleto, caracterizando a participação majoritária de jovens. Além disso, o consumo de gelatina em casa apresentou um percentual aproximado (48,75% sim e 51,25% não), a grande maioria (87,50%) relatou o consumo mensal de gelatina e 60% dos participantes relataram gostar moderadamente do produto.

Segundo Barbosa *et al.* (2013) a gelatina tem aceitação elevada entre crianças e adolescentes, e é consumida por indivíduos de todas as idades, principalmente por ser um

alimento de fácil preparo e saboroso. Dessa forma, os participantes da análise sensorial do nosso estudo, podem ser considerados bons julgadores uma vez que, prevalentemente, são jovens universitários com rotina acadêmica árdua que buscam praticidade para o dia-a-dia.

5.6.4 Teste de aceitabilidade - Escala hedônica

Entre os métodos mais utilizados para mensurar a aceitabilidade de um produto está a escala hedônica. Por meio dessa escala, os provadores exteriorizam sua aceitação pelo produto através da atribuição de notas aos parâmetros analisados, numa escala pré-estabelecida que de forma gradual apresenta os termos “gostei” e “desgostei”. O teste de escala hedônica estruturado de 9 pontos é o mais utilizado para a análise de aceitação de alimentos, pois é caracterizado pelo fácil entendimento, possibilitando a participação de provadores não treinados, sendo ideal para testes com consumidores (SILVA; MINIM; RIBEIRO, 2005).

Os resultados da aceitabilidade da gelatina vegetal de uva adicionada de extrato bruto de jambu encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultados do teste de aceitabilidade escala hedônica das formulações de gelatina vegetal com as concentrações de 9mg, 15mg, 30mg de extrato bruto de jambu e amostra controle.

Amostra	Sabor	Cor	Textura	Aceitação global	Intenção de compra	Idealidade do sabor doce
Controle	6,038 ^a	7,500 ^a	7,000 ^a	6,500 ^a	3,075 ^a	-0,675 ^a
Amostra A (9 mg)	6,088 ^a	7,688 ^a	6,913 ^a	6,500 ^a	3,075 ^a	-1,000 ^a
Amostra B (15 mg)	5,838 ^{ab}	7,675 ^a	6,888 ^a	6,288 ^{ab}	3,075 ^a	-0,675 ^a
Amostra C (30 mg)	5,100 ^b	7,188 ^a	6,513 ^a	5,713 ^b	2,475 ^a	-0,738 ^a

Fonte: A autora.

Médias com pelo menos uma letra igual, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância e médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os parâmetros cor e textura foram assinalados na escala hedônica entre gostei moderadamente (nota 7) e gostei ligeiramente (nota 6). As notas de aceitação global e sabor ficaram entre gostei ligeiramente (nota 6) e nem gostei nem desgostei (nota 5). Já para intenção de compra as notas ficaram entre tenho dúvidas se compraria (nota 3) e provavelmente não compraria (nota 2). Finalmente, a idealidade do sabor doce revelou média na escala no termo muito menos doce que o ideal (-1).

As amostras contendo diferentes concentrações de extrato bruto de jambu não diferiram entre si nos parâmetros de cor, textura, intenção de compra e idealidade do sabor

doce. Entretanto, na amostra C, contendo maior concentração do extrato (30mg), os parâmetros de aceitação global e sabor diferiram estatisticamente das demais ($p>0,05$) obtendo-se valores na escala hedônica dentro dos termos nem gostei nem desgostei (nota 5). Tal fato pode ser explicado em razão do sabor amargo residual que, conforme Pereira (2019) é característico em extratos do gênero *Acmella*, que mesmo passando por diversos processamentos, ainda podem ficar evidentes.

Através da visão, são alcançadas as primeiras percepções a respeito de um alimento, como a cor do alimento, forma, textura, aparência, superfície, brilho, tamanho. Dentre esses aspectos, a cor é apontada como um dos mais importantes atributos no momento da escolha de um alimento, podendo fazer com que um determinado produto seja aceito ou rejeitado antes mesmo de ser provado (Palermo, 2015). Diante disso, o quesito cor, surpreendentemente, revelou uma boa pontuação no produto analisado, visto que, ao se avaliar uma gelatina de uva, de acordo com os padrões do produto comercializado, espera-se um produto de cor roxa, clara e límpida e o produto elaborado no nosso trabalho, diverge do padrão uma vez que apresenta cor semelhante ao vinho (Item 5.6.2, Figura 13).

Johann e Gräff (2014), avaliaram a aceitabilidade de gelatinas produzidas com corantes artificiais, naturais e extratos vegetais por crianças de 8 a 14 anos e observou uma melhor aceitação para a gelatina produzida com corante artificial (84,4%), seguida da gelatina com corante natural (74,4%) e extrato vegetal (72,8%). Almeida, Vanelle e Santana (2012), também avaliaram a aceitabilidade de gelatina produzida com corante e saborizante artificial de uva e obtiveram boa avaliação do produto, adquirindo a nota 7 (gostei) na escala hedônica.

De acordo com os resultados apresentados anteriormente, e com base nos resultados obtidos no nosso estudo, infere-se que, o parâmetro cor, alcançou impacto positivo na avaliação do produto, visto que revelou boa aceitação pelos participantes mesmo não sendo utilizados corantes artificiais, caracterizando um produto atrativo visualmente, chamando a atenção do consumidor para um dos principais aspectos avaliados no momento da compra, a cor.

Nos resultados obtidos para o quesito textura, as amostras apresentaram textura desejável para uma gelatina, o que corrobora com um dos objetivos do nosso trabalho, a produção um produto semelhante a gelatina tradicional.

Na elaboração do produto, a proporção de gelatina vegetal utilizada para gelificação e obtenção de textura de gelatina foi de 30g para 1.200mL de formulação (50% da indicação do rótulo do fabricante) o que se assemelha ainda mais com a gelatina padrão uma vez que, para a preparação do mesmo volume do produto padrão (1.200mL), utiliza-se 28,8g de gelatina (Dr. Oetker®).

Palazzo e Bolini (2009), avaliaram a aceitação de seis amostras de gelatinas tradicionais de três diferentes marcas líderes e no parâmetro textura, obtiveram valores na escala hedônica majoritariamente próximos ao termo gostei ligeiramente (nota 6). Já no estudo de Almeida *et al.* (2016), com gelatinas produzidas a partir de trasos de frango, os valores revelados demonstraram uma baixa aceitação pelos participantes, chegando a valores próximos do termo desgostei muito (nota 2).

Esses resultados sugerem que, a gelatina produzida no nosso estudo, utilizando como material gelificante a gelatina vegetal, possui textura semelhante a gelatina tradicional, potencializando o uso desses gelificantes como substituto da gelatina de origem animal e com isso aumentando as alternativas tanto no mercado de alimentos funcionais e veganos como para o público em geral, além de reduzir potenciais danos à saúde atribuídos aos constituintes da gelatina comercial.

Na avaliação da intenção de compra, a maioria dos provadores revelaram ter dúvidas se comprariam o produto. Esses resultados são justificados pelos resultados obtidos para idealidade do sabor doce, onde todos os participantes relataram um produto muito menos doce que o ideal. Segundo Araújo (2003), para que ocorra a percepção do sabor de um determinado alimento, as substâncias presentes nele, devem possuir a capacidade de difundir-se entre as papilas gustativas. Portanto, compostos solúveis e difusíveis, como o açúcar fornecem graus gustativos mais altos. Isso explica a objeção dos provadores quanto a intenção de compra, visto que o produto elaborado não contém açúcar e sim um substituto de sacarose com poder adoçante semelhante a este que por sua vez, com o objetivo de não tornar a elaboração do produto dispendiosa, foi utilizado em pequena concentração de xilitol (Item 5.6.2, Tabela 9), deixando a gelatina com um sabor mais próximo ao sabor natural do suco de uva integral, o que pode ter influenciado negativamente na intenção de compra dos julgadores.

O teste de preferência revelou que 32,5% (26 provadores) marcaram a amostra controle como preferida, seguido por 33,75% (27 provadores) a amostra A, 25% (20 provadores) a amostra B e 8,75% (7 provadores) a amostra C.

O resultado equilibrado de preferência entre a amostra controle e a amostra A, demonstram que quanto maior a concentração de extrato, menor a aceitação, o que explica-se pelo sabor residual amargo característico do extrato. Dessa forma, sugere-se que maiores concentrações de xilitol, ou uma combinação de edulcorantes naturais pode ser utilizada para atenuar o sabor amargo do jambu, melhorar o sabor doce do produto e conseqüentemente aumentar sua aceitação.

5.7 Bioacessibilidade

O jambu é uma hortaliça de pequeno porte pertencente à família Asteraceae, comumente utilizada na culinária típica da região norte do Brasil (GUSMÃO; GUSMÃO, 2013). É uma hortaliça rica em proteínas, lipídeos, fibras, minerais (magnésio, fósforo e ferro), vitaminas B1, B2 e C (AGUIAR *et al.*, 2014) além de substâncias bioativas como o espilantol, compostos fenólicos, poliaminas, flavonoides e carotenoides (BORGES *et al.*, 2015).

Esse tipo de alimento pode ser consumido em quantidades consideráveis, porém, para se atingir os efeitos benéficos a saúde, que esses vegetais são capazes de conceder, por meio do seu conteúdo de compostos bioativos, estes devem estar bioacessíveis, para que assim possam ser eficazmente absorvidos do intestino para a circulação, alcançando seus tecidos alvo no organismo (MANACH *et al.*, 2004).

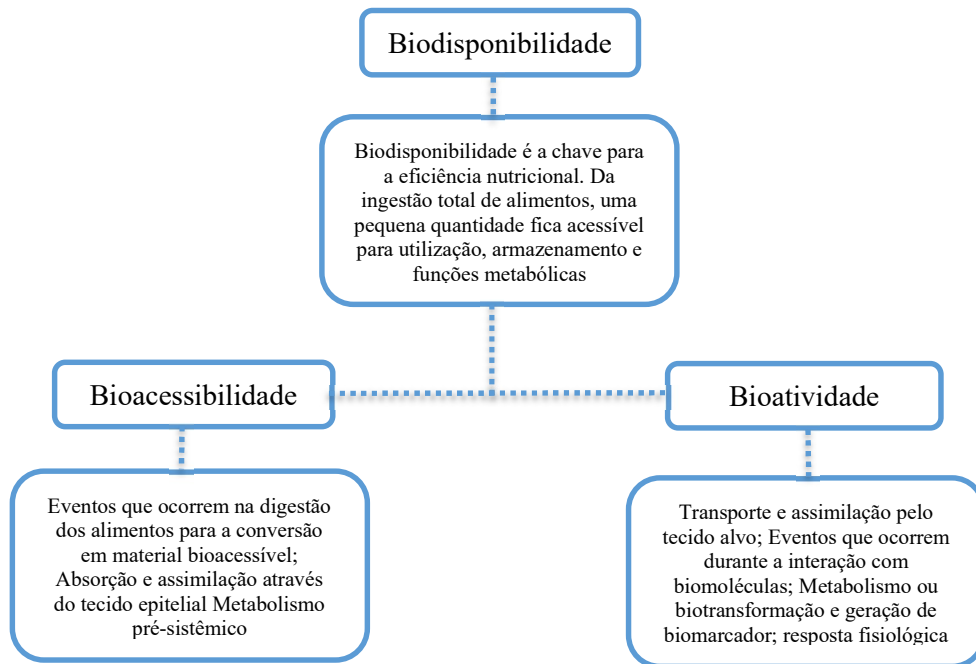
O estudo da bioacessibilidade *in vitro*, por meio da simulação de digestão gastrointestinal, é frequentemente utilizado para avaliação da liberação de compostos da matriz alimentar e análise do comportamento dessas substâncias, frente as condições da digestão (WANG *et al.*, 2017). Contudo, mesmo que existam evidências sobre os efeitos benéficos do consumos de vegetais ricos substâncias bioativas, faz-se necessário a compreensão quanto aos aspectos de bioacessibilidade e biodisponibilidade de tais substâncias, para uma avaliação mais fidedigna de sua influência na promoção e manutenção da saúde (GRANADO *et al.*, 2006).

Os conceitos de bioacessibilidade e biodisponibilidade são frequentemente empregados de forma imprecisa, dessa forma, é importante ressaltar que a biodisponibilidade engloba os conceitos de bioatividade e bioacessibilidade. A especificação da bioacessibilidade desses compostos, permite a obtenção de informações quanto a determinação de quantidade

satisfatória e as matrizes alimentares apropriadas para um determinado alimento, afim de garantir sua qualidade nutricional e pode ser também utilizada para estimar aspectos relativos ao potencial dos compostos bioativos na análise de seus benefícios à saúde (ALEGRÍA-TORÁN; BARBERÁ-SÁEZ; CILLA-TATAY, 2015).

A Figura 14 apresenta uma breve descrição de eventos que ocorrem nos processos de biodisponibilidade, bioacessibilidade e bioatividade.

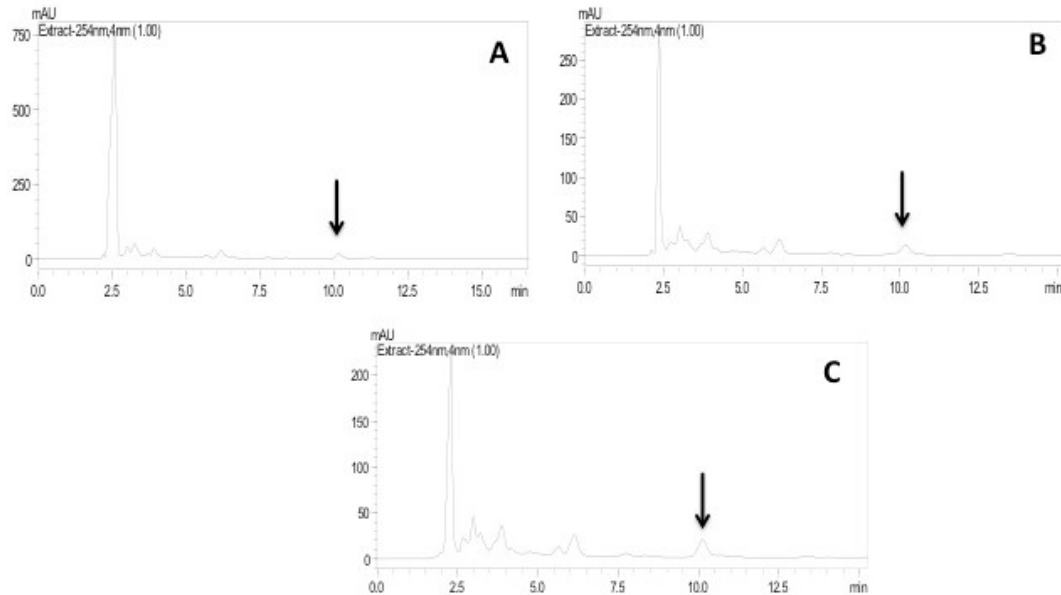
Figura 14 – Eventos dos processos de biodisponibilidade, bioacessibilidade e bioatividade



Fonte: Adaptado de Fernández-garcía; Carvajal-lérida; Pérez-gálvez (2009).

As análises de bioacessibilidade do presente estudo foram realizadas nas amostras de gelatina adicionadas de EEJ, conforme descrito no item 6.2. Foram analisadas três amostras de gelatina contendo as seguintes concentrações de EEJ: Gelatina + Extrato 1 (GE1) 7,5%, Gelatina + Extrato (GE2) 12,5% e Gelatina + Extrato 3 (GE3) 25% de EEJ. A análise quantitativa foi realizada, via CLAE-DAD, para a obtenção das concentrações bioacessíveis de espilantol, após o processo de digestão simulada, levando-se em consideração o teor de $86,83 \pm 1,07$ mg de espilantol/g de EEJ. Este composto foi escolhido como parâmetro devido suas funções biológicas extensamente relatadas na literatura. A Figura 15 apresenta os cromatogramas referentes as gelatinas adicionadas de extrato de jambu.

Figura 15 – Cromatogramas de identificação e quantificação de espilantol nas gelatinas adicionadas de EEJ.



Fonte: A autora.

(A) Cromatograma GE1 7,5% de EEJ obtido por cromatografia líquida de alta precisão com detector Diode Array (CLAE-DAD) (RT min =10.15); (B) Cromatograma GE2 12,5% de EEJ obtido por cromatografia líquida de alta precisão com detector Diode Array (CLAE-DAD) (RT min =10.16); (C) Cromatograma GE3 25% de EEJ obtido por cromatografia líquida de alta precisão com detector Diode Array (CLAE-DAD) (RT min =10.12).

As pesquisas encontradas na literatura envolvendo variáveis da família Asteraceae quanto a bioacessibilidade *in vitro*, tem como foco, a investigação da fração bioacessível de outros compostos presentes na planta. Maria-Ferreira *et al.* (2014), investigou a bioacessibilidade da ramnogalacturonana (rGAL), um polissacarídeo presente em *Acmella oleracea* (Asteraceae) que apresenta função promissora no manejo terapêutico da colite ulcerativa. D'Antuono *et al.* (2018), analisou a bioacessibilidade de compostos bioativos em duas cultivares de Asteraceas (Cardo e Alcaxofra), porém, até a presente data, não foram encontradas pesquisas envolvendo o estudo da bioacessibilidade do espilantol.

Na Tabela 12, são apresentados os resultados obtidos neste estudo para a bioacessibilidade do espilantol nas amostras de gelatina.

Tabela 12 – Ensaio de bioacessibilidade do espilantol em cada amostra de gelatina

Amostra	EEJ Adicionado (mg)	CEa (mg)	CEd (mg)	PEB (%)
GE1	9	0,78	0,18 ± 0,04	23,07
GE2	15	1,3	0,36 ± 0,007	27,69
GE3	30	2,6	0,48 ± 0,13	18,46

Fonte: A autora.

CEa: Concentração de Espilantol antes do ensaio de digestão simulada *in vitro*; CEd: Concentração de Espilantol após o ensaio de digestão *in vitro*; PEB (%): Percentual de Espilantol bioacessível.

As análises de bioacessibilidade são realizadas com o intuito de verificar modificações que possam ocorrer ao longo das etapas do processo de digestão, de modo que, caracteriza-se como fração bioacessível aquela que uma vez liberada de sua matriz alimentar, torna-se susceptível à absorção (GALANAKIS, 2016).

Durante o processo de digestão *in vitro*, diferentes fatores intrínsecos e extrínsecos aos alimentos, podem interferir na bioacessibilidade de um componente alimentar, como por exemplo a matriz alimentar em que produto se encontra, as fibras alimentares presentes no alimento, a atividade de água, o tipo de composto alimentar analisado, entre outros. Portanto, a diminuição na concentração de um composto pós digestão simulada, é um evento provável (CARDOSO *et al.*, 2015; MOURÃO *et al.*, 2005)

Os resultados supracitados, demonstram que a concentração de espilantol diminuiu após o processo de digestão simulada, conforme esperado. O espilantol é uma substância descrita como um óleo viscoso ardente presente no extrato de jambu, sendo caracterizado como uma fonte de ácidos graxos essenciais como ácido palmítico, ácido linoleico (ômega 6) e ácido linolênico (ômega 3), a planta também apresenta um polissacarídeo péctico pertencente ao grupo das fibras solúveis, a ramnogalacturonana (rGAL) (MOREIRA *et al.*, 2008).

As pectinas são um grupo de fibras que apresenta como característica, a formação de géis viscosos e possuem efeito hipocolesterolêmico já reconhecido cientificamente (COZZOLINO, 2016). De acordo com Santos, Dias e Santos (2021), o efeito hipocolesterolêmico das fibras solúveis está relacionado a capacidade de adesão aos sais biliares, o que prejudica o processo de micelinização de materiais lipídicos, dificultando sua absorção e aumentando a excreção. Dessa forma, sugere-se que a presença da ramnogalacturonana no extrato de jambu, bem como das fibras carragenana e a goma de alfarroba presentes no gelificante vegetal, apresentaram efeito parcialmente antagônico à bioacessibilidade do espilantol.

Para Constant *et al.* (2016), a redução de compostos lipofílicos após o ensaio de bioacessibilidade, também ocorre em virtude do conteúdo de fibras presentes no alimento. Ainda segundo os autores, a água contida no alimento, pode atuar como agente plastificante, prejudicando a liberação dos materiais lipídicos de sua matriz, o que pode favorecer uma maior retenção do composto na matriz alimentar. Essas hipóteses confirmam que a variabilidade de diferentes fatores, podem interferir nas concentrações finais bioacessíveis desses compostos.

Na ausência de ensaios de bioacessibilidade *in vitro* envolvendo o espilantol, até a presente data, sugere-se que, devido o espilantol estar presente em abundância no óleo essencial de jambu, portanto em matriz lipofílica, uma possível concentração elevada de fibras solúveis

presentes no extrato adicionado, uma vez que o extrato utilizado foi o extrato bruto, bem como a quantidade de água total e as fibras solúveis contidas nas formulações de gelatina, podem ter influenciado a retenção do espilantol na matriz alimentar, reduzindo sua bioacessibilidade.

Dessa forma infere-se que, a bioacessibilidade do espilantol variou entre 18,46 e 27,69% e que esses dados fornecem informações relevantes na utilização de matrizes alimentares que forneçam uma melhor concentração de fração acessível de compostos bioativos, podendo servir de ponto de partida para a avaliação da biodisponibilidade do espilantol, além de auxiliar como ferramenta de estimativa para a mensuração do potencial bioativo do espilantol e seus possíveis benefícios à saúde.

6 CONCLUSÃO

O extrato etanólico bruto de jambu (*Acmella ciliata*) obtido por maceração, apresentou rendimento de 4,75% e um teor de espilantol de 8,68% e o padrão isolado demonstrou uma pureza de 83,60%. A ação antioxidante foi melhor identificada pelo método ABTS e a quantificação de CFT foi classificada com intermediária. O potencial antimicrobiano foi positivo para *L. monocytogenes* e *S. aureus* (Gram +) e *S. almonella enteritidis* (Gram -).

O teste de toxicidade frente ao Zebrafish (*Danio rerio*), nas concentrações 1.000 ppm e 500 ppm e não apresentou mortalidade entre os animais. Entretanto, demonstrou uma redução na atividade locomotora destes, no teste de maior concentração.

A análise sensorial demonstrou boa aceitação do produto nos parâmetros sabor, cor textura e aceitação global e a análise de preferência, revelou a preferência de 33,75% (27 provadores) para a amostra A (9 mg de EEJ).

No entanto, nos parâmetros de intenção de compra e idealidade do sabor doce, o produto não obteve uma boa aprovação provavelmente pela ausência de sacarose na composição do produto.

A bioacessibilidade do espilantol após digestão gastrointestinal simulada, apresentou percentuais de 18,46 a 27,69% nas concentrações analisadas.

Em face do exposto, considera-se que o uso da gelatina vegetal adicionada de extrato de jambu, ostenta um aspecto interessante na perspectiva do benefício à saúde humana por obra dos efeitos inerentes aos compostos presentes em sua composição e dessa forma atuando como estratégia para a prevenção do desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis.

REFERÊNCIAS

- ABEYSIRI, G. R. P. I. *et al.* Screening of phytochemical, physico-chemical and bioactivity of different parts of *Acmella oleraceae* Murr. (Asteraceae), a natural remedy for toothache. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 50, p. 852-856, out. 2013.
- AGISHO, H.; OSIE, M.; LAMBORE, T. Traditional medicinal plants utilization, management and threats in Hadiya Zone, Ethiopia. **Journal of Medicinal Plants Studies**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 94-108, 2014.
- AGUIAR, J. P. L. *et al.* Biodisponibilidade do ferro do jambu (*Spilanthes oleracea* L.): estudo em murinos. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananideua, v. 5, n. 1, p. 19-24, 2014.
- AHMAD, F.; RICHARDSON, M. K. Exploratory behaviour in the open field test adapted for larval zebrafish: impact of environmental complexity. **Behavioural processes**, [s. l.], v. 92, p. 88-98, 2013.
- AHMED, S. *et al.* Antimicrobial cytotoxicity and phytochemical activities of *Spilanthes acmella*. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, [s. l.], v. 47, n. 4, p. 437-440, 2012.
- ALBUQUERQUE, D.; LEITE, F. da S. **Dissimilaridade genética e seleção de descritores da parte aérea de jambu [*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen]**. 2020. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal Rural da Amazônia, Capitão Poço, 2020. Disponível em: <http://bdta.ufra.edu.br/jspui/handle/123456789/1578>. Acesso em: 06 dez. 2020.
- ALBUQUERQUE, M. V. *et al.* Educação alimentar: uma proposta de redução do consumo de aditivos alimentares. **Química e Sociedade**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 51-57, 2012.
- ALCANTARA, B. N. *et al.* Pharmacognostic analyses and evaluation of the in vitro antimicrobial activity of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen (Jambu) floral extract and fractions. **Journal of Medicinal Plants Research**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 91-96, 2015.
- ALEGRÍA-TORÁN, A.; BARBERÁ-SÁEZ, R.; CILLA-TATAY, A. Bioavailability of minerals in foods. *In*: LA GUARDIA, M.; GARRIGUES, S. **Handbook of mineral elements in food**. Chichester, West Sussex, UK; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2015. p. 41-67.
- ALMEIDA, P. F.; VANALLE, R. M.; SANTANA, J. C. C. Produção de Gelatina: Uma perspectiva competitiva para a cadeia produtiva de frango de corte. **Produto & Produção**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 22-39, 2012.
- ALMEIDA, P. F. *et al.* Avaliação da qualidade sensorial de formulações de gelatinas produzidas a partir de colágeno extraído de tarsos de frango utilizando planejamento fatorial. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 18, n. 2, p. 185-194, 2016.

- AMBAVADE, S. D. *et al.* Anxiolytic Effect of Ethanol Extract of Roots of *Spilanthes Acmella* Murr. in Mice. **International Journal of Advances in Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 5, n. 2, p. 81-90, 2014.
- ANDRÉS-LACUEVA, C. *et al.* Phenolic compounds: chemistry and occurrence in fruits and vegetables. In: LA ROSA, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. **Fruit and vegetable phytochemicals: chemistry, nutritional value and stability**. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. p. 53-80.
- ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal vascular brasileiro**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 145-154, 2020.
- ARAÚJO, I. E. Representações gustativas no córtex humano, e o controle central do apetite. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, São Paulo, v. 25 n. S2, p. 25-28, 2003.
- ARCANJO, D. D. R. *et al.* Bioactivity evaluation against *Artemia salina* Leach of medicinal plants used in Brazilian Northeastern folk medicine. **Brazilian Journal of Biology**, [s. l.], v. 72, n. 3, p. 505-509, 2012.
- ARELLANO-AGUILAR, O. *et al.* Use of the zebrafish embryo toxicity test for risk assessment purpose: case study. **Journal of Fisheries Sciences. com**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 52-62, 2015.
- ARRIAGA-ALBA, M.; RIOS, M. Y.; DÉCIGA-CAMPOS, M. Antimutagenic properties of affinin isolated from *Heliopsis longipes* extract. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], 51, n. 8, p. 1035-1039, 2013.
- ARRUDA, A. C. *et al.* Cafés convencional, orgânico e descafeinado: impacto da informação na sua aceitação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, MG, n. 9, p. 94-99, 2006.
- BAE, S. S. *et al.* A validated liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry method for quantification of spilanthol in *Spilanthes acmella* (L.) Murr. **Phytochemical analysis**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 438-443, 2010.
- BAKONDI, E. *et al.* Spilanthol inhibits inflammatory transcription factors and iNOS expression in macrophages and exerts anti-inflammatory effects in dermatitis and pancreatitis. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 20, n. 17, p. 1-18, 2019.
- BALIEIRO, O. C. *et al.* Analytical and preparative chromatographic approaches for extraction of spilanthol from *Acmella oleracea* flowers. **Microchemical Journal**, [s. l.], p. 1-8, 2020.
- BAMIA, C. *et al.* Fruit and vegetable consumption in relation to hepatocellular carcinoma in a multi-centre, European cohort study. **British journal of cancer**, [s. l.], v. 112, n. 7, p. 1273-1282, 2015.
- BARBOSA, M. I. M. J. *et al.* Desenvolvimento e análise sensorial de gelatina elaborada com frutas liofilizadas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 15, n. 2, p. 129-136, 2013.

BARBOSA, T. A. *et al.* Avaliação microbiológica de couve minimamente processada comercializada em supermercados de Brasília, DF. **Higiene Alimentar**, [s. l.], v. 31, n. 270/271, p. 97-101, 2017.

BARROS, A. S. *et al.* Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. **Industrial Crops and Products**, [s. l.], v. 76, p. 557-564, 2015.

BEITING, D. P.; ROOS, D. S. A systems biological view of intracellular pathogens. **Immunological reviews**, [s. l.], v. 240, n. 1, p. 117-128, 2011.

BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos funcionais: uma breve revisão. **Ciência e Cultura**, Barretos, v. 6, p. 11-20, 2010.

BERTELSEN, A. S. *et al.* Cross-modal effect of vanilla aroma on sweetness of different sweeteners among Chinese and Danish consumers. **Food Quality and Preference**, [s. l.], v. 87, p. 1-10, 2021.

BEVILACQUA, H. G. C. R. Horta medicinal comunitária e qualidade da água. *In*: HARAGUCHI, L. M. M.; CARVALHO, O. B. (org.). **Plantas medicinais**. São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, 2010. Cap. 9. Disponível em: https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/upload/meio_ambiente/arquivos/plantas_med_web.pdf. Acesso em: 13 jul. 2020.

BOONEN, J. *et al.* Transdermal behaviour of the N-alkylamide spilanthol (affinin) from *Spilanthes acmella* (Compositae) extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 127, n. 1, p. 77-84, 2010.

BOONTHA, S. *et al.* Efeitos citotóxicos, de formação de colônias e anti-migratórios do extrato aéreo de *Spilanthes acmella* (Asteraceae) em células MCF-7 e sua formulação em creme. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 19, n. 1, p. 17-24, 2020.

BORGES, C. D.; VENDRUSCOLO, C. T. Goma Xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008.

BORGES, L. S.; GOTO, R.; LIMA, G. P. P. Índices morfo-fisiológicos e produtividade de cultivares de jambu influenciadas pela adubação orgânica e mineral. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 6, p. 1768-1778, 2014.

BORGES, L. S. *et al.* Concentração das atividades antioxidantes em plantas de jambu, cultivadas sob adubação orgânica e mineral. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 11, n. 22, p. 787-800, 2015.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade Brasileira**. [Brasília, DF]: Ministério do Meio Ambiente, [2020]. Disponível em: <https://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>. Acesso em: 13 jul. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 18, de 30 de abril de 1999**. Brasília, DF: Anvisa, 1999. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-no-18-de-30-de-abril-de-1999.pdf/@download/file/resolucao-no-18-de-30-de-abril-de-1999.pdf>. Acesso em: 18 nov. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003**. Brasília, DF: Anvisa, 2003. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html. Acesso em: 18 nov. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_alimentar_populacao_brasileira_2ed.pdf. Acesso em: 18 nov. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 2. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010.

CALIXTO J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 2, p. 179-189, 2000.

CARDOSO, C. *et al.* Bioaccessibility assessment methodologies and their consequences for the risk–benefit evaluation of food. **Trends in Food Science & Technology**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 5-23, 2015.

CARDOSO, M. O.; GARCIA, L. C. Jambu. *In*: CARDOSO, M. O. (coord.). **Hortaliças não convencionais da Amazônia**. Manaus: EMBRAPA, 1997. p. 133-140.

CARRATU, B.; SANZINI, E. Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale. **Annali-Istituto Superiore di Sanita**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 7-16, 2005.

CASELANI, K. Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, [s. l.], v. 17, n. 3, p. 189–197, 2014.

CASSIANO, N. M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CARVALHO, B. M. A. *et al.* Métodos de detecção de fraude em leite por adição de soro de queijo. **REDVET, Revista electrónica de Veterinaria**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 1-7, 2007.

CHENG, Y.-B. *et al.* Alkylamides of *Acmella oleracea*. **Molecules**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 6970-6977, 2015.

- CHOI, H. G. *et al.* Atividade antiinflamatória de derivados do ácido caféico isolados das raízes de *Salvia miltiorrhiza* Bunge. **Arquivos de Pesquisa Farmacêutica**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 64-70, 2018.
- CHOW, C. K. Vitamin E and oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 215-232, 1991.
- CILIA-LÓPEZ, V. G. *et al.* Analgesic activity of *Heliopsis longipes* and its effect on the nervous system. **Pharmaceutical Biology**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 195-200, 2010.
- CLSI. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 27th ed. Wayne, Pennsylvania: CLSI, 2017.
- CLINTON, S. K.; GIOVANNUCCI, E. Diet, nutrition, and prostate cancer. **Annual review of nutrition**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 413-440, 1998.
- COLLYMORE, C.; RASMUSSEN, S.; TOLWANI, R. J. Gavaging adult zebrafish. **Journal of Visualized Experiments: JoVE**, [s. l.], n. 78, p. 1-5, 2013.
- CONSTANT, L. S. *et al.* Avaliação da bioacessibilidade de carotenoides em suco de melancia e produtos processados. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25.; CIGR SESSION 6 INTERNATIONAL TECHNICAL SYMPOSIUM, 10., 2016, Gramado. **Anais [...]**. Gramado: SBCTA Regional, 2016. P. 1-6.
- COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade dos nutrientes**. 5. ed. Barueri: Manole, 2016.
- COZZOLINO, S. M.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológica da nutrição**: nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença. Barueri: Manole, 2018.
- CRUZ, I. *et al.* Alkamides from Echinacea disrupt the fungal cell wall-membrane complex. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 21, n. 4, p. 435-442, 2014.
- DALLAZEN, J. L. *et al.* Pharmacological potential of alkylamides from *Acmella oleracea* flowers and synthetic isobutylalkyl amide to treat inflammatory pain. **Inflammopharmacology**, [s. l.], v. 28, n. 1, p. 175-186, 2020.
- D'ANTUONO, I. *et al.* Impact on health of artichoke and cardoon bioactive compounds: Content, bioaccessibility, bioavailability, and bioactivity. *In*: PETROPOULOS, S. A.; FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L. **Phytochemicals in Vegetables**: a valuable source of bioactive compounds, [S. l.]: Bentham Books, 2018. p. 316-393.
- DAWIDOWICZ, A. L.; WIANOWSKA, D.; OLSZOWY, M. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). **Food Chemistry**, [s. l.], v. 131, n. 3, p. 1037-1043, 2012.
- DELARCINA, S. *et al.* Inhibition of histamine-induced bronchospasm in guinea pigs treated with *Cecropia glaziovii* Sneth and correlation with the in vitro activity in tracheal muscles. **Phytomedicine**, [s. l.], v. 14, n. 5, p. 328-332, 2007.

DÉCIGA-CAMPOS, M.; RIOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B. Antinociceptive Effect of *Heliopsis longipes* Extract and Affinin in Mice. **Planta Medica**, [s. l.], v. 76, n. 7, p. 665-670, 2010.

DÉCIGA-CAMPOS, M. *et al.* Pharmacological and Toxicological Profile of Extract from *Heliopsis longipes* and Affinin. **Drug Development Research**, [s. l.], v. 73, n. 3, p. 130-137, 2012.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química nova na escola**, [s. l.], v. 7, n. 1, 1998.

DIAS, A. M. A. *et al.* Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, [s. l.], v. 61, p. 62-70, 2012.

DUBEY, S. *et al.* Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: a review. **Advances in pharmacological sciences**, [s. l.], v. 2013, p. 1-9, 2013.

DUTRA, R. C. L.; TAKAHASHI, M. F. K.; DINIZ, M. F. Importância da preparação de amostras em espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) na investigação de constituintes em materiais compostos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 41-47, 2013.

ELDIN, S., DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**. São Paulo: Manole, 2001.

ELMASTAS, M. *et al.* Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 20, n. 3-4, p. 337-345, 2007.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; PÉREZ-GÁLVEZ, A. In vitro bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. **Nutrition Research**, [s. l.], v. 29, p. 751-760, 2009.

FERREIRA, M. K. A. *et al.* Avaliação da Segurança não Clínica da Chalcona n-{4'[(2E)-3-(4-clorofenil)-1-(fenil) prop-2-en-1-ona]} Frente a zebrafish (*Danio rerio*) adulto. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 55861-55869, 2020.

FERREIRA, S. P. *et al.* Efeito do soro do leite e goma guar nos teores de lactose, ácido láctico e tempo de fermentação de bebidas lácteas. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Paraná, v. 31, n. 1, p. 39-50, 2013. Disponível em: <http://repositorio.furg.br/handle/1/4678>. Acesso em: 06 dez. 2020.

FIESP. **A mesa dos brasileiros**. São Paulo: FIESP, 2018.

FLOEGEL, A. *et al.* Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of food composition and analysis**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FONSECA, M. C. M. **Epamig pesquisa, produção de Plantas Medicinais para Aplicação no SUS**. Viçosa, MG: Jornal Dia de Campo, 2012.

FOOD poisoning. *In: ENCYCLOPÆDIA Britannica*. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://academic-eb-britannica.ez11.periodicos.capes.gov.br/levels/collegiate/article/food-poisoning/34797>. Acesso em: 24. set. 2020.

FRANCA, J. V. *et al.* Distinct growth and extractive methods of *Acmellaoleracea* (L.) RK Jansen rising different concentrations of spilanthol: an important bioactive compound in human dietary. **Food Research International**, [s. l.], v. 89, p. 781-789, 2016.

FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. **British journal of Nutrition**, [s. l.], v. 87, n. S2, p. S287-S291, 2002.

FREITAS, T. C. M.; MELNIKOV, P. O uso e os impactos da reciclagem de cromo em indústrias de curtume em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Engenharia Sanitária e ambiental**, Rio de Janeiro, v. 11, n. 4, p. 305-310, 2006.

FULLAS, F. The status of African medicinal plants and their future. **African Renaissance**, [s. l.], v. 4, n. 3-4, p. 102-112, 2007.

GALANAKIS, C. M. (ed.). **Nutraceutical and functional food components: effects of innovative processing techniques**. Boston: Academic Press, 2016.

GEBAUER, D. L. *et al.* Effects of anxiolytics in zebrafish: similarities and differences between benzodiazepines, buspirone and ethanol. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, [s. l.], v. 99, n. 3, p. 480-486, 2011.

GERARDI, C. *et al.* Anti-proliferative, anti-inflammatory and anti-mutagenic activities of a *Prunus mahaleb* L. anthocyanin-rich fruit extract. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 27, p. 537-548, 2016.

GIADA, M. L.; MANCINI FILHO, J. The importance of dietary phenolic compounds from diet in the promoting of human health. **Publication UEPG: Biological and Health Sciences**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOEMINNE, A.; DEVLIES, W.; VANDERLINDEN, S. *Listeria monocytogenes* tijdens de zwangerschap. **Tijdschrift voor Geneeskunde**, [s. l.], v. 76, n. 5, p. 204-208, 2020.

GOMES, M. E. S.; BARBOSA, E. F. A técnica de grupos focais para obtenção de dados qualitativos. **Revista Educativa**, [s. l.], v. 1, n. 7, p. 1-7, 1999.

GRANADO, F. *et al.* Bioavailability of carotenoids and tocopherols from broccoli: in vivo and in vitro assessment. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 231, n. 11, p. 1733-1738, 2006.

- GRANATO, D. *et al.* Probiotic dairy products as functional foods. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, [s. l.], v. 9, n. 5, p. 455-470, 2010.
- GREGER, H. Alkamides: a critical reconsideration of a multifunctional class of unsaturated fatty acid amides. **Phytochemistry reviews**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 729-770, 2016.
- GUERIN, M.; HUNTLEY, M. E.; OLAIZOLA, M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. **TRENDS in Biotechnology**, [s. l.], v. 21, n. 5, p. 210-216, 2003.
- GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; FERNÁNDEZ, J.; LOMBÓ, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. **International journal of antimicrobial agents**, [s. l.], v. 52, n. 3, p. 309-315, 2018.
- GUSMÃO, M. T. A.; GUSMÃO, S. A. L. **Jambu da amazônia (Acmella oleracea):** características gerais, cultivo convencional, orgânico e hidropônico. Belém: Edufra, 2013.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals and other reactive species and disease. **Free radicals in biology and medicine**, [s. l.], v. 3, p. 617-783, 1999.
- HE, H. *et al.* κ -Carrageenan/Locust Bean Gum as Hard Capsule Gelling Agents. **Carbohydrate Polymers**, [s. l.], v. 175, p. 417-424, 2017.
- HOMMA, A. K. O. *et al.* Etnocultivo do jambu para abastecimento da cidade de Belém, estado do Pará. **Amazônia: Ciência e desenvolvimento**, Belém, v. 6, n. 12, p. 125-141, 2011.
- HONORATO, T. C. *et al.* Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 8, n. 5, p. 1, 2013.
- HORST, M. A.; LAJOLO, F. M. Biodisponibilidade de compostos bioativos de alimentos. *In*: COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2009. p. 772-807.
- HOWE, D. G. *et al.* ZFIN, the Zebrafish Model Organism Database: increased support for mutants and transgenics. **Nucleic acids research**, [s. l.], v. 41, n. D1, p. D854-D860, 2012.
- HOWE, K. *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, [s. l.], v. 496, n. 7446, p. 498-503, 2013.
- HU M. L. Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: more questions than answers. **Chang Gung Medical Journal**, [s. l.], v. 34, p. 449-460, 2011.
- HUANG, W.-Y. *et al.* Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. **Journal of Zhejiang University Science B**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 94-102, 2012.
- HUANG, Y. *et al.* The use of zebrafish (*Danio rerio*) behavioral responses in identifying sublethal exposures to deltamethrin. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 3650-3660, 2014.

HUI, Y. H. **Bailey's industrial oil & fat products**. 5th ed. New York: John Willey & Sons, 1996. v. 3.

HÜPPI, P. S. The role of oxygen in health and disease—a series of reviews. **Pediatric Research**, [s. l.], v. 65, n. 3, p. 261-268, 2009.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003**: Análise da disponibilidade domiciliar de alimentos e do estado nutricional no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2004.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2011.

IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2017-2018**: Avaliação Nutricional da Disponibilidade Domiciliar de Alimentos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2020.

ICMSF. **Microorganisms in Foods 7: Microbiological Testing in Food Safety Management**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002.

INTAWONGSE, M.; DEAN, J. R. Uptake of heavy metals by vegetable plants grown on contaminated soil and their bioavailability in the human gastrointestinal tract. **Food additives and contaminants**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 36-48, 2006.

IPGRI. **Strategic plan of neglected and underutilized plant species of the International Plant Genetic Resources Institute**. Roma: IPGRI, 2002.

JABLONSKY J. M.; BOHACH G. A. *Staphylococcus aureus*. In: DOYLE M. H.; BEUCHAT, L. R; MONTVTLLE, T. J. **Food microbiology. Fundamentals and frontiers**. Washington, dc: ASM, 1997.

JANSEN, R. K. The systematics of *Acmella* (Asteraceae-Heliantheae). **Systematic Botany Monographs**. S. l.: American Society of Plant Taxonomists, 1985.

JANZTEN, M. M. *et al.* Specific detection of *Listeria monocytogenes* in foods using commercial methods: from chromogenic media to real-time PCR. **Spanish Journal of Agricultural Research**, [s. l.], n. 3, p. 235-247, 2006.

JOHANN, A.; GRÄFF, T. B. A. Preferência e aceitação de gelatinas, destinadas ao público infantil, fabricadas com corantes artificiais, naturais e extratos vegetais. **Revista Destaques Acadêmicos**, Lajedo, v. 6, n. 3, p. 13-21, 2014.

JONES, P. J.; VARADY, K. A. Are functional foods redefining nutritional requirements. **Applied physiology, nutrition, and metabolism**, [s. l.], v. 33, n. 1, p. 118-123, 2008.

KALNY, P. *et al.* Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. **Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 381, n. 1-3, p. 99-104, 2007.

KATZBAUER, B. Properties and applications of xanthan gum. **Polymer degradation and Stability**, [s. l.], v. 59, n. 1-3, p. 81-84, 1998.

- KAWASHIMA, L. M.; SOARES, L. M. V. Perfil mineral de verduras cruas e cozidas consumidas no sul do Brasil. **Revista de Composição e Análise de Alimentos**, [s. l.], v. 16, n. 5, p. 605-611, 2003.
- KENNEDY, D. O.; WIGHTMAN, E. L. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. **Advances in Nutrition**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 32-50, 2011.
- KIM, D. *et al.* Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and food chemistry**, [s. l.], v. 50, n. 13, p. 3713-3717, 2002.
- KIM, D. *et al.* Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. **Journal of agricultural and food chemistry**, [s. l.], v. 51, n. 22, p. 6509-6515, 2003.
- KRIS-ETHERTON, P. M. *et al.* Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. **The American journal of medicine**, [s. l.], v. 113, n. 9, p. 71-88, 2002.
- KRISTANC, L.; KREFT, S. European medicinal and edible plants associated with subacute and chronic toxicity part I: Plants with carcinogenic, teratogenic and endocrine-disrupting effects. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 92, p. 150-164, 2016.
- KUMAR, K. S.; RAVINDRA, N.; PARVATI, B. Evaluation of antimicrobial activity of selected indigenous medicinal plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 2292-2295, 2020.
- LAGNIKA, L. *et al.* Antimicrobial, antioxidant, toxicity and phytochemical assessment of extracts from *Acmella uliginosa*, a leafy-vegetable consumed in Bénin, West Africa. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 1-11, 2016.
- LALTHANPUII, P. B.; LALAWMPUII, R.; LALCHHANDAMA, K. Phytochemical analyses, antioxidant and antibacterial activities of *Acmella oleracea*, a variety grown in Mizoram. **International Journal of Pharmacognosy**, [s. l.], v. 4, p. 100-104, 2017.
- LAMARÃO, R. C.; NAVARRO, F. Aspectos nutricionais promotores e protetores das doenças cardiovasculares. **RBONE-Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo, v. 1, n. 4, p. 57-70, 2007.
- LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 45, p. 1390-1393, 1997.
- LENG, T. C. *et al.* Detection of bioactive compounds from *Spilanthes acmella* (L.) plants and its various in vitro culture products. **Journal of Medicinal Plants Research**, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 371-378, 2011.
- LENG, T. C.; HAW, A. B.; LAI-KENG, C. Effect of reduced N 6-Benzyladenine, explant type, explant orientation, culture temperature and culture vessel type on regeneration of

adventitious shoot and in vitro plantlets of *Spilanthes acmella*. **Journal of Plant Biology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 15-20, 2004.

LHOSTE, E. F. *et al.* The activities of several detoxication enzymes are differentially induced by juices of garden cress, water cress and mustard in human HepG2 cells. **Chemico-biological Interactions**, [s. l.], v. 150, n. 3, p. 211-219, 2004.

LIMA, J. R. *et al.* Avaliação da segurança não clínica da chalcona (E)-1-(2-hidroxi-3, 4, 6-trimetoxifenil)-3-(4-nitrofenil) prop-2-en-1-ona frente a zebrafish (*Danio rerio*) adulto. **Brazilian Journal of Development**, Paraná, v. 6, n. 8, p. 55894-55901, 2020.

LITTLE, E. E.; FAIRCHILD, J. F.; DELONAY, A. J. **Behavioral methods for assessing impacts of contaminants on early life stage fishes**. [S. l.]: American Fisheries Society, 1993.

LOBO, V. *et al.* Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy reviews**, [s. l.], v. 4, n. 8, p. 118-126, 2010.

LOIOLA, M. I. B. **EAC - Herbário Prisco Bezerra**. Versão 1.67. [Fortaleza: UFC, 2020]. Disponível em: <https://doi.org/10.15468/mgeah1>. Acesso em 16 jul. 2020.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química nova**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 670-673, 2004.

LOPES NETO, J. J. *et al.* Impact of bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in biological systems upon the antioxidant activity of the ethanolic extract of *Triplaris gardneriana* seeds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 88, p. 999-1007, 2017.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002.

LOUREIRO, R. J. *et al.* Use of antibiotics and bacterial resistances: brief notes on its evolution. **Revista portuguesa de saúde pública**, [s. l.], v. 34, n. 1, p. 77-84, 2016.

LOUZADA, M. L. C. *et al.* Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 49, n. 38, p. 1-9, 2015.

MACIEL, M. A. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAGALHÃES, F. E. A. *et al.* Adult zebrafish (*Danio rerio*): an alternative behavioral model of formalin-induced nociception. **Zebrafish**, [s. l.], v. 14, n. 5, p. 422-429, 2017.

MAIMULYANTI, A.; PRIHADI, A. R. Chemical composition of essential oil and hexane extract and antioxidant activity of various extracts of *Acemella uliginosa* (Sw.) Cass flowers from Indonesia. **Agriculture and Natural Resources**, [s. l.], v. 50, n. 4, p. 264-269, 2016.

MANACH, C. *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American journal of clinical nutrition**, [s. l.], v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

- MANZOOR, M. *et al.* Functional *Pediococcus acidilactici* BC1 for the revitalization of ethnic black carrot kanji of indian subcontinent. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [s. l.], v. 31, p. 101921, 2021.
- MARCHESINI, P. *et al.* Acaricidal activity of *Acmella oleracea* (Asteraceae) extract against *Rhipicephalus microplus*: what is the influence of spilanthol?. **Veterinary Parasitology**, [s. l.], v. 283, p. 109170, 2020.
- MARIA-FERREIRA, Daniele *et al.* Rhamnogalacturonan from *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen: gastroprotective and ulcer healing properties in rats. **Plos one**, v. 9, n. 1, p. e84762, 2014.
- MAROYI, A. Traditional use of medicinal plants in south-central Zimbabwe: review and perspectives. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, [s. l.], v. 9, n. 31, p. 1-18, 2013.
- MEJÍA, C.; CASTAÑO, J.; VÁZQUEZ, E. Actividad Biologica de los Aceites Esenciales de *Acmella ciliata* (Kunth) Cass. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 160–171, 2012.
- MENDES, V. A. *et al.* Avaliação do uso de produtos naturais na prática do profissional de saúde. **Saúde (Santa Maria)**, Santa Maria, v. 44, n. 1, p. 1-8, 2018.
- MOLINA-TORRES, J. *et al.* Fungistatic and Bacteriostatic Activities of Alkamides from *Heliopsis longipes* Roots: Affinin and Reduced Amides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l.], v. 52, n. 15, p. 4700-4704, 2004.
- MOREDA-PINHEIRO, J. *et al.* In-vivo and in-vitro testing to assess the bioaccessibility and the bioavailability of arsenic, selenium and mercury species in food samples. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 30, n. 2, p. 324-345, 2011.
- MOREIRA, P. C. *et al.* Pectina: um carboidrato complexo e suas aplicações. **Revista EVS: Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, Goiânia, v. 35, n. 3, p. 343-355, 2008.
- MOURÃO, D. M. *et al.* Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, SP, v. 18, n. 4, p. 529-539, 2005.
- MU, X. *et al.* Occurrence and origin of sensitivity toward difenoconazole in zebrafish (*Danio reio*) during different life stages. **Aquatic Toxicology**, [s. l.], v. 160, p. 57-68, 2015.
- NAKAMURA, H. *et al.* Biofilm formation and resistance to benzalkonium chloride in *Listeria monocytogenes* isolated from a fish processing plant. **Journal of Food Protection**, [s. l.], v. 76, n. 7, p. 1179-1186, 2013.
- NAKATANI, N.; NAGASHIMA, M. Pungent alkamides from *Spilanthes acmella* L. var. *oleracea* Clarke. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, [s. l.], v. 56, n. 5, p. 759-762, 1992.

- NASCIMENTO, L. E. S. *et al.* Phytochemical profile of different anatomical parts of jambu (*Acmella oleracea* (L.) RK Jansen): a comparison between hydroponic and conventional cultivation using PCA and cluster analysis. **Food Chemistry**, v. 332, [s. l.], p. 1-12, 2020.
- NOMURA, E. C. O. *et al.* Antinociceptive effects of ethanolic extract from the flowers of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 150, n. 2, p. 583-589, 2013.
- NOVADZKI, I. M.; ROSÁRIO FILHO, N. A. Reações adversas à gelatina em imunobiológicos. **Revista brasileira de alergia e imunopatologia**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 1-7, 2006.
- OECD. **OECD Guidelines for testing of chemicals: fish, aquatic toxicity test**. S. l.: OECD, 1992.
- PALAZZO, A. B.; BOLINI, H. M. A. Multiple time-intensity analysis and acceptance of raspberry-flavored gelatin. **Journal of Sensory Studies**, [s. l.], v. 24, n. 5, p. 648-663, 2009.
- PALERMO, J. R. **Análise sensorial: fundamentos e métodos**. São Paulo: Atheneu, 2015.
- PALMEIRA, J. D. *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos hidroalcoólico de angico sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, [s. l.], v. 42, n. 1, p. 33-37, 2010.
- PANDEY, V. *et al.* Strong larvicidal activity of three species of *Spilanthes* (Akarkara) against malaria (*Anopheles stephensi* Liston, *Anopheles culicifacies*, species C) and filaria vector (*Culex quinquefasciatus* Say). Springer Nature. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 102, p. 171-174, 2007.
- PEREIRA, A. A. P. **Picolé à base de flores de *Acmella Oleracea*: elaboração e análise sensorial**. 2019. Trabalho Final (Mestrado Profissional) - Universidade do Vale do Sapucaí, Pouso Alegre, MG. Disponível em: <http://www.univas.edu.br/mpcas/docs/dissertacoes/100.pdf>. Acesso em: 19 nov. 2020.
- PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 624-632. 2007.
- PEREIRA, C. C. *et al.* Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 68, p. 73-78, 2018.
- PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 227-229, 2002.
- PIRES, I. V.; SILVA, A. E. Caracterização e capacidade antioxidante do jambu (*Spilanthes oleracea* L.) in natura procedente do cultivo convencional e de hidroponia. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 10, p. 74624-74636, 2020.

PONPORNISIT, Aranya et al. Toxicity Test of Kameng (*Eclipta prostrate* Linn.) and Kradhuawean (*Spilanthes acmella* (Linn.) Murr.) to Early Life Stage of Zebrafish (*Danio rerio*). **The Thai Journal of Veterinary Medicine**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 523, 2011.

PORFÍRIO, Z. *et al.* Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de *Lafoensia pacari* A. St.-Hil., Lythraceae, frente a bactérias multirresistentes de origem hospitalar. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 19, n. 3, p. 785-789, 2009.

PRACHAYASITTIKUL, V. *et al.* High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review. **EXCLI journal**, [s. l.], v. 12, p. 291-312, 2013.

RAMSEWAK, R. S., ERICKSON, A. J., NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 51, p. 729-732, 1999.

RANI, S.; MURTY, S. Antifungal potential of flower head extract of *Spilanthes acmella* Linn. **African Journal of Biomedical Research**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1-3, 2006.

RAO, T. M.; RAO, B. G.; RAO, Y. V. Antioxidant activity of *Spilanthes acmella* extracts. **International Journal of Phytopharmacology**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 216-220, 2012.

RESENDE, R. R.; SOCCOL, C. R. **Biotecnologia aplicada à saúde: fundamentos e aplicações**. São Paulo: Blucher, 2015. v. 1, p. 22.

RINCÓN MEJÍA, C. A.; CASTAÑO OSORIO, J. C.; VÁZQUEZ, E. R. Biological activity of essential oils from *Acmella ciliata* (Kunth) Cass. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 160-171, 2012.

RINCÓN MEJÍA, C. A. *et al.* Actividad antimicrobiana y análisis de la composición química de una fracción de las flores de *Acmella ciliata* (Kunth) Cass. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 409-418, 2015.

RIOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B.; DEL CARMEN GUTIÉRREZ, M. Analgesic activity of affinin, an alkalamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 110, n. 2, p. 364-367, 2007.

ROBERFROID, M. B. Defining functional foods. **Functional foods**, [s. l.], v. 9, p. 9-27, 2000.

ROCHA, A. L. F. Toxicidade e atividade antimicrobiana de jambu (*Acmella oleracea* L.). **Igapó: anais de iniciação científica**, Manaus, v. 8, n. 1, p. 79, 2019. Anais de Iniciação Científica, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas. Disponível em: <http://igapo.ifam.edu.br/ojs/index.php/ANIC/article/view/666>. Acesso em: 20 nov. 2020

RODRIGUES, R. A. F. *et al.* Otimização do processo de extração e isolamento do antimalárico artemisinina a partir de *Artemisia annua* L. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 368-372, 2006.

RODRIGUES, C. R. F. *et al.* Genotoxic and antigenotoxic properties of *Baccharis trimera* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 125, n. 1, p. 97-101, 2009.

RODRIGUES, T. A. *et al.* A valorização das plantas medicinais como alternativa à saúde: Um estudo etnobotânico. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, Aracaju, p. 411-428, v. 11, n. 1, 2020.

RODRIGUES, T. S. *et al.* Métodos de secagem e rendimento dos extratos de folhas de *Plectranthus barbatus* (boldo-da-terra) e *P. ornatus* (boldo-miúdo). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. SPE, p. 587-590, 2011.

RONDANELLI, M. *et al.* *Acmella oleracea* para controle da dor. **Fitoterapia**, [s. l.], v. 140, p. 104419, 2020.

RUFINO, M. S. M. *et al.* Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS*+- Metodologia Científica. **Comunicado Técnico [da] EMBRAPA**, Fortaleza, n. 128, p. 1-4, 2007.

RUFUNO, M. S. M. *et al.* Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, [s. l.], v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.

SALGADO, Joicelem. **Alimentos funcionais**. São Paulo: Oficina de Textos, 2017.

SAMPAIO, B. L. *et al.* Influence of environmental factors on the concentration of phenolic compounds in leaves of *Lafoensia pacari*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 21, n. 6, p. 1127-1137, 2011.

SAMPAIO, I. M. G. *et al.* Pode o uso de mudas agrupadas e a maior densidade de plantio aumentar a produtividade de jambu?. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, [s. l.], v. 61, p. 1-8, 2018.

SANA, H.; RANI A. S.; SULAKSHANA G. Determination of the antioxidant potential in *Spilanthes acmella* using the DPPH assay. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [s. l.], v. 3, n. 7, p. 219-223, 2014.

SANDOLO, C. *et al.* Characterization of polysaccharide hydrogels for modified drug delivery. **European Biophysics Journal**, [s. l.], v. 36, n. 7, p. 693-700, 2007.

SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY. **Spilanthol A mixture of (2E, 6Z, 8E) >80%; (2E, 6E, 8E); and (2E, 6Z, 8Z) (CAS 25394-57-4)**. [Cotação do Espilantol]. [S. l.: s. n., 2020]. Disponível em: <https://www.scbt.com/pt/p/spilanthol-a-mixture-of-2e-6z-8e-2e-6e-8e-2e-6z-8z-25394-57-4>. Acesso em: 04 dez. 2020.

SANTOS S.; C. H.; PICCOLI, R. H.; TEBALDI, V. M. R. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais e compostos isolados frente aos agentes patogênicos de origem clínica e alimentar. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 76, p. 1-8, 2017.

SANTOS, I. V. F. *et al.* Use of zebrafish (*Danio rerio*) in experimental models for biological assay with natural products. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s. l.], v. 10, n. 42, p. 883-891, 2016.

SANTOS, V. O.; DIAS, R. I. O.; SANTOS, J. M. Conduta nutricional para prevenção e tratamento da aterosclerose. **Revista Científica do UBM**, Barra Mansa, v. 23, n. 45, p. 98-110, 2021.

SARTO, M. P. M.; ZANASSO JUNIOR, G. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais. **Revista Uningá Review**, Maringa, v. 20, n. 1, p. 98-102, 2018.

SATHYAPRASAD, S. *et al.* Antimicrobial and antifungal efficacy of *Spilanthes acmella* as an intracanal medicament in comparison to calcium hydroxide: an in vitro study. **Indian Journal of dental research**, [s. l.], v. 26, n. 5, p. 528-532, 2015.

SCALDAFERRI, L. G. *et al.* Formas de resistência microbiana e estratégias para minimizar sua ocorrência na terapia antimicrobiana: revisão. **PUBVET**, v. 14, n. 8, p. 1-10, 2020.

SEKO, G. H. *et al.* Efeitos de polissacarídeos do jambo no modelo tumoral sólido de Ehrlich em camundongos. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, Brasília, DF, v. 32, n. 1, p. 86-100, 2020.

SEN, S. *et al.* Free radicals, antioxidants, diseases and phytochemicals: current status and future prospect. **International journal of pharmaceutical sciences review and research**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 91-100, 2010.

SEN, S.; CHAKRABORTY, R. The role of antioxidants in human health. *In*: ANDREESCU, M. H.; HEPEL, M. (ed.). **Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy**. Washington, DC: American Chemical Society, 2011.

SHARMA, H. P.; KUMAR, R. A. Health security in ethnic communities through nutraceutical leafy vegetables. **Journal of Environmental Research and Development**, [s. l.], v. 7, p. 1423-1429, 2013.

SHARMA, V. *et al.* *Spilanthes acmella* ethanolic flower extract: LC-MS alkylamide profiling and its effects on sexual behavior in male rats. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 18, n. 13, p. 1161-1169, 2011.

SHIMADA, T.; GOMI, T. *Spilanthol*-rich essential oils for manufacturing toothpastes or other oral compositions. **JP Patent 07090294**. Sep. 20, 1995.

SHIRWAIKAR, A. *et al.* In vitro Free Radical Scavenging Potential of Defatted Ethanolic Extract of the Seeds of *Lepidium sativum* Linn. **Chinese Journal of Natural Medicines**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 435-440, 2011.

SILVA, A. F.; MINIM, V. P. R.; RIBEIRO, M. M. Análise sensorial de diferentes marcas comerciais de café (*Coffea arabica* L.) orgânico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1224-1230, 2005.

SILVA, N. *et al.*, **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010.

SILVA, A. P. S. *et al.* Influência da sazonalidade nos teores de compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de flores de duas cultivares de jambu (*Acmella oleracea* (L.) R. K.

Jansen). In: VERRUCK, S. (org.). **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos: Volume 2**. Guarujá: Científica Digital, 2021. p. 274-282.

SILVEIRA, N. *et al.* A new alkamide with an endoperoxide structure from *Acmella ciliata* (Asteraceae) and its In vitro antiplasmodial activity. **Molecules**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 765, 2016.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC method development**. New York: John Wiley & Sons, 2012.

SOARES, D. G.; ANDREAZZA, A. C.; SALVADOR, M. Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propylgallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH, and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, [s. l.], v. 51, n. 4, p. 1077-1080, 2003.

SOUZA, G. C. *et al.* Acute Toxicity of the Hydroethanolic Extract of the Flowers of *Acmella oleracea* L. in Zebrafish (*Danio rerio*): Behavioral and Histopathological Studies. **Pharmaceuticals**, [s. l.], v. 12, n. 4, p. 1-17, 2019.

SOUZA, M. M. *et al.* Métodos de avaliação de atividade biológica de produtos naturais e sintéticos. In: BRESOLIN, T. M. B.; CECHINEL FILHO, V. **Ciências Farmacêuticas: contribuição ao desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos**. Itajaí: Ed. Univali, 2003. p. 108-166.

SPARKMAN, O. D. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy Robert P. Adams. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, [s. l.], v. 16, n. 11, p. 1902, 2005.

SPELMAN, K. *et al.* The Traditional Medicine *Spilanthes acmella*, and the Alkylamides Spilanthol and Undeca-2E-ene-8,10-diynoic Acid Isobutylamide, Demonstrate In Vitro and In Vivo Antimalarial Activity. **Phytotherapy Research**, [s. l.], v. 25, p. 1098–1101, 2011.

SWARGIARY, A. *et al.* Evaluation of phytochemical properties and larvicidal activities of *Cynodon dactylon*, *Clerodendrum viscosum*, *Spilanthes acmella* and *Terminalia chebula* against *Aedes aegypti*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 224, 2019.

TANIA, M. P. *et al.* Antioxidant and cytotoxic potential of aqueous crude extract of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 7, n. 12, p. 562-569, 2015.

TANWER, B. S.; CHOUDHARY, R.; VIJAYVERGIA, R. In vitro and in vivo comparative study of primary metabolites and antioxidant activity in *Spilanthes acmella* Murr. **International Journal of Biotechnology & Biochemistry**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. 819-825, 2010.

TAVARES, W. Problem gram-positive bacteria: resistance in staphylococci, enterococci, and pneumococci to antimicrobial drugs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 3, p. 281-301, 2000.

TAYLOR, J. C. *et al.* A novel zebrafish-based model of nociception. **Physiology & Behavior**, [s. l.], v. 174, p. 83-88, 2017.

TIVERON, A. P. *et al.* Antioxidant activity of Brazilian vegetables and its relation with phenolic composition. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 8943-8957, 2012.

TOKALIOĞLU, Ş. *et al.* Bioaccessibility of Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Se and Zn from nutritional supplements by the unified BARGE method. **Food chemistry**, [s. l.], v. 150, p. 321-327, 2014.

VAN WYK, B. *et al.* **Medicinal Plants of South Africa**. Pretoria: Briza, 1997.

VELOZO, L. S. M. *et al.* Análise do óleo essencial dos diferentes órgãos de *Acmella ciliata* Kunth (Asteraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, n. S2, p. 1128-1130, 2007.

VENSKUTONIS, Petras Rimantas *et al.* Variations in antioxidant capacity and phenolics in leaf extracts isolated by different polarity solvents from seven blueberry (*Vaccinium L.*) genotypes at three phenological stages. **Acta physiologiae plantarum**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 33, 2016.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Dordrecht: Springer, 2007.

VERRUCK, S. *et al.* The buffalo Minas Frescal cheese as a protective matrix of *Bifidobacterium BB-12* under in vitro simulated gastrointestinal conditions. **LWT-Food Science and Technology**, [s. l.], v. 63, n. 2, p. 1179-1183, 2015.

VLAISAVLJEVIĆ, S. *et al.* Profile of phenolic compounds in *Trifolium pratense L.* extracts at different growth stages and their biological activities. **International journal of food properties**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 3090-3101, 2017.

WAITZBERG, D. L. Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica. *In*: WAITZBERG, D. L. **Nutrição oral, enteral e parenteral na prática clínica**. São Paulo: Atheneu, 2004. p. 1858-1858.

WALZEM, R. L. Functional foods and health strategies. **Trends in food science & technology (Regular ed.)**, [s. l.], v. 15, n. 11, 2004.

WANG, S. *et al.* Effects of in vitro digestion and storage on the phenolic content and antioxidant capacity of a red grape pomace. **International journal of food sciences and nutrition**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 188-200, 2017.

WEINTRAUB, L. *et al.* Antioxidant Activity and Antiproliferative Effects of *Acmella alba*, *Acmella oleracea*, and *Acmella calirrhiza*. **The FASEB Journal**, [s. l.], v. 34, n. S1, p. 1-1, 2020.

WIDYOWATI, R. *et al.* New Methyl Threonolactones and Pyroglutamates of *Spilanthes acmella* (L.) L. and Their Bone Formation Activities. **Molecules**, [s. l.], v. 25, n. 11, p. 2500, 2020.

WONGSAWATKUL, O. *et al.* Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes acmella* Murr. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 9, n. 12, p. 2724-2744, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Geneva: WHO, 2003. (WHO Technical Report Series, 916).

WU, L. *et al.* Anti-inflammatory effect of spilanthol from *Spilanthes acmella* on murine macrophage by down-regulating LPS-induced inflammatory mediators. **Journal of agricultural and food chemistry**, [s. l.], v. 56, n. 7, p. 2341-2349, 2008.

YADAV, R. *et al.* Preliminary studies on diuretic effect of *Spilanthes acmella* leaves extracts in rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 3, n. 3, p. 245-7, 2011.

YAMANE, L. T. *et al.* *Acmella oleracea* and *Achyrocline satureioides* as sources of natural products in topical wound care. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 2016, p. 1-9, 2016.

YAROM, N. *et al.* Revisão sistemática de agentes naturais para o manejo da mucosite oral em pacientes com câncer. **Cuidados de Suporte no Câncer**, [s. l.], v. 21, n. 11, p. 3209-3221, 2013.