

# OTIMIZAÇÃO PARA OBTER UM EXTRATO RICO EM POLIFENÓIS DE FOLHAS DE MORINGA UTILIZANDO SONDA ULTRASSÔNICA

*Data de submissão: 08/05/2024*

*Data de aceite: 03/06/2024*

### **Déborah Cristina Barcelos Flores**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/5440140997576535>

### **Flávia Michelon Dalla Nora**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/6723928177820848>

### **Caroline Pagnossim Boeira**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/4266239121914107>

### **Naila Peil Marcuzzo**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/2109617144840580>

### **Andressa Inês Schú**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/1021570785549310>

### **Vanessa Ramos do Nascimento**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/0354406076448841>

### **Cezar Augusto Bizzi**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/2975070149037006>

### **Bruna Nichelle Lucas**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/8541804958485937>

### **Anelise Pigatto Bissacotti**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/4117026129000414>

### **Grazielle Castagna Cezimbra Weis**

Universidade Federal de Santa Maria  
Santa Maria – RS  
<http://lattes.cnpq.br/5338580749498016>

**RESUMO:** A Moringa tem chamado a atenção de pesquisadores, sendo estudada como uma planta medicinal, abundante em nutrientes vitais, como minerais, vitaminas e proteínas. É rica em compostos polifenólicos, com atividade anti-inflamatórios, antibacterianos e antioxidantes. Este estudo teve como objetivo otimizar os métodos de extração convencional e ultrassom, e avaliar as condições de cada método de extração, para uma melhor obtenção dos compostos polifenólicos, e capacidade antioxidante das folhas de Moringa. Foi realizado um delineamento experimental 2<sup>3</sup>, avaliando as

variáveis independentes dos métodos de extração (convencional e ultrassom) sob as variáveis dependentes (fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante). Em relação a obtenção dos compostos fenólicos totais, flavonoides e capacidade antioxidante, o método que obteve a melhor resposta de otimização foi a sonda ultrassônica de 130W, quando comparada com a extração convencional, por maceração. Foram encontrados para os compostos fenólicos totais  $670,86 \pm 1,10$  mg EAG g<sup>-1</sup>, para os flavonoides totais foi  $420,56 \pm 1,30$  mg EQ g<sup>-1</sup>, e para a capacidade antioxidante o resultado obtido foi  $510,84 \pm 1,40$  μmol TEAC g<sup>-1</sup> para o método DPPH, e para o ORAC foi de  $510,69 \pm 2,35$  μmol Trolox g<sup>-1</sup>, através da sonda ultrassônica, em apenas 10 min, 0,63 g de amostra, a 50% de amplitude. Para a extração por maceração, os compostos fenólicos totais foi de  $324,55 \pm 2,12$  mg EAG g<sup>-1</sup>, para os flavonoides totais foi  $188,12 \pm 1,50$  mg EQ g<sup>-1</sup>, e para a capacidade antioxidante o resultado obtido foi  $257,22 \pm 1,45$  μmol TEAC g<sup>-1</sup> para o método DPPH, e para o ORAC foi de  $288,20 \pm 2,61$  μmol Trolox g<sup>-1</sup>, em 15 min, 2g de amostra a 70 °C. Foi comprovado que a sonda de 130 W conseguiu obter grandes concentrações de compostos polifenólicos das folhas de moringa, as quais são importantes para a saúde humana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alimentos saudáveis; *Moringa oleifera*; compostos antioxidantes; método de extração sustentável e emergente; compostos bioativos.

## OPTIMIZATION TO OBTAIN AN EXTRACT RICH IN POLYPHENOLS FROM MORINGA LEAVES USING ULTRASONIC PROBE

**ABSTRACT:** Moringa has attracted the attention of researchers, being studied as a medicinal plant, abundant in vital nutrients, such as minerals, vitamins and proteins. It is rich in polyphenolic compounds, with anti-inflammatory, antibacterial and antioxidant activities. This study aimed to optimize conventional and ultrasound extraction methods, and evaluate the conditions of each extraction method, to better obtain polyphenolic compounds and antioxidant capacity of Moringa leaves. An experimental design 23 was carried out, evaluating the independent variables of the extraction methods (conventional and ultrasound) under the dependent variables (total phenolics, total flavonoids and antioxidant capacity). In relation to obtaining total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant capacity, the method that obtained the best optimization response was the 130W ultrasonic probe, when compared to conventional extraction, by maceration. For total phenolic compounds,  $670.86 \pm 1.10$  mg EAG g<sup>-1</sup> were found, for total flavonoids it was  $420.56 \pm 1.30$  mg EQ g<sup>-1</sup>, and for antioxidant capacity the result obtained was  $510.84 \pm 1.40$  μmol TEAC g<sup>-1</sup> for the DPPH method, and for ORAC it was  $510.69 \pm 2.35$  μmol Trolox g<sup>-1</sup>, through the ultrasonic probe, in just 10 min, 0.63 g of sample, at 50% amplitude. For extraction by maceration, total phenolic compounds were  $324.55 \pm 2.12$  mg EAG g<sup>-1</sup>, for total flavonoids it was  $188.12 \pm 1.50$  mg EQ g<sup>-1</sup>, and for antioxidant capacity the result obtained was  $257.22 \pm 1.45$  μmol TEAC g<sup>-1</sup> for the DPPH method, and for ORAC it was  $288.20 \pm 2.61$  μmol Trolox g<sup>-1</sup>, in 15 min, 2g of sample at 70 °C. It was proven that the 130 W probe was able to obtain high concentrations of polyphenolic compounds from moringa leaves, which are important for human health.

**KEYWORDS:** Healthy foods; *Moringa oleifera*; antioxidant compounds; sustainable and emerging extraction method; bioactive compounds.

## INTRODUÇÃO

A moringa (*Moringa oleifera* Lam), é uma planta medicinal e comestível nativa da Índia, difundida em diversas regiões tropicais e subtropicais (KUMAR *et al.*, 2022; WATERMAN *et al.*, 2014). É uma árvore de médio porte, cultivada comercialmente principalmente por seus múltiplos usos, é considerada uma árvore milagrosa e/ou também a chamam de “Árvore da Vida”, devido aos seus vários benefícios nutricionais e fitoquímicos. O alimento tradicional para consumo humano é obtido da *Moringa oleifera* como um todo, incluindo folhas, frutos, vagens imaturas e flores. Essas partes da árvore de Moringa são consumidos como vegetais altamente nutritivos em muitos países, especialmente na Índia, no Havaí, nas Filipinas e em muitas partes da África. São reconhecidas também por apresentarem uma infinidade de nutrientes e princípios ativos (YANG *et al.*, 2022). A Moringa é considerada um recurso alimentar e avaliada como medicamento para muitas doenças crônicas, como inflamação sistêmica, diabetes, hipercolesterolêmica, câncer, artrite reumatoide, doença hepática não alcoólica, depressão e diversas outras doenças (KIM; JAJA- CHIMEDZA; MERRILL; MENDES; RASKIN, 2018). Em relação as folhas da árvore da Moringa, são consideradas uma fonte rica de vitaminas, minerais e fitoquímicos essenciais como, o betacaroteno, vitaminas (A, C e E), proteínas, ácidos graxos e minerais como ferro, potássio, cálcio e fósforo (ZAKU; EMMANUEL; TUKUR; KABIR, 2015). Também inclui ácido gálico; elágico; ferúlico; e ácidos clorogênicos ; campferol ; quercetina ; vanilina ; flavonóides ; sitosterol ; zeatina ; ácido cafeoilquínico; taninos ; antraquinonas antocianinas ; proantocianidinas ; catecol, taninos; ácido gálico ; carotenóides ; alcalóides; triterpenóides; e açúcares redutores (ANWAR; LATIF; ASHRAF; GILANI, 2007; SHANMUGAVEL; PRABAKARAN; BINU GEORGE, 2018). Esses fitoquímicos contribuem para as propriedades nutricionais e medicinais da Moringa. Estudos epidemiológicos indicam que as folhas apresentam propriedades antioxidantes, antitumorais, anti-inflamatórias, antidiabéticas, antiúlceras, antiateroscleróticas, diuréticas, anti-hipertensivas, redutoras de colesterol, antiasmáticas, anti-hipertensivas, antibióticas, hepatoprotetoras, antibacterianas, antifúngicas, anti-helmínticas, imunológicas, atividades estimulantes, estimulantes de esperma, comportamentais, anticonvulsivantes e imunomoduladoras (ANWAR; LATIF; ASHRAF; GILANI, 2007 ; OYEYINKA; OYEYINKA, 2018). As folhas frescas de moringa também são usadas para tratar anemia e aumentar a produção de leite em mulheres grávidas e lactantes (ABEDINIA *et al.*, 2021). Dentre os compostos antioxidantes presentes os mais encontrados estão os compostos polifenólicos, estes vêm sendo amplamente estudados devido às propriedades medicinais com diversos efeitos biológicos, como atividades antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana e antiviral (TANASE *et al.*, 2019). Os antioxidantes naturais, têm despertado interesse mundial, devido ao seu potencial de eficácia terapêutica e segurança, protegendo o corpo humano contra o estresse oxidativo, auxiliando na prevenção de doenças crônicas não transmissíveis (AUNE *et al.*, 2017).

Diante disso, é importante conseguir obter de forma eficiente e rápida os compostos bioativos presentes em fontes naturais, assim como da Moringa. As técnicas convencionais de extração geralmente utilizam um grande volume de solventes (os solventes orgânicos usados são frequentemente perigosos), longos períodos de extração, baixa seletividade e baixos rendimentos de obtenção de compostos bioativos (PAGANO; CAMPONE; CELANO; PICCINELLI; RASTRELLI, 2021). Devido a isso, as tecnologias emergentes e sustentáveis estão sendo usadas nos dias de hoje nas indústrias farmacêutica, alimentícia e médica. Visto que, exigem menor quantidade de solventes, menos tempo de extração e têm maior eficiência de extração do que as tecnologias convencionais (BELWAL; CHEMAT; VENSKUTONIS; CRAVOTTO; JAISWAL; BHATT; DEVKOTA; LUO, 2020). Dentre as diversas técnicas de extração verde e emergentes estão a extração assistida por ultrassom. A extração assistida por ultrassom, é uma técnica de extração verde simples; permite a extração rápida de componentes termolábeis em temperatura baixa, é considerada uma extração limpa, ecológica, com maior penetração de solvente no material celular, maior rendimento e reprodutibilidade, baixo consumo de solvente, alta capacidade de processamento (PAGANO; CAMPONE; CELANO; PICCINELLI; RASTRELLI, 2021). Os sistemas baseados em sondas têm maior intensidade ultrassônica (ponta da sonda) e usados como uma ferramenta poderosa para a extração de compostos bioativos (KUMAR, SRIVASTAV, SHARANAGAT, 2021). Esse tipo de equipamento é chamado de ultrassom de alta potência ou disruptor de célula (>100 W/L). O ultrassom de alta potência também pode causar a redução do tamanho de uma matriz sólida, contribuindo para o aumento da superfície de contato entre o sólido e o solvente. As ondas ultrassônicas causam uma série rápida de compressões e expansões alternadas perto da superfície da matriz sólida, permitindo um rompimento da parede celular e uma maior penetração do solvente em grandes velocidades, aumentando o rendimento de compostos extraíveis, em poucos minutos (AL-DHABI; PONMURUGAN; MARAN JEGANATHAN, 2017).

Este estudo tem como objetivo otimizar os métodos de extração convencional e ultrassom, e avaliar qual melhor condição da extração de cada método, para um melhor rendimento de obtenção dos compostos polifenólicos e capacidade antioxidante das folhas de Moringa.

## PROPRIEDADES FITOQUÍMICOS DA MORINGA

A *Moringa oleifera* Lam, é uma importante espécie de árvore medicinal da família *Moringaceae* e nativa da Índia. Tem sido cultivada em regiões subtropicais e tropicais em muitos países do mundo por seus diversos usos como importante erva nutracêutico e medicinal. Contém grande quantidade de compostos fenólicos, principalmente flavonoides, ácidos fenólicos e seus glicosídeos. Alcaloides, taninos, saponinas, isotiocianato e glucosinolato também foram encontrados na folha. Os principais compostos fenólicos

descobertos nas folhas de Moringa são, kaempferol, mircetina, quercetina, ácido clorogênico, ácido gálico, luteolina, vanilina e rutina (ROCCHETTI *et al.*, 2020). Os estudos *in vitro* e *in vivo* em folhas de Moringa confirmaram suas diversas atividades biológicas, como atividades antioxidante, anti-inflamatória, antidiabética, anticancerígena, cardioprotetora, hipocolesterolêmica, hepatoprotetoras e antiasmática. Além disso, as folhas foram úteis no tratamento de doenças neurodisfuncionais, como doença de Alzheimer, epilepsia e acidente vascular cerebral isquêmico (HASSAN; XU; TIAN, ZHONG; ALI; YANG; LU, 2021). Os compostos fenólicos são uma classe de compostos orgânicos de ocorrência natural distribuídos amplamente no reino vegetal como metabólitos secundários em quantidades variáveis. Esses compostos são caracterizados pela presença de pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos substituintes hidroxila, denominados grupos fenóis, e podem ser encontrados livres ou associados a carboidratos, componentes da parede celular, lipídios, aminas e ácidos orgânicos (ARRUDA; NERI-NUMA; KIDO; JÚNIOR, PASTORE, 2019). Os Polifenóis incluem, entre outros, fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides (flavanonas, flavonas e flavonóis), bem como oligômeros e polímeros, como taninos e lignina. Os compostos fenólicos são principalmente metabólitos secundários, variáveis dentro de grupos botânicos, espécies ou mesmo variedades de plantas, e são responsáveis por características como aroma, cor e propriedades antioxidantes de alimentos vegetais. Os polifenóis apresentam estruturas altamente diversas e mais de 500 polifenóis diferentes foram identificados em alimentos (MANGANARIS; GOULAS; VICENTE; TERRY, 2014). De todos os mecanismos, a atividade antioxidante é a ação mais frequentemente relatada para a maioria dos compostos bioativos, principalmente para os compostos fenólicos. Quando ocorre a geração de espécies reativas de oxigênio e outros radicais livres, resulta em um estresse oxidativo, que está relacionada ao aparecimento de doenças crônicas, como câncer, doenças cardiovasculares e diabetes mellitus tipo 2 no organismo humano. A capacidade antioxidante dos fitoquímicos pode ser um mecanismo muito importante na prevenção de doenças (WILLCOX; ASH; CATIGNANI, 2004). O sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir e/ou reduzir os danos causados pela ação deletéria dos radicais livres ou das espécies reativas não-radicaais. Tais ações podem ser alcançadas por meio de diferentes mecanismos de ação: impedindo a formação dos radicais livres ou espécies não-radicaais (sistemas de prevenção), impedindo a ação desses (sistemas varredores) ou, ainda, favorecendo o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas (sistemas de reparo). Diante disso, os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, presente em menores concentrações que as do substrato oxidável, seja capaz de atrasar ou inibir a oxidação deste de maneira eficaz. Tais substâncias podem agir diretamente, neutralizando a ação dos radicais livres e espécies não-radicaais, ou indiretamente, participando dos sistemas enzimáticos com tal capacidade (BARBOSA *et al.*, 2010).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção da matéria-prima

As folhas de Moringa (figura 1), foram obtidas de comércio local da cidade de Santa Maria, RS, Brasil. A amostra foi triturada em moinho de facas (marca Willy, modelo SL-31), passada em peneira de 20 *mesh*. As amostras foram depositadas em potes com vedação e protegido da luz, e armazenadas em freezer a temperatura de -18°C, até o momento das análises.



Figura 1- Amostra de folhas de Moringa. Acervo autor.

### Extração convencional

Para a extração por maceração (método convencional, figura 2) foi de acordo com VICTÓRIO; LAGE; KUSTER, (2010) com modificações. A mistura (foi levada ao agitador magnético com aquecimento (WEALAB WEA - AA1030B), seguindo o planejamento experimental 2<sup>3</sup>, conforme a tabela 1.

Variáveis	Símbolos	Codificações				
		-1,68	-1	0	1	1,68
Tempo (min)	X1	1,6	5	10	15	18
Peso (g)	X2	0,63	2	4	6	7,36
Temperatura (°C)	X3	16	30	50	70	84

Tabela 1 – Desenho experimental, 2<sup>3</sup> para a extração convencional (maceração)

A extração foi realizada variando tempo (X1), peso da amostra (X2), e diferentes temperaturas (X3), conforme Tabela 1. Em um béquer foi adicionada 40 mL de etanol a 70%, razão 1:10 (p / v). Após o processo de extração por maceração (método convencional), cada extrato contendo a mistura de solvente e material moído foi submetido a centrifugação (Centrilab – SH 120) a 3000 rpm por 15 min e filtrados. Após, os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e armazenados em freezer (-18°C).

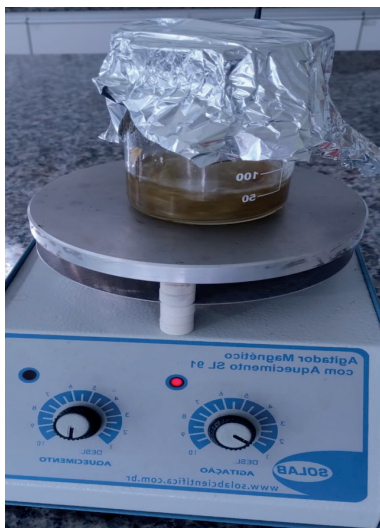


Figura 2- Extração por maceração (método convencional)

### Extração emergente (sonda ultrassônica)

Para o preparo dos extratos a mistura foi levada ao sistema usando um sonicador com sonda (VC-130; Sonics & Materials, Inc., Newtown, CT, EUA), com frequência de 20 khz (figura 3). Seguindo o planejamento experimental 2<sup>3</sup> (conforme tabela 2).

Variáveis	Símbolos	Codificações				
		-1,68	-1	0	1	1,68
Tempo (min)	X1	1,6	5	10	15	18
Peso (g)	X2	0,63	2	4	6	7,36
Temperatura (°C)	X3	16	30	50	70	84

Tabela 2 – Desenho experimental, 2<sup>3</sup> para a extração emergente (sonda ultrassônica)



A extração por ultrassom (sonda ultrassônica de 130W) foi realizada variando tempo (X1), peso da amostra (X2), e diferentes amplitudes (X3). Em um béquer foi adicionada 40 mL de etanol a 70%, razão 1:10 (p / v), e a temperatura foi fixada a 70°C. Após o processo de extração, cada extrato contendo a mistura de solvente e material moído foi submetido a centrifugação (Centrilab – SH 120) a 3000 rpm por 15 min e filtrados, após foram acondicionados em frascos âmbar e armazenados em freezer (-18°C).

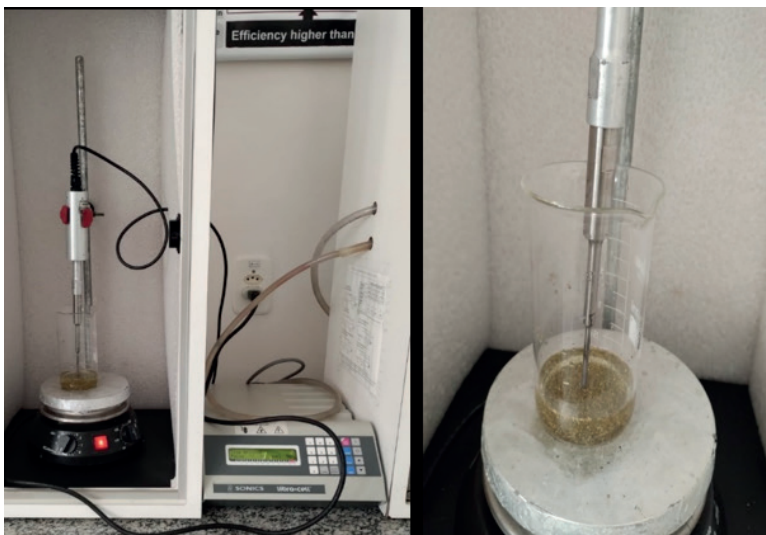


Figura 3- Extração emergente (sonda ultrassônica)

### Determinação de compostos Fenólicos Totais

Para determinação do conteúdo de fenólicos totais, foi utilizado o método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu, SINGLETON E ROSSI (1965) com modificações por ROESLER, MALTA, CARRASCO, HOLANDA, SOUSA, PASTORE (2007). Para a quantificação foi realizada uma curva de calibração, e a absorbância do extrato foi comparada com uma curva padrão de ácido gálico. A concentração do teor de fenólicos totais foi expresso em miligramas equivalente de ácido gálico por grama de amostra seca (mg EAG g<sup>-1</sup>).

### Conteúdo de Flavonoides Total

Para a determinação do conteúdo total de flavonoides, foi utilizado o ensaio colorimétrico por ZHISHEN; MENGCHENG; JIANMING (1999). Foram realizadas as leituras com a absorbância a 510 nm, em espectrofotômetro (Biospectro, modelo: SP - 220). Foi realizada curva de calibração, e a absorbância do extrato foi comparada com uma curva padrão de quercetina. O teor total de flavonoides foi expresso em mg equivalente de quercetina por grama de amostra seca (mg EQ g<sup>-1</sup>).



## Capacidade de absorção do radical de oxigênio (ORAC)

O ensaio de ORAC foi realizado como descrito por OU; HAMPSCH-WOODILL; PRIOR (2001). A capacidade de desativar o radical (ROO•) é medida pelo monitoramento do decaimento da fluorescência. A presença de compostos desativadores do ROO• diminui a taxa de decaimento da fluorescência. A fluorescência foi então medida a cada min (comprimentos de onda de 485 nm e 528 nm foram utilizados para excitação e emissão, respectivamente) a 37°C durante 90 min. A capacidade antioxidante foi determinada utilizando área sob a curva (AUC) e os resultados foram comparados com uma curva de referência e expressos em  $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ .

## Determinação da Capacidade Antioxidante pelo método de DPPH

Para os ensaios antioxidantes, foi determinada pela a atividade de eliminação de radicais dos extratos em relação ao radical (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl) (DPPH) (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). A capacidade de sequestrar radical livre foi calculada conforme a Equação 1, e expressa como percentual de inibição de oxidação do radical. A atividade de eliminação foi medida através da diminuição da absorbância das amostras em comparação com o padrão DPPH.

$$\%DPPH_{\text{radicalscavenging}} = [(A_0 - A_s) \div A_0] \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde  $A_0$  é absorbância controle,  $A_s$  é a absorbância da amostra. O valor de IC50 foi determinado pela equação da reta plotada através dos resultados contendo os valores de concentração ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) utilizadas no eixo X e os percentuais de proteção encontrados no eixo Y. Também foi construída uma curva padrão de Trolox em  $\mu\text{mol}$  versus % de inibição, onde o resultado foi expresso em  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/ g de amostra seca ( $\mu\text{mol TEAC g}^{-1}$ ).

## Análise Estatística

Para a análise dos dados foi realizado um delineamento experimental completo  $2^3$ , ponto central (3 repetições), com um total de 19 experimentos. Foram avaliados os efeitos das variáveis independentes de cada método de extração, sobre as variáveis dependentes (conteúdo fenólico total, conteúdo total de flavonoides e capacidade antioxidante). Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos em valores médios e desvio padrão (DP), submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com um nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ), através do software Statística® 10.0 (Stat Soft, Inc., EUA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 3 apresenta as variáveis independentes (tempo, peso de amostra e temperatura), e as dependentes estudadas (compostos polifenólicos e capacidade antioxidante), para a extração convencional. Os dados obtidos a partir do planejamento de compostos central, foram adaptados às equações polinomiais de segunda ordem. O significado dos coeficientes dos modelos foi determinado pela análise de variância (ANOVA). Os coeficientes significativos e valores de (p) correspondentes, os quais são inferiores  $p < 0,05$ , tiveram o efeito considerável. Diante disso, a validade do modelo foi confirmada usando ANOVA, sendo que a mesma indicou que o modelo se ajustou adequadamente aos dados experimentais. Além disso, o coeficiente de determinação indicou correlação efetiva entre os valores previstos e os reais. A condição ótima final do método de extração por maceração foram as seguintes: para a extração pelo método convencional (15 min, 2g a 70 °C). Para verificar a precisão do modelo de resposta, os experimentos foram realizados nas condições ideais, onde os rendimentos dos coeficientes nas respectivas variáveis respostas, obtiveram efeitos positivos. Para os compostos fenólicos totais foi de  $324,55 \pm 2,12$  mg EAG g<sup>-1</sup>, para os flavonoides totais foi  $188,12 \pm 1,50$  mg EQ g<sup>-1</sup>, e para a capacidade antioxidante o resultado obtido foi  $257,22 \pm 1,45$  μmol TEAC g<sup>-1</sup> para o método DPPH, e para o método ORAC foi de  $288,20 \pm 2,61$  μmol Trolox g<sup>-1</sup>. A temperatura e a massa foram as variáveis que obtiverem maiores efeitos na extração por maceração. Nos estudos de FACHRIYAH et al. (2020), foi obtido de folhas de Moringa, para os compostos fenólicos totais foi encontrado  $62,56 \pm 0,72$  mg GAE g<sup>-1</sup>, para os flavonoides totais foi de  $10,477 \pm 0,22$  mg QE g<sup>-1</sup>, e uma capacidade antioxidante moderada com um IC<sub>50</sub> de 118,615 mg/L, através da extração por maceração com solvente etanol 96%. O solvente foi substituído por um novo a cada 24 horas de extração.

Experimento	Variáveis decodificadas			Fenólicos Totais (mg GAE g-1)	Flavonoides Totais (mg EQ g-1)	DPPH ( $\mu$ mol TEAC g-1)	ORAC ( $\mu$ mol Trolox g-1)
	Tempo (min)	Massa (g)	Temperatura (°C)				
			<b>Método convencional</b>				
1	5	2	30	125,10	10,66	115,22	110,11
2	5	2	70	155,78	23,54	110,30	117,05
3	5	6	30	99,54	14,56	78,46	68,35
4	5	6	70	101,56	36,34	69,34	77,34
5	15	2	30	110,77	39,63	74,54	82,44
<b>6</b>	<b>15</b>	<b>2</b>	<b>70</b>	<b>325,65</b>	<b>178,43</b>	<b>255,89</b>	<b>278,24</b>
7	15	6	30	300,56	130,44	155,78	170,99
8	15	6	70	215,81	114,77	156,98	160,38
9	1,6	4	50	55,78	22,83	30,25	37,01
10	18	4	50	289,34	125,66	179,78	190,45
11	10	0,63	50	250,35	150,34	99,04	105,34
12	10	7,36	50	220,34	120,34	80,44	99,31
13	10	4	16	70,34	14,68	22,56	28,77
14	10	4	84	301,76	155,78	217,93	216,96
15*	10	4	50	200,75	100,23	70,45	63,56
16*	10	4	50	221,86	103,57	76,45	70,34

\*Valores arredondados para obter os resultados com maior precisão. \*Delineamento foi realizado 2<sup>3</sup>, totalizando 19 experimentos, foi realizado uma média nos pontos centrais (experimentos 15 e 16). As variáveis decodificadas são as variáveis independentes do processo de extração de cada método.

Tabela 3 – Extração de compostos polifenólicos através do método convencional

Segundo a tabela 4, a condição ótima final do método de extração por ultrassom foram as seguintes: para a extração pelo método de sonda ultrassônica (10 min, 0,63 g, 50%).

Experimento	Variáveis decodificadas			Fenólicos Totais (mg GAE g-1)	Flavonoides Totais (mg EQ g-1)	DPPH ( $\mu$ mol TEAC g-1)	ORAC ( $\mu$ mol Trolox g-1)
	Tempo (min)	Massa (g)	Amplitude (%)				
			<b>Método por ultrassom</b>				
1	5	2	30	220,12	30,23	120,21	125,10
2	5	2	70	260,12	34,56	180,42	187,01
3	5	6	30	150,73	35,77	99,45	101,56
4	5	6	70	220,73	36,12	101,59	105,83
5	15	2	30	106,84	49,61	64,54	72,36
6	15	2	70	225,65	170,43	155,80	158,20
7	15	6	30	140,56	54,78	93,56	100,41
8	15	6	70	180,81	60,52	70,66	82,63
9	1,6	4	50	286,56	130,34	150,76	160,45
10	18	4	50	201,34	115,60	164,78	180,40
11	10	0,63	50	668,32	418,33	508,43	500,34
12	10	7,36	50	421,34	267,45	301,44	329,30
13	10	4	16	100,75	54,65	70,99	78,77
14	10	4	84	530,67	289,45	380,34	377,56
15*	10	4	50	390,25	150,21	250,45	263,50
16*	10	4	50	391,56	155,98	259,53	762,69

Tabela 4 – Extração de compostos polifenólicos através do método por ultrassom

\*Valores arredondados para obter os resultados com maior precisão. \*Delineamento foi realizado 23, totalizando 19 experimentos, foi realizada uma média nos pontos centrais (experimentos 15 e 16). As variáveis decodificadas são as variáveis independentes do processo de extração de cada método.

Em relação a extração pelo método de sonda ultrassônica, foi verificado a precisão do modelo de resposta, onde os experimentos foram realizados nas condições ideais, e os rendimentos dos coeficientes nas respectivas variáveis respostas, obtiveram efeitos positivos. Para os compostos fenólicos totais foi de  $670,86 \pm 1,10$  mg EAG  $g^{-1}$ , para os flavonoides totais foi  $420,56 \pm 1,30$  mg EQ  $g^{-1}$ , e para a capacidade antioxidante o resultado obtido foi  $510,84 \pm 1,40$   $\mu$ mol TEAC  $g^{-1}$  para o método DPPH, e para o método ORAC foi de  $510,69 \pm 2,35$   $\mu$ mol Trolox  $g^{-1}$ . A amplitude e a massa foram as variáveis independentes que obtiverem maiores efeitos na extração por ultrassom. Em comparação com o método de extração convencional, a sonda ultrassônica obteve maior quantificação dos compostos fenólicos e antioxidantes em apenas 10 minutos.

Acredita-se que os efeitos de cavitação, efeitos térmicos e efeitos mecânicos têm influência significativa no processo de extração de ultrassom. Esses efeitos levam à destruição da parede celular, redução do tamanho das partículas e aumento da taxa de reação através da transferência de massa da parede celular sem causar alterações na estrutura e função dos extratos, em curto tempo de extração (CHEMAT et al., 2017).

## CONCLUSÃO

As folhas de Moringa são uma boa opção para uma suplementação alimentar, devido aos seus compostos nutricionais e fitoquímicos, como os compostos polifenólicos com alta capacidade antioxidante. Este estudo avaliou a extração através dos métodos convencionais e emergentes, dos compostos polifenólicos das folhas de Moringa. Os processos de extração foram otimizados através de um delineamento experimental.

Em relação a obtenção dos compostos fenólicos totais, flavonoides totais e capacidade antioxidante, o método que obteve a melhor resposta de otimização, foi o ultrassom através da sonda ultrassônica de 130W, quando comparada com a extração convencional por maceração. Foram encontrados para os compostos fenólicos totais  $670,86 \pm 1,10$  mg EAG  $g^{-1}$ , para os flavonoides totais foi  $420,56 \pm 1,30$  mg EQ  $g^{-1}$ , e para a capacidade antioxidante o resultado obtido foi  $510,84 \pm 1,40$   $\mu$ mol TEAC  $g^{-1}$  para o método DPPH, e para o método ORAC foi de  $510,69 \pm 2,35$   $\mu$ mol Trolox  $g^{-1}$ , em apenas 10 min, 0,63 g de amostra, a 50% de amplitude. A sonda ultrassônica conseguiu obter maiores valores de concentração de compostos de interesse em curto tempo de extração e pequenas quantidades de amostra, quando comparada com a extração por maceração. Para a extração por maceração, os compostos fenólicos totais foi de  $324,55 \pm 2,12$  mg EAG  $g^{-1}$ , para os flavonoides totais foi  $188,12 \pm 1,50$  mg EQ  $g^{-1}$ , e para a capacidade antioxidante o resultado obtido foi  $257,22 \pm 1,45$   $\mu$ mol TEAC  $g^{-1}$  para o método DPPH, e para o método ORAC foi de  $288,20 \pm 2,61$   $\mu$ mol Trolox  $g^{-1}$ , em 15 min, 2g de amostra a 70 °C.

Diante disso, foi comprovado que as folhas de moringa têm grande concentração de compostos polifenólicos importantes para a saúde humana, e que merece mais estudos e reconhecimento de um alimento rico em compostos fitoquímicos.

## REFERÊNCIAS

ABEDINIA, A., et al. **Characterization and cell viability of probiotic/prebiotics film based on duck feet gelatin: A novel poultry gelatin as a suitable matrix for probiotics.** Foods, v.10, n.8, Article number 1761, 2021.

AL-DHABI, N.A.; PONMURUGAN, K.; MARAN JEGANATHAN, P. **Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 34, 206e213, 2017.

ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A.H. **Moringa oleifera: A food plant with multiple medicinal uses (Review).** Phytotherapy Research, v.21, n.1, p.17-25, 2007.

ARRUDA, H.; S.; NERI-NUMA, I.; A.; KIDO, L.; A.; JÚNIOR, M.; R.; M.; PASTORE, G.; M. **Recent advances and possibilities for the use of plant phenolic compounds to manage ageing-related diseases.** Journal of Functional Foods, v. 75, 104203, 2019.

AUNE, D.; GIOVANNUCCI, E; BOFFETTA, P.; FADNES, L.T.; KEUM, N.; NORAT, T.; GREENWOOD, D.C.; RIBOLI, E.; VATTEN, L.J.; TONSTAD, S. **Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all cause mortality- a systematic review and dose response meta analysis of prospective studies.** International Journal of Epidemiology, v.46, n.3, p.1029–1056, 2017.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.DE C.G.; DE PAULA, S.O.; MININ, V.P.R.E.; BRESSAN, J. **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios.** Revista de Nutrição, v.4, n.23, p.629-643, 2010.

BELWAL, T.; CHEMAT, F.; VENSKUTONIS, P. R.; CRAVOTTO, G.; JAISWAL, D. K.; BHATT, I. D.; DEVKOTA, H. P.; LUO, Z. **Recent advances in scaling-up of non-conventional extraction techniques: Learning from successes and failures.** Trends in Analytical Chemistry, v.127, 115895. 2020.

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

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.-G.; MEULLEMIESTRE, A.; TIXIER, A.S.F.; ABERT-VIAN, M. **Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review.** Ultrasonics Sonochemistry, v.34, p.540–560, 2017.

FACHRIYAHA, E.; KUSRINIA, D.; HARYANTO, I.B.; WULANDARI, S.M.B., WIDYANINGRUM, I.L.; SUMARIYAH. **Phytochemical Test, Determination of Total Phenol, Total Flavonoids and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* Lam).** Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi , v.23, n. 8, p. 290-294, 2020.

KIM, Y.; JAJA-CHIMEDZA, A.; MERRILL, D.; MENDES, O.; RASKIN, I. **A 14-day repeated-dose oral toxicological evaluation of an isothiocyanate-enriched hydro-alcoholic extract from *Moringa oleifera* Lam. seeds in rats (Article).** Toxicology Reports, v.5, p.418-426, 2018.

KUMAR, K.; SRIVASTAV, S.; SHARANAGAT, V.S. **Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review.** Ultrasonics Sonochemistry, v. 70, 105325, 2021.

KUMAR, M. et al. **Moringa oleifera Lam. Seed proteins: Extraction, preparation of protein hydrolysates, bioactivities, functional food properties, and industrial application (Review).** Food Hydrocolloids, v.131,107791, 2022.

MANGANARIS, G.A.; GOULAS, V.; VICENTE, A.R.; TERRY, L.A. **Berry antioxidants: small fruits providing large benefits.** Journal of the Science of Food and Agriculture, v.94, n.5, p.825-33, 2014.

MOUSAVIAN, D.; MOHAMMADI NAFCHI, A.; NOURI, L.; ABEDINIA, A. **Physicomechanical properties, release kinetics, and antimicrobial activity of activated low-density polyethylene and orientated polypropylene films by Thyme essential oil active component.** Journal of Food Measurement and Characterization, v.15, n 1, p.883-891, 2021.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M.; PRIOR, R.L. **Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.49, n. 10, p.4619-26, 2001.

OYEYINKA, A.T.; OYEYINKA, S.A. **Moringa oleifera as a food fortificant: Recent trends and prospects(Review).** Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, v. 17, n.2, p.127-136, 2018.

PAGANO, I.; CAMPONE, L.; CELANO, R.; PICCINELLI, A.L.; RASTRELLI, L. **Green non-conventional techniques for the extraction of polyphenols from agricultural food by-products: A review.** Journal of Chromatography A, v. 1651, 462295, 2021.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C; HOLANDA, R.B.; SOUSA, C.A.S.; E PASTORE, G.M. **Antioxidant activity of cerrado fruits.** Food Science and Technology, 27, p.53-60. 2007.

SHANMUGAVEL, G.; PRABAKARAN, K.; GEORGE, B. **Evaluation of phytochemical constituents of moringa oleifera.** International Journal of Zoology and Applied Biosciences, v.3, n.1, p.1-8, 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents.** American Journal of Enology and Viticulture, v.16, n. 3, p.144-158.1965.

TANASE, C.; MOCAN, A.; COȘARĂ, S.; GAVAN, A.; NICOLESCU, A.; GHELDIU, A-M.; VODNAR, D.C.; MUNTEAN, D.L.; CRIȘAN, O. **Biological and Chemical Insights of Beech (Fagus sylvatica L.) Bark: A Source of Bioactive Compounds with Functional Properties.** Antioxidants, v.8, n.9, p. 417, 2019.

VICTORIO, C. P.; LAGE, C. L. S.; KUSTER, R. M. **Flavonoids extraction from Alpinia zerumbet (Pers.) Burt et Smith leaves using different procedures.** Eclética Química, v. 35, n.1, p.35-40, 2010.

WATERMAN, C.; CHENG, D.M.; ROJAS-SILVA, P.; POULEV, A.; DREIFUS, J.; LILA, M.A.; RASKIN, I. **Stable, water extractable isothiocyanates from Moringa oleifera leaves attenuate inflammation in vitro.** Phytochemistry, v.103, p.114-122, 2014.

WU, Y-Y.; XU, Y-M.; LAU, A.T.Y. **Anti-cancer and medicinal potentials of moringa isothiocyanate (Review).** Molecules, v.26, n.24,2021.

YANG, M.; TAO, L.; KANG, X-R.; LI, L-F.; ZHAO, C-C.; WANG, Z.; SHENG, J.; TIAN, Y. **Recent developments in Moringa oleifera Lam. polysaccharides: A review of the relationship between extraction methods, structural characteristics and functional activities.** Food Chemistry, v.14, 100322, 2022.

ZAKU, S.G.; EMMANUEL, S.; TUKUR, A.A.; KABIR, A. **Moringa oleifera: An underutilized tree in Nigeria with amazing versatility: A review.** African Journal of Food Science, v.9, n.9, p. 456-461, 2015.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. **The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals.** Food Chemistry, v.64, n. 4, p. 555-559, 1999.