



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO - PPGAN
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - CCBS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - UNIRIO

KELLY GLÓRIA DO NASCIMENTO OLIVEIRA

**Avaliação do teor total de flavonoides, do potencial antioxidante e
do perfil de compostos voláteis de infusões de quebra-pedra
(*Phyllanthus niruri*).**

Assessment of total flavonoid content, antioxidant potential, and volatile compound
profile of quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*) infusions.

RIO DE JANEIRO
2025

KELLY GLÓRIA DO NASCIMENTO OLIVEIRA

**Avaliação do teor total de flavonoides, do potencial antioxidante e
do perfil de compostos voláteis de infusões de quebra-pedra
(*Phyllanthus niruri*).**

Assessment of total flavonoid content, antioxidant potential, and
volatile compound profile of quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*)
infusions.

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Alimentos e Nutrição, da Universidade
Federal do Estado do Rio de Janeiro,
como requisito parcial para obtenção do
título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira

RIO DE JANEIRO

2025

60
61
62
63
64

Catálogo informatizada pelo(a) autor(a)

048 Oliveira, Kelly Glória do Nascimento
 Avaliação do teor total de flavonoides, do potencial
 antioxidante e do perfil de compostos voláteis de infusões
 de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*). / Kelly Glória do
 Nascimento Oliveira. -- Rio de Janeiro : UNIRIO, 2025.
 61 p.

 Orientador: Ricardo Felipe Alves Moreira.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Estado
 do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e
 Nutrição, 2025.

 1. *Phyllanthus niruri* L.. 2. potencial antioxidante. 3.
 fração volátil. I. Moreira, Ricardo Felipe Alves, orient.
 II. Título.

65
66
67
68
69
70
71
72
73

KELLY GLÓRIA DO NASCIMENTO OLIVEIRA

Avaliação do teor total de flavonoides, do potencial antioxidante e do perfil de compostos voláteis de infusões de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*).

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Aprovada em: 27/06/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 RICARDO FELIPE ALVES MOREIRA
Data: 06/07/2025 18:39:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador: prof. Ricardo Felipe Alves Moreira
(Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO)

Documento assinado digitalmente
 ANNIBAL DUARTE PEREIRA NETTO
Data: 07/07/2025 17:19:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Annibal Duarte Pereira Netto
(UFF)

Documento assinado digitalmente
 FLAVIO DE SOUZA NEVES CARDOSO
Data: 09/07/2025 08:24:31-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Flávio de Souza Neves Cardoso
(PPGAN/UNIRIO)

RIO DE JANEIRO
2025

AGRADECIMENTOS

- Agradeço a Deus por ter me dado forças para continuar e concluir o curso de mestrado.

- Agradeço à minha família, em especial à minha mãe pelo apoio, incentivo e sacrifício para que eu alcançasse meus objetivos; agradeço também a minha tia Maria, meu irmão e meu namorado pelo apoio.

-Agradeço aos meus chefes do Exército (TC Escaleira, TC André, Maj. Gil e Maj. Miguel) e da empresa Nutryenerge pela compreensão e por me liberar mais cedo e trocar meu horário quando necessário.

- Ao meu orientador, prof. Ricardo Felipe Alves Moreira, pelo conhecimento que me transmitiu, apoio e dedicação para a realização desse trabalho.

- Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN/UNIRIO) e ao seu corpo docente que me permitiram chegar até o final dessa etapa da minha vida e pelo conhecimento que adquiri com cada docente.

-Agradeço a Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO) pela oportunidade de evoluir em minha vida acadêmica.

-Agradeço à CAPES, ao CNPQ e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

- Agradeço à professora Cristiane, ao discente do mestrado Leonardo e ao discente do mestrado João Paulo, dos laboratórios LACAPA e LEEM, que me auxiliaram ao longo dessa jornada com troca de conhecimento.

- Agradeço à professora Maria Gabriela e aos técnicos Matheus e Henrique do Laboratório de Biotecnologia, que me apoiaram nas análises.

- A todos, o meu mais sincero agradecimento pela ajuda para a conclusão de mais essa etapa de sucesso em minha vida.

RESUMO

A espécie *Phyllanthus niruri* L. (quebra-pedra) tem grande potencial fitoterápico, sendo empregada para o tratamento de diversas patologias. Essa erva é consumida principalmente na forma de infusão. O objetivo do presente trabalho é avaliar o teor total de flavonoides (método do cloreto de alumínio), a capacidade antioxidante (Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS e FRAP), o perfil de compostos orgânicos voláteis (microextração em fase sólida) de infusões de *P. niruri* produzidas a partir de amostras de referência ou comerciais e a autenticidade das ervas comerciais. Essa avaliação foi realizada com o auxílio de equipamentos de espectrofotometria, cromatografia a gás com detector de ionização em chamas e cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas. Os resultados mostraram que os flavonoides parecem ter uma influência substancial sobre o potencial antioxidante dessas infusões de *P. niruri*, principalmente naquelas originárias das amostras de referência. As infusões das folhas das amostras de referência destacam-se quanto ao potencial antioxidante, principalmente quando medido através do ensaio FRAP. Esse estudo apresenta dados inéditos sobre o perfil de compostos voláteis das infusões de *P. niruri*. Foram identificados trinta e sete compostos orgânicos voláteis no conjunto das infusões analisadas, com destaque para o grupo dos ésteres (14 representantes), hidrocarbonetos (6) e compostos terpênicos oxigenados (6).

Palavras-chave: *Phyllanthus niruri*, flavonoides, capacidade antioxidante, fração volátil.

ABSTRACT

Phyllanthus niruri L. (stonebreaker) is a medicinal plant with significant phytotherapeutic potential; it is widely used for the treatment of various diseases. This herb is mainly consumed in the form of an infusion. The objective of this study was to evaluate the total flavonoid content (using the aluminum chloride method), antioxidant capacity (Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS, and FRAP assays), the profile of volatile organic compounds (via solid-phase microextraction) in *P. niruri* infusions prepared from reference and commercial samples and the authenticity of commercial herbs. This evaluation was carried out with the aid of spectrophotometry, gas chromatography with flame ionization detector and gas chromatography coupled to mass spectrometry equipments. The results showed that flavonoids appear to have a substantial influence on the antioxidant potential of *P. niruri* infusions, particularly those derived from reference samples. Infusions made from the leaves of reference samples stood out in terms of antioxidant potential, especially as measured by the FRAP assay. This study presents novel data on the volatile compound profile of *P. niruri* infusions. A total of thirty-seven volatile organic compounds were identified across all analyzed infusions, with esters (14 compounds), hydrocarbons (6), and oxygenated terpenes (6) being the most prominent groups.

Keywords: *Phyllanthus niruri*, flavonoids, antioxidant capacity, volatile fraction.

181

182

LISTA DE TABELAS

183

Tabela 1 - Tipo de embalagem, massa informada e massa real. 31

Tabela 2 - Teor de umidade das ervas comerciais e de referência. 33

Tabela 3 - Dosagem do teor total flavonoides e capacidade antioxidante (poder 37
reduzidor total, $Cl_{50(DPPH)}$, $Cl_{50(ABTS)}$ e FRAP) das infusões de *P. niruri* originárias das
amostras comerciais e de referência.

Tabela 4 – Compostos orgânicos voláteis presentes no *headspace* das infusões 47
de *P. niruri* (comerciais e de referência) analisadas.

184

185

186

187

188

189

190

191

192

193

194

195

196

197

198

199

200

201

202

203

204

LISTA DE FIGURAS

205

Figura 1 - Imagens de *P. niruri*. A: ramo, B: flor masculina. 16

Figura 2 - Contaminantes encontrados nas ervas comerciais. 32

Figura 3 - Teores de umidade (%) das amostras comerciais e de referência após 35
processamento.

Figura 4 – TTFla das infusões de *P. niruri*. 38

Figura 5 - CA das infusões de *P. niruri* expressa como $CI_{50(DPPH)}$ 41

Figura 6 - Cromatogramas das frações voláteis das infusões de quebra-pedra. 48

206

207

208

209

210

211

212

213

214

215

216

217

218

219

220

221

222

223

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

224

225 ABTS - 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato

226 AG - Ácido graxo

227 Alc - Álcool

228 Ald - Aldeído

229 CA - Capacidade antioxidante

230 CC - Amostra comercial da marca 1

231 CCBS - CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

232 CG/DIC - Cromatografia a gás com detector de ionização em chamas

233 CG/EM - Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

234 Cl₅₀ - Capacidade antioxidante das infusões necessária para neutralizar 50% dos radicais
235 livre.

236 DO - Diterpeno oxigenado

237 DP - Desvio padrão

238 DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

239 E - Amostra comercial da marca 4

240 EAG - Equivalentes de ácido gálico

241 EQ - Equivalentes de quercetina

242 ER - Equivalentes de rutina

243 Est - Éster

244 FRAP - *Ferric Reducing Antioxidant Power*

245 Hid - Hidrocarboneto

246 M - Valor médio

247 MO - Monoterpeno oxigenado

248 N - Amostra comercial da marca 3

249 ND - Não detectado

250 NU - Amostra comercial da marca 5

251 N NIST

252 P - Amostra comercial da marca 2

253 PC - PubChem

254 Ph – Pherobase.

255 PPGAN - Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição

256 PRT - Poder Redutor Total
257 RC - Amostras de referência constituídas por caule de *P. niruri*
258 RF - Amostras de referência constituídas por folhas de *P. niruri*
259 RR - Amostras de referência constituídas por raízes de *P. niruri*
260 SO – Sesquiterpeno oxigenado
261 TTFla - Teor Total de Flavonoides
262 UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco
263 UNIRIO - Universidade Federal Do Estado Do Rio De Janeiro
264
265

SUMÁRIO

1.	Introdução	13
2.	Referencial teórico	15
2.1	<i>Phyllanthus niruri</i> L. - origem e localização	15
2.2.	<i>Phyllanthus niruri</i> L. - morfologia e botânica	15
2.3.	<i>Phyllanthus niruri</i> L. - composição química	16
2.4.	Fatores influenciadores do perfil químico da planta	17
2.5.	<i>Phyllanthus niruri</i> L. – propriedades bioativas	18
2.6.	<i>Phyllanthus niruri</i> L. - toxicidade	22
3.	Objetivos	23
3.1	Objetivos gerais	23
3.2	Objetivos específicos	23
4.	Material e métodos	24
4.1.	Amostras	24
4.2.	Reagentes e padrões	24
4.3.	Monitoramento da quantidade de amostra disponível nas embalagens usadas para o acondicionamento das ervas comerciais	25
4.4.	Avaliação da presença de corpos estranhos nas embalagens	25
4.5.	Avaliação do teor de umidade das amostras de quebra-pedra comerciais e de referência	25
4.6.	Preparação das infusões de quebra-pedra	25
4.7.	Determinação do teor total de flavonoides das infusões	26
4.8.	Determinação da atividade antioxidante das infusões	26
4.8.1.	Determinação do poder redutor total das infusões	26
4.8.2.	Ensaio com o reagente 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	27
4.8.3.	Ensaio com o reagente 2,2-azino-bis-(3-etil-benzotiazolina 6- sulfonato) (ABTS)	27
4.8.4.	Método FRAP (<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)	27
4.9.	Avaliação da fração volátil das infusões	28
4.9.1.	Isolamento dos compostos orgânicos voláteis por microextração em fase sólida	28
4.9.2.	Identificação e quantificação dos compostos orgânicos voláteis presentes no <i>headspace</i> das infusões	28
4.10.	Análise estatística	29
5.	Resultados e discussão	31
5.1.	Quantidade de amostra disponível nas embalagens usadas para o acondicionamento das ervas comerciais	31
5.2.	Avaliação da presença de corpos estranhos	31
5.3.	Teores de umidade das amostras de <i>P. niruri</i>	33
5.4.	TTFla, PRT, CI ₅₀ (DPPH), CI ₅₀ (ABTS) e FRAP das infusões	36
5.5.	Perfil da fração volátil das infusões	43
6.	Conclusões	48
7.	Agradecimentos	50
8.	Referências	51

1. INTRODUÇÃO

As plantas medicinais constituem um recurso terapêutico relevante, sobretudo em países em desenvolvimento, onde entre 60% e 90% da população depende da medicina tradicional para o tratamento de enfermidades comuns (LIHELUKA et al., 2023). O crescente interesse por espécies biologicamente ativas está frequentemente relacionado ao seu baixo custo em comparação com os fármacos sintéticos (AMIN et al., 2012a). No Brasil, estima-se que apenas 10% da flora nacional tenha sido objeto de investigação científica, o que evidencia o vasto potencial para a descoberta de compostos bioativos ainda inexplorados, considerando-se a notável biodiversidade do país (BERNSTEIN et al., 2018).

Além da prospecção de novas espécies, é igualmente relevante aprofundar o conhecimento sobre plantas já utilizadas tradicionalmente, por meio da análise de frações químicas menos estudadas (como a fração volátil), visando à identificação de novos constituintes com potencial terapêutico. A caracterização do perfil químico dessas frações pode contribuir também para a verificação da autenticidade e da qualidade de produtos comerciais.

Dentre as espécies amplamente utilizadas no Brasil destaca-se *Phyllanthus niruri* L., popularmente conhecida como quebra-pedra (ROSARIO; ALMEIDA, 2016; BEZERRA et al., 2014). Suas partes aéreas e radiculares são tradicionalmente empregadas no tratamento de cálculo renal e infecções intestinais (LORENZI; MATOS, 2012). Diversos estudos têm atribuído à espécie uma variedade de atividades farmacológicas, incluindo ações antivirais, antimicrobianas, antitumorais e antidiabéticas (PATEL et al., 2011).

Diante desse amplo potencial fitoterápico, torna-se relevante investigar as infusões preparadas a partir de *P. niruri*, uma vez que essa é a forma predominante de uso pela população brasileira. No entanto, quando comercializados como alimentos, os produtos dessas ervas (por exemplo, amostras para a confecção de chás) não podem apresentar alegações terapêuticas em rótulos ou materiais promocionais e não exigem registro prévio junto à ANVISA, o que pode favorecer práticas fraudulentas e adulterações (CARVALHO et al., 2012). Nesse contexto, é fundamental promover

300 estudos científicos voltados à identificação de princípios ativos, autenticação botânica e
301 avaliação da qualidade, eficácia e segurança dessas preparações tradicionais.
302

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. PHYLLANTHUS NIRURI L. - ORIGEM E LOCALIZAÇÃO

A espécie *Phyllanthus niruri* L., cujo nome popular é quebra-pedra, pertencente ao gênero *Phyllanthus* e família Euphorbiaceae (MARQUES, 2010). O gênero *Phyllanthus* contém mais de 600 espécies de arbustos e árvores (OMURUGESAN, 2012).

Essa planta nativa da América, pode ser encontrada de norte a sul do Brasil, onde cresce espontaneamente, como planta daninha e invasora, em frestas, rachaduras de muros e calçadas de jardins e terrenos baldios em períodos chuvosos. Essa erva recebe o nome de quebra-pedra, pois ela cresce nas frestas do chão como se quebrasse a pedra, além de ser nomeada assim por alguns autores por atuar na prevenção e tratamento de cálculo renal (ROSARIO; ALMEIDA, 2016; BEZERRA et al, 2014).

2.2. PHYLLANTHUS NIRURI L. - MORFOLOGIA E BOTÂNICA

Phyllanthus significa "folha e flor" porque a flor, assim como o fruto, parecem tornar-se uma coisa só (OMURUGESAN, 2012). A erva quebra-pedra é classificada como uma planta herbácea, anual, atingindo até 0,5 metro de altura, ramificada, ramos globosos (desprovido de pelos) e folha com limbo (parte larga e plana das folhas). Possui caule muito fino com até 50cm de altura e flores pequenas, amarelas ou esverdeadas dispostas na parte inferior dos ramos (BEZERRA et al, 2014).

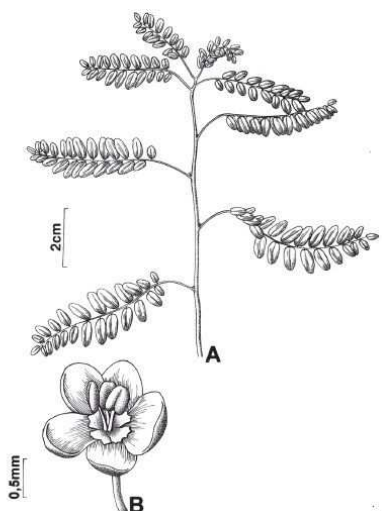


Figura 1. Imagens de *P. niruri*. A: ramo, B: flor masculina.
Figura adaptada de Martins; Lima (2011).

2.3. PHYLLANTHUS NIRURI L. - COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os estudos fitoquímicos identificaram uma variedade de compostos bioativos em diferentes partes da *Phyllanthus niruri*, incluindo flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, proantocianidinas, lignanas, terpenos e esteróis vegetais.

Entre os flavonoides identificados na *P. niruri*, destacam-se a quercetina, rutina, kaempferol, catequina e epicatequina (KUMAR et al., 2017; ALBRECHT et al., 2023). Os ácidos fenólicos presentes na planta incluem ácido gálico, ácido elágico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido p-cumárico, ácido protocatecuico, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido 4-hidróxi-benzoico, ácido 2-hidróxi-cinâmico, ácido metil salicílico, ácido p-cumaril glicólico e ácido 8-5'-diferúlico (KUMAR et al., 2017). Os principais taninos encontrados na *P. niruri* são a corilagina, geraniina, elaeocarpusina, phyllanthusiinas A, B, C e D e isocorilagina (KUMAR et al., 2017). A planta apresenta oligômeros de proantocianidina, incluindo os diméricos B1 a B5 e o trimérico T2. O oligômero dimérico B4 [(+)-catequina-(4 α →8)-(-)-epicatequina] foi o mais abundante, seguido pelos oligômeros diméricos B2 [(-)-epicatequina-(4 α →8)-(-)-epicatequina], B3 [(+)-catequina-(4 α →8)-(+)-catequina] e B1 [(-)-epicatequina-(4 β →8)-(+)-catequina], enquanto o oligômero dimérico B5 [(-)-epicatequina-(4 β →6)-(-)-epicatequina] foi encontrado nas menores proporções (NAVARRO et al., 2017).

Além dos compostos mencionados anteriormente, a planta contém lignanas (filantina e filotetralina), terpenos (*p*-cimeno e limoneno), triterpenos (lupeol e phyllanthanol), esteróis vegetais (beta-sitosterol e 24-isopropil-colesterol), alcaloides pirrolizidínicos (norsecurinina, 4-metóxi-norsecurinina, nor-ent-securinina), salicilato de metila, cafeato de etila e vitamina C. Esses compostos contribuem para as diversas atividades biológicas da planta (KUMAR et al., 2017).

2.4. FATORES INFLUENCIADORES DO PERFIL QUÍMICO DA PLANTA

A composição química da *Phyllanthus niruri* é influenciada por diversos fatores, desde as condições de cultivo até o processamento pós-colheita. Esses aspectos impactam diretamente a concentração e a qualidade dos compostos bioativos, especialmente dos compostos fenólicos, reconhecidos por suas propriedades antioxidantes.

As condições de cultivo impactam substancialmente a produção de metabólitos secundários da *P. niruri*. Braga (2018), por exemplo, evidenciou que o estresse hídrico de curto prazo, induzido artificialmente, pode aumentar a concentração de compostos como ácidos orgânicos, aminoácidos e corilagina. Tal efeito se deve a um mecanismo de aclimação da planta, no qual há ativação de vias biossintéticas de metabólitos secundários como resposta ao estresse. Este fenômeno, conhecido como hormese, caracteriza-se pela estimulação de respostas fisiológicas benéficas sob baixos níveis de estresse abiótico (POTTERS et al., 2010). No entanto, quando o estresse hídrico é prolongado, observa-se uma queda na produção desses compostos, indicando a necessidade de um manejo criterioso da irrigação. Esses mecanismos envolvem também a ativação de sistemas antioxidantes, tanto enzimáticos (como catalase, peroxidase e superóxido dismutase) quanto não enzimáticos, que ajudam na defesa da planta e aumentam o valor medicinal do vegetal (BRAVO et al., 2012).

O processo de secagem é um dos principais fatores que afetam a estabilidade dos compostos bioativos. Mediani e colaboradores (2015) demonstraram que a liofilização preserva melhor os compostos fenólicos em comparação aos métodos de secagem com ar e em forno. A eficácia da

liofilização é atribuída à desidratação por sublimação em baixas temperaturas (-80°C), que inibe a atividade enzimática, como a das polifenol oxidases, responsáveis pela degradação (oxidação) desses compostos. Já nos métodos de secagem com ar, a preservação é comprometida devido à insuficiente desativação enzimática, e na secagem em forno pode ocorrer uma degradação térmica adicional desses compostos fenólicos termossensíveis. Isso sugere que há uma faixa térmica ideal para a manutenção desses compostos, onde temperaturas mais baixas não inativam completamente enzimas degradativas e temperaturas mais altas causam degradação térmica não enzimática.

A descontaminação da planta é essencial para garantir segurança ao consumidor, mas também pode impactar em seu perfil fitoquímico. Métodos térmicos e químicos são eficazes contra microrganismos, mas podem prejudicar os compostos bioativos. A radiação gama, por outro lado, tem se mostrado eficaz na higienização sem perdas nutricionais e bioativas significativas. Narayan e colaboradores (2021) relataram que a aplicação de radiação gama em amostras de *P. niruri* em pó resultou em aumento da atividade antioxidante, especialmente nas folhas, e elevação nos teores de compostos fenólicos em todas as partes analisadas. Esses efeitos foram atribuídos à liberação dos compostos fenólicos de suas formas glicosídicas e à fragmentação de moléculas de alto peso molecular em formas livres mais bioativas (JAMSHIDI et al., 2014).

O tipo de solvente utilizado também interfere na composição química dos extratos produzidos. A polaridade do solvente pode ter influência sobre a eficiência da extração de diferentes grupos de compostos, como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos, resultando em variações quantitativas e qualitativas nos extratos (MEDIANI et al., 2015; AMIN et al., 2012A).

2.5. PHYLLANTHUS NIRURI L. – PROPRIEDADES BIOATIVAS

A *Phyllanthus niruri* é uma planta amplamente estudada devido ao seu potencial farmacológico, com destaque para suas ações antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antitumoral, antiviral, antimicrobiana, nefroprotetora

e antidiabética. Tais propriedades estão diretamente relacionadas à diversidade de compostos bioativos presentes em sua constituição.

Dentre os metabólitos secundários identificados, as lignanas destacam-se por suas atividades imunomoduladoras, anti-inflamatórias, citotóxicas, antitumorais e antivirais (HONG et al., 2015). Também são atribuídas a essas substâncias ações antiparasitárias e antiateroscleróticas. Os alcaloides, por sua vez, estão presentes em algumas amostras da planta, com variação conforme a origem geográfica. Estes compostos possuem efeito antiespasmódico sobre a musculatura lisa da uretra, favorecendo a eliminação de cálculos renais e aumentando a filtração glomerular (BOIM et al., 2010; ROSARIO; ALMEIDA, 2016). Os triterpenos presentes na *P. niruri* exercem funções anti-inflamatórias, antiespasmódicas, antimicrobianas, citotóxicas e antialérgicas (GAMI; KOTHARI, 2011).

Um grupo particularmente relevante na constituição da planta é o formado pelos polifenóis, incluindo flavonoides (quercetina, rutina), ácidos fenólicos (gálico, elágico), taninos e lignanas. Esses compostos são potentes antioxidantes naturais e demonstraram eficácia superior à de certos antioxidantes sintéticos (RUSMANA et al., 2017). A quercetina, por exemplo, exibe potente ação neutralizadora de radicais livres e quelante de metais, prevenindo a oxidação da LDL, a inflamação e, conseqüentemente, o desenvolvimento da aterosclerose (RUSMANA et al., 2017). A rutina contribui com propriedades vasoativas e anti-inflamatórias, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (ZIELIŃSKA et al., 2010).

Estudos demonstram ainda que o estresse oxidativo é um componente importante na fisiopatologia da urolitíase e outras doenças inflamatórias crônicas, o que torna o potencial antioxidante da *P. niruri* especialmente relevante (GONZÁLEZ-GALLEGO et al., 2010). Nesse contexto, compostos como a corilagina têm papel analgésico e anti-inflamatório ao inibir a liberação de citocinas como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (MOREIRA et al., 2013).

As propriedades hepatoprotetoras da planta foram verificadas em estudos que utilizaram extratos etanólicos e aquosos, demonstrando a prevenção de danos hepáticos induzidos por drogas hepatotóxicas como aspirina e ciclosporina,

bem como pela ingestão de álcool e ácidos graxos poliinsaturados (BASKARAN; PERIYASAMY; RAJAGOPALAN, 2010; BHATTACHARYYA; GHOSH; SIL, 2014; AMIN et al., 2012B). Esses efeitos protetores são mediados por compostos como filantina, hipofilantina, ácido gálico e flavonoides, que restauram as enzimas antioxidantes celulares (superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPX)) e reduzem a peroxidação lipídica.

A atividade antitumoral da *P. niruri* também é atribuída aos seus polifenóis, lignanas e flavonoides. Estudos demonstraram que compostos como o ácido gálico induzem apoptose em células cancerosas (ISHIHARA; SAKAGAMI, 2003; PINMAI, 2008), enquanto extratos da planta inibem a promoção tumoral em modelos animais, atuando sobre mecanismos antioxidantes e inflamatórios (SHARMA et al., 2011).

Além disso, há evidências de atividade antiviral da *P. niruri*, atribuída a flavonoides e ésteres fenólicos como o éster (z)-fenilmetílico do ácido 9-octadecenoico (FATEMA; KUMBHARE; KHAPEKAR, 2019). Estudos mais recentes sugerem inclusive um potencial inibitório de proteases virais envolvidas na infecção por SARS-COV-2 por parte de compostos bioativos da *P. niruri* (MURUGESAN et al., 2021). A inibição de certas proteases pode interromper o processamento de proteínas virais, o que impede que o vírus se replique e infecte novas células.

A planta também apresenta atividade antidiabética, com estudos apontando que compostos como quercetina, ácido clorogênico e ácido elágico promovem aumento da captação de glicose e melhoram a sensibilidade à insulina (MEDIANI et al., 2015; BEIDOKHTI, 2017). Paralelamente, foi observado efeito positivo no controle de triglicerídeos, reforçando seu potencial terapêutico em distúrbios metabólicos.

As antraquinonas, presentes na planta, conferem-lhe efeito laxativo ao estimular a motilidade intestinal (ROSARIO; ALMEIDA, 2016). Já os esteroides vegetais, como β -sitosterol e estigmasterol, contribuem para a redução da absorção de colesterol e demonstram atividade antiproliferativa sobre células tumorais (BELLO ET AL., 2019).

Por fim, a *P. niruri* apresenta efeitos antimicrobianos e antifúngicos, relacionados à presença de flavonoides, alcaloides, fenóis e taninos. Esses compostos atuam de forma diversa sobre a estrutura bacteriana, inibindo a síntese da parede celular, desnaturando proteínas e alterando a permeabilidade da membrana (SUDARNO; SETIORINI; SUPRAPTO, 2011). A atividade antifúngica também foi associada a compostos insaturados como o ácido 9,12,15-octadecatrienoico (FATEMA; KUMBHARE; KHAPEKAR, 2019; MAMTA; SUNIL, 2020).

Em síntese, a rica composição fitoquímica da *Phyllanthus niruri* confere à planta uma ampla gama de atividades farmacológicas, com destaque para sua ação antioxidante, que se apresenta como mecanismo central nos diversos efeitos benéficos descritos.

A atividade antioxidante de *P. niruri* foi avaliada por meio de diversos ensaios, incluindo DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) e FRAP (Poder Redutor de Ferro). Estudos demonstraram que os extratos aquoso e etanólico de *P. niruri* apresentam significativa atividade antioxidante. Os valores de CI_{50} de DPPH e ABTS foram $6,85 \pm 1,80 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $11,07 \pm 1,37 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os extratos aquosos e $46,44 \pm 0,53 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $53,34 \pm 1,97 \mu\text{mol L}^{-1}$ para os extratos etanólicos. Além disso, o extrato aquoso apresentou um alto poder redutor de ferro (FRAP) de $23883 \pm 0.019 \text{ mmol g}^{-1}$. Esse extrato aquoso demonstrou uma maior capacidade de captura de radicais livres nos ensaios DPPH, ABTS e, também, de poder redutor de íons férricos (FRAP). O extrato aquoso também apresentou o maior poder redutor total (PRT) ($376,00 \pm 0,02 \text{ mg}$ de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de planta seca), avaliado pelo método de Folin-Ciocalteu. Apesar disso, foi o extrato etanólico que apresentou o maior teor total de flavonoides ($123,9 \pm 0,002 \text{ mg}$ de equivalentes de quercetina (EQ)/g de planta seca). Esses extratos foram obtidos usando técnicas de concentração como a rota-evaporação e a liofilização (AMIN et al., 2012A). A associação entre compostos como lignanas, flavonoides, triterpenos, alcaloides e fenóis justifica o uso tradicional e o interesse científico crescente nesta espécie vegetal.

2.6. *PHYLLANTHUS NIRURI* L. - TOXICIDADE

Embora diversos estudos tenham investigado a segurança e eficácia da *Phyllanthus niruri*, é essencial considerar os potenciais efeitos tóxicos associados ao seu uso, particularmente em gestantes e indivíduos com problemas na tireoide (SOUZA et al., 2000; PAULA et al., 2020).

Estudos com ratas prenhes demonstraram que a administração de extrato aquoso de *P. niruri* pode levar a alterações nos níveis hormonais tireoidianos. Essa pesquisa revelou aumentos significativos nos hormônios T3 e T4, além de alterações morfofisiológicas nos embriões, sugerindo potenciais riscos para gestantes e indivíduos com disfunções tireoidianas (SOUZA et al., 2000).

Outros estudos indicaram que o uso de *P. niruri* durante a gestação pode afetar a função renal materna e resultar em alterações no peso corporal da prole. No entanto, não foram observados efeitos teratogênicos, como malformações fetais (PAULA et al., 2020).

Pesquisas sobre a toxicidade aguda de *P. niruri* com embriões de peixes Zebra e com *Artemia salina* indicam que doses elevadas podem ser necessárias para observar efeitos adversos (FERRANTE et al., 2020; HASSIM et al., 2021). Estudos com camundongos não mostraram sinais de toxicidade em doses de até 5000 mg/kg, sugerindo um perfil de segurança em doses moderadas (AMIN et al., 2012B).

Investigações sobre a genotoxicidade, antigenotoxicidade e citotoxicidade de extratos de *P. niruri* não revelaram alterações significativas nos parâmetros avaliados, indicando que, sob as condições experimentais estudadas, a planta não apresentava efeitos adversos (AMIN et al., 2012A).

Embora a *P. niruri* apresente propriedades terapêuticas reconhecidas, seu uso deve ser cauteloso, especialmente durante a gestação e em indivíduos com condições tireoidianas.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o teor total de flavonoides, a capacidade antioxidante e o perfil de compostos voláteis de infusões de *P. niruri* produzidas a partir de amostras comercializadas na cidade do Rio de Janeiro. Adicionalmente, infusões obtidas de diferentes partes (raiz, folhas e caule) de amostras de *P. niruri* coletadas na natureza e identificadas botanicamente foram analisadas, com a finalidade de servirem como referencial da espécie.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar o teor total de flavonoides e avaliar o potencial antioxidante das infusões originárias das amostras comerciais e de referência pelos métodos do cloreto de alumínio, Folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS e FRAP;
- ✓ Isolar a fração volátil (*headspace*) das infusões originárias das amostras comerciais e de referência pelo emprego da técnica de microextração em fase sólida;
- ✓ Determinar a composição química dessas frações voláteis por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e por cromatografia a gás com detector de ionização de chamas (CG/DIC);
- ✓ Comparar as amostras comerciais com as amostras de referência e, se possível, avaliar a questão da autenticidade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. AMOSTRAS

As amostras de quebra-pedra *in natura* foram obtidas no herbário da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) localizado por georreferencia com auxílio de GPS (localização 8°01'08.5"S; 34°56'44.3"W). Uma parte dessas amostras foi utilizada para a confecção de exsiccatas que foram depositadas no herbário da Fiocruz de Petrópolis (RJ); número do tombo RFFP 21956. A caracterização botânica da espécie foi feita na UFRJ por especialista da área. O restante das amostras foi separado em raiz, folhas e caule; essas frações foram secas a 45°C em estufa com circulação forçada de ar (MARCONI - modelo 0314M272, Brasil) por 4 dias das 7h às 18h e, em seguida, foram moídas (as folhas em moedor manual da marca Guzzo (Brasil), enquanto os talos e raízes em moinho de rotor tipo ciclone da marca Tecnal, modelo TE-651/2, Brasil). Já as amostras comerciais de quebra-pedra (condicionadas em pequenos baldes de plástico, em sacos plásticos ou em embalagens tipo *Zip Lock*) foram obtidas em diferentes pontos de comercialização na cidade do Rio de Janeiro: lojas de produtos naturais, lojas de produtos de academia e *internet*. Foram coletados três diferentes lotes de cada uma das cinco principais marcas comerciais disponíveis nesses locais em quantidade suficiente para garantir a realização de todas as determinações propostas abaixo.

4.2. REAGENTES E PADRÕES

A solução de Folin-Ciocalteu e os reagentes DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA). A mistura de alcanos saturados de C₉-C₂₆, usada como marcadora de índice de retenção, foi adquirida da Supelco (Bellefonte, PA, EUA). Todos os demais reagentes e padrões apresentavam grau analítico.

4.3. MONITORAMENTO DA QUANTIDADE DE AMOSTRA DISPONÍVEL NAS EMBALAGENS USADAS PARA O ACONDICIONAMENTO DAS ERVAS COMERCIAIS

A massa de amostra contida em cada uma das embalagens acondicionadoras das ervas comerciais foi determinada com o auxílio de uma balança de precisão (AD3300, Marte, Brasil).

4.4. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE CORPOS ESTRANHOS NAS EMBALAGENS COMERCIAIS

A avaliação visual macroscópica foi empregada como método de triagem para o monitoramento e a separação manual de materiais estranhos presentes nas embalagens contendo amostras comerciais de *Phyllanthus niruri*.

4.5. AVALIAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE DAS AMOSTRAS DE QUEBRA-PEDRA COMERCIAIS E DE REFERÊNCIA

Para avaliação do teor de umidade das amostras comerciais e de referência utilizou-se uma balança de infravermelho da marca GEHACA, modelo IV 2000, Brasil. As amostras de referência (folhas, caules e raízes) foram analisadas em triplicata. As amostras provenientes de cada um dos lotes de cada marca também foram analisadas em triplicata. Durante as determinações foram utilizados 5 g de cada amostra.

4.6. PREPARAÇÃO DAS INFUSÕES DE QUEBRA-PEDRA

Cada extrato aquoso foi preparado pela infusão de 1,0 g de amostra em 50 mL de água destilada fervente sob agitação durante 10 minutos. Após resfriamento sob água corrente à temperatura ambiente, cada extrato foi filtrado para balão volumétrico de 100 mL e o volume do balão foi ajustado com água destilada para obtenção de um extrato com concentração inicial de 1% (m/v), a partir do qual foram feitas as diluições necessárias aos experimentos subsequentes (ABI-ZAID et al., 2015). Para o isolamento da fração volátil através da microextração em fase sólida e para a determinação do teor total de

flavonoides, as infusões foram preparadas adicionando-se 75 mL de água destilada fervente em 5 g de amostra, com agitação manual por dez minutos. Em seguida, o recipiente foi resfriado sob água corrente à temperatura ambiente e o extrato sofreu filtração a vácuo, sendo posteriormente transferido para balão volumétrico de 100 mL, cujo volume foi ajustado com água destilada para obtenção de uma concentração final de 5% (m/v) (JUNG et al., 2022).

4.7. DETERMINAÇÃO DO TEOR TOTAL DE FLAVONOIDES DAS INFUSÕES

A determinação do teor total de flavonoides (TTFIa) das infusões foi realizada pelo emprego do método espectrofotométrico (equipamento EDUTEC EEQ-9023, Brasil) do cloreto de alumínio (NEVES; DE ALENCAR; CARPES, 2009). A rutina foi utilizada como composto de referência. As infusões de *P. niruri* a 5% foram utilizadas nesta determinação. O teor total de flavonoides foi calculado a partir de uma curva de calibração de rutina (20, 60, 100, 150, 200, 300, 600 e 1200 mg/L) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de rutina por litro de infusão (mg ER/L) ou em mg de equivalentes de rutina por g de amostra seca (mg ER/g). A absorbância foi monitorada no comprimento de onda de 510 nm ($\lambda = 510$ nm).

4.8. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS INFUSÕES

4.8.1. DETERMINAÇÃO DO PODER REDUTOR TOTAL DAS INFUSÕES

O poder redutor total (PRT) das infusões foi determinado em espectrofotômetro (EDUTEC EEQ-9023, Brasil) pelo emprego do reagente de Folin-Ciocalteu (GOVINDARAJAN et al., 2003). O ácido gálico foi utilizado como composto referência. As infusões a 1,0% (m/v) sofreram diluição para 0,2% (m/v); as infusões diluídas foram utilizadas nesta determinação. O PRT das infusões foi calculado a partir de uma curva de calibração de ácido gálico (1, 5, 10, 25, 50, 100, 300, 600 e 1000 mg/L) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por litro de infusão (mg EAG/L) ou em mg de equivalentes de ácido gálico por grama de amostra seca (mg EAG/g). A absorvância foi monitorada em $\lambda = 760$ nm.

4.8.2. ENSAIO COM O REAGENTE 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZIL (DPPH)

O potencial antioxidante das infusões foi determinado com auxílio de um espectrofotômetro (EDUTECH EEQ-9023, Brasil) pelo emprego do reagente DPPH (SOUZA et al., 2019). As infusões foram diluídas em água destilada nas seguintes concentrações: 100, 400, 500, 700, 1000, 1200, 1300, 1500, 1700, 1800, 2000, 2300 e 2600 µg/mL. A Cl_{50} (concentração da infusão que reduz o conteúdo de radicais DPPH• em 50%) foi calculada através de uma curva de regressão linear. As absorvâncias foram monitoradas em $\lambda = 515$ nm. Ácido gálico e rutina foram utilizados como controles positivos.

4.8.3. ENSAIO COM O REAGENTE 2,2-AZINO-BIS-(3-ETIL-BENZOTIAZOLINA-6-SULFONATO) (ABTS)

O potencial antioxidante das infusões também foi determinado espectrofotometricamente (equipamento EDUTECH EEQ-9023, Brasil) pelo emprego do reagente ABTS (RUFINO et al., 2007). As infusões foram diluídas em água destilada (25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 700 e 1000 µg/mL) e usadas para a produção da curva de atividade antioxidante que viabilizou o cálculo da Cl_{50} (concentração da infusão que reduz o conteúdo de radicais ABTS em 50%). As absorvâncias foram monitoradas em $\lambda = 750$ nm. O Trolox foi utilizado como controle positivo.

4.8.4. MÉTODO FRAP (*FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT POWER*)

O potencial antioxidante das infusões ainda foi avaliado espectrofotometricamente (equipamento EDUTECH EEQ-9023, Brasil) pelo método FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (RUFINO et al., 2006). As leituras de absorvância foram efetuadas a 595 nm. As infusões a 1,0% (m/v) sofreram diluições e as infusões diluídas (1000, 1500 e 2500 mg/L) foram utilizadas nesta determinação. Para fins de cálculo, a curva padrão foi feita com soluções de sulfato ferroso em diferentes concentrações (500, 1000, 1500 e 2000 mg/L). Os resultados foram expressos em mM de sulfato ferroso por grama de amostra seca

($\mu\text{M FeSO}_4$)/g).

4.9. AVALIAÇÃO DA FRAÇÃO VOLÁTIL DAS INFUSÕES

4.9.1. ISOLAMENTO DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS POR MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

A fração volátil das infusões foi avaliada de acordo com o método proposto por Jung e colaboradores (2022), com pequenas modificações. Para essas determinações foram utilizadas as infusões preparadas na concentração de 5% (m/v), conforme item 2.3. Para o isolamento dos compostos orgânicos voláteis presentes nos *headspaces* das infusões recém preparadas, volumes de 10 mL das mesmas foram transferidos para frascos de vidro de 100 mL tampados com septo de PTFE/silicone, contendo uma pequena barra magnética para agitação. Os frascos foram mantidos a 60°C por 60 minutos sob constante agitação, com uma fibra revestida de 100 μm de dimetilpolissiloxano (100% PDMS; Supelco, EUA) exposta ao *headspace* com o auxílio de um *holder* manual (Supelco, EUA) inserido através do septo. Antes da exposição da fibra ao *headspace*, seu pré-condicionamento foi feito a 250°C por 30 minutos no injetor do cromatógrafo usado nas determinações. Posteriormente, a dessorção dos compostos orgânicos voláteis foi feita a 250°C por 5 minutos no injetor do sistema de cromatografia a gás, antes do início das corridas cromatográficas.

4.9.2. IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS PRESENTES NO HEADSPACE DAS INFUSÕES

Para a quantificação dos compostos orgânicos voláteis presentes nos *headspaces* das infusões, as análises de cromatografia a gás com detector de ionização em chamas (CG/DIC) foram realizadas em um cromatógrafo GC-2010Plus (Shimadzu, Japão). Os compostos orgânicos voláteis foram separados em uma coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm d.i.) revestida de dimetilpolissiloxano (100%), com espessura de filme de 0,25 μm (SPB-1, Supelco, EUA). A temperatura do forno cromatográfico foi programada para aumentar de 60°C a 240°C a uma taxa de 3°C/minuto. A temperatura final do forno (240°C) foi

mantida por 15 minutos. Dessa forma, a corrida cromatográfica totalizou 75 minutos. A temperatura do injetor foi fixada em 250°C, enquanto a temperatura do detector foi mantida em 260°C. O gás hélio foi usado como gás carreador em um vazão de 1,0 mL/minuto. As injeções foram realizadas em modo de *splitless*. Os índices de retenção dos compostos na coluna foram estimados pelo método de Kovats modificado (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963), com o auxílio de uma mistura de alcanos saturados (C₉-C₂₆, 1.000 µg/mL de cada componente em hexano) adquirida da Supelco (Bellefonte, PA, EUA). As concentrações dos compostos orgânicos voláteis presentes nos *headspaces* das infusões foram estimadas através do método de padronização externa, com os padrões passando pelos mesmos processos de isolamento e análise que foram empregados para a avaliação da composição das infusões. Para identificação desses compostos voláteis, as determinações foram desenvolvidas em um sistema de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) do tipo GC-2010Plus/GCMS-QP2010 da Shimadzu (Japão). A coluna e as condições cromatográficas foram as mesmas descritas para as determinações por CG/DIC. O espectrômetro de massas operou em uma voltagem de ionização de 70 eV, realizando varreduras nos fragmentos na faixa de 30 a 400 m/z, em ciclos de 3 décimos de segundo. As temperaturas da fonte de íons e da interface com o CG foram mantidas em 260°C. A identificação dos espectros de massas dos compostos em análise baseou-se na comparação com os dados contidos nas bibliotecas NIST12.lib e NIST62.lib, disponíveis no software gerenciador desse sistema de CG/EM. A identificação foi complementada pela comparação dos índices de Kovats calculados com aqueles disponíveis na literatura e com a coeluição com padrões de compostos voláteis disponíveis no laboratório.

4.10. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software Graph Pad Prism 6.0. Os dados obtidos para os parâmetros avaliados passaram por uma análise de variância (One-Way ANOVA), com pós-teste de Tukey, para avaliação da existência de diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) entre os grupos.

738 Correlações entre os parâmetros analisados foram determinadas pelo emprego do
739 teste do coeficiente de correlação de Pearson.
740

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. QUANTIDADE DE AMOSTRA DISPONÍVEL NAS EMBALAGENS USADAS PARA O ACONDICIONAMENTO DAS ERVAS COMERCIAIS

A massa de amostra contida em cada uma das embalagens acondicionadoras da erva comercial foi determinada com o auxílio de uma balança de precisão (AD3300, Marte, Brasil). Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1. As marcas P [massa de amostra = $(34,66 \pm 1,95)$ g], E [$(18,19 \pm 0,64)$ g] e NU [$(31,49 \pm 0,60)$ g] apresentaram massa real um pouco maior do que a informada. A marca CC ($59,07 \pm 4,17$ g) apresentou um valor médio de massa ligeiramente menor do que o informado; foi a marca que apresentou o maior desvio padrão da média. A marca N ($19,06 \pm 0,52$ g) também apresentou um valor médio de massa numericamente menor do que o informado.

Tabela 1: tipo de embalagem, massa informada e massa real

Tipo de embalagem	Marca	Massa informada (g)	Massa real (g) (M $\pm$ DP)
Balde de plástico	CC	60g	$59,07 \pm 4,17$
Embalagem plástica <i>Zip Lock</i>	P	30g	$34,66 \pm 1,95$
Embalagem plástica	N	20g	$19,06 \pm 0,52$
Embalagem plástica	E	15g	$18,19 \pm 0,64$
Embalagem plástica	NU	30g	$31,49 \pm 0,60$

M = valor médio; DP = desvio padrão; CC – amostras comerciais da marca 1; P – amostras comerciais da marca 2; N – amostras comerciais da marca 3; E – amostras comerciais da marca 4; NU – amostras comerciais da marca 5.

5.2. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE CORPOS ESTRANHOS

Alguns contaminantes foram encontrados eventualmente em algumas das amostras comerciais de *P. niruri* estudadas (Figura 2). Em uma das amostras do lote 1 da marca CC (CC1) foi detectado um contaminante com aspecto de semente com cerca de 1 cm de diâmetro. Em uma amostra NU2 o contaminante

detectado tinha aparência de folha de capim limão. Na marca N foi encontrado um contaminante com aspecto de fragmento de tijolo em uma das amostras do lote 2 e um contaminante que parecia um caroço de milho em outra amostra desse mesmo lote. Por último, em uma das amostras do lote 1 da marca N foi encontrado um contaminante com aspecto de fruta seca.



Figura 2: contaminantes encontrados nas ervas comerciais. Fonte: acervo pessoal do autor.

De acordo com a portaria nº 519, de 26 de junho de 1998, da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) (BRASIL, 1998), os contaminantes descritos anteriormente podem ser classificados como amidos estranhos (semente com cerca de 1 cm de diâmetro, caroço de milho), elementos histológicos estranhos (folha de capim-limão) e sujidades pesadas (fragmento de tijolo). A presença de contaminante com aspecto de fruta seca pode indicar a presença de amidos estranhos ou de fragmentos de outra planta não autorizada (elementos histológicos estranhos).

A portaria nº 519/1998 (BRASIL, 1998) estabelece o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de “chás” (plantas destinadas à preparação de infusões ou decocções). Esta portaria visa assegurar que os chás comercializados no Brasil atendam aos padrões de identidade e qualidade,

garantindo a segurança alimentar e a saúde pública. Essa portaria estabelece, por exemplo, os parâmetros para avaliação microscópica de chás, visando identificar a presença de materiais estranhos e impurezas. Os limites estabelecidos para os contaminantes descritos anteriormente são: ausência em 5g de amostra para elementos histológicos estranhos e amidos estranhos e máximo de 150 mg por 10 g de amostra para sujidades pesadas. Apesar desses contaminantes terem sido identificados em algumas das amostras estudadas, a avaliação quantitativa, por exemplo, por quantidade de amostra monitorada, não foi desenvolvida. Dessa forma, não é possível aferir se as amostras em questão estão ou não em conformidade com os padrões estabelecidos. De qualquer forma, a detecção de tais contaminantes em algumas das amostras indica que esse tipo de avaliação é importante e deve ser incentivada em futuros estudos. Contaminantes como a folha com aspecto de capim limão, se não retirados antes do preparo das infusões, podem, por exemplo, interferir no sabor, aroma e até mesmo no potencial bioativo das bebidas.

5.3. TEORES DE UMIDADE DAS AMOSTRAS DE *P. NIRURI*

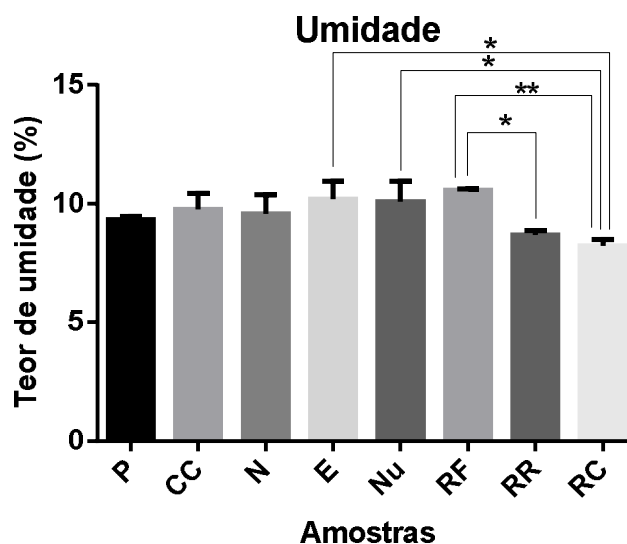
Os teores de umidade das amostras de *P. niruri* comerciais e de referência (caules, folhas e raízes) são apresentados na tabela 2. Nas amostras comerciais os teores de umidade variaram de $[(9,13 \pm 0,80)\%$ - marca N] a $[(10,03 \pm 0,76)\%$ - marca E], não havendo diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as marcas com relação a esse parâmetro.

Tabela 2: teor de umidade das ervas comerciais e de referência.

Amostras	Teor de umidade (%) (M $\pm$ DP)
CC	9,87 $\pm$ 0,68 ^{a,b,c}
P	9,37 $\pm$ 0,15 ^{a,b,c}
N	9,13 $\pm$ 0,80 ^{a,b,c}
E	10,03 $\pm$ 0,76 ^{a,b}
NU	9,67 $\pm$ 0,85 ^{a,b}
RF	10,60 $\pm$ 0,06 ^a
RC	8,20 $\pm$ 0,25 ^c
RR	8,60 $\pm$ 0,21 ^{b,c}

CC – amostras comerciais da marca 1; P – amostras comerciais da marca 2; N – amostras comerciais da marca 3; E – amostras comerciais da marca 4; NU – amostras comerciais da marca 5; RF – amostras de referência constituídas por folhas de *P. niruri*; RC - amostras de referência constituídas por caules (talos) de *P. niruri*; RR – amostras de referência constituídas por raízes de *P. niruri*. Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os resultados ($p < 0,05$).

Já nas amostras de referência, os teores de umidade variaram de $[(8,20 \pm 0,25)\%$ (caules de referência – RC)] a $[(10,60 \pm 0,06)\%$ (folhas de referência – RF)]. Nesse caso, as amostras RC e RR (raízes de referência) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) com relação a esse parâmetro. Entretanto, ambas (RC e RR) apresentaram teores de umidade inferiores ($p < 0,05$) ao apresentado pelas amostras RF. Um estudo desenvolvido em 2013 por Couto e colaboradores avaliou as partes aéreas de *P. niruri* (folhas e talos) em função das condições de cultivo e colheita. Os resultados indicaram que, mesmo quando submetidas ao mesmo protocolo de secagem, as folhas apresentaram um teor de umidade residual superior ao dos talos, sugerindo que as propriedades anatômicas e higroscópicas das partes aéreas, especialmente das folhas, influenciam na retenção de água. Embora este estudo não tenha incluído as raízes na análise, é razoável inferir que as raízes apresentam características anatômicas e fisiológicas distintas, o que pode resultar em diferenças nos teores de umidade. As folhas possuem uma estrutura anatômica adaptada à fotossíntese e à transpiração, com estômatos e uma cutícula que regulam a perda de água. Já os talos e raízes têm funções estruturais e de transporte de água e nutrientes, com características anatômicas adaptadas a essas funções. Essas diferenças estruturais influenciam a capacidade de retenção de água de cada parte da planta (COUTO et al., 2013; ALADE et al., 2020). As amostras de RC também apresentaram um valor médio de umidade estatisticamente inferior ($p < 0,05$) aos observados nas amostras comerciais das marcas E e NU (Figura 3).



CC – amostras comerciais da marca 1;
P – amostras comerciais da marca 2;
N – amostras comerciais da marca 3;
E – amostras comerciais da marca 4;
NU – amostras comerciais da marca 5;
RF – amostras de referência das folhas;
RC – amostras de referência dos caules (talos);
RR – amostras de referência das raízes.

* - $p < 0,05$;
** - $p < 0,01$

Figura 3 – Teores de umidade (%) das amostras comerciais e de referência após processamento. Fonte: próprio autor.

É importante destacar que os teores de umidade que estão sendo apresentados não estão associados às amostras de referência *in natura* recém coletadas, mas sim a essas amostras de referência após processamento (secagem e moagem), para que fossem avaliadas em uma condição mais similar a das amostras comerciais; a secagem desse tipo de amostra costuma ser uma estratégia comum e frequente para, por exemplo, aumentar o tempo de prateleira desse tipo de produto, com a redução da atividade de água.

As amostras comerciais estavam secas e fragmentadas, mas não havia descrição, por exemplo nos rótulos das embalagens, de como esses processos haviam sido conduzidos. Portanto, as condições de secagem e fracionamento das amostras comerciais provavelmente não foram exatamente iguais às condições

empregadas no processamento das amostras de referência. De qualquer forma, todas as amostras apresentaram teores de umidade inferiores à faixa de 10 a 12%, normalmente associada a amostras comerciais de plantas destinadas à preparação de infusões ou decocções (chás), de acordo com a portaria nº 519, de 26 de junho de 1998, da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) (BRASIL, 1998).

As amostras comerciais pareciam conter uma mistura de folhas e caules (talos) da erva quebra-pedra em proporções variáveis, porém sempre com a presença de mais folhas do que talos. A umidade média das amostras comerciais foi de $(9,61 \pm 0,37) \%$, valor numericamente muito próximo ao encontrado para a média aritmética simples entre os teores de umidade de RF e RC (9,4%).

5.4. TTFla, PRT, $CI_{50}(DPPH)$, $CI_{50}(ABTS)$ E FRAP DAS INFUSÕES

Os valores médios para o teor total de flavonoides (TTFla), e o potencial antioxidante (expresso como poder redutor total (PRT), $CI_{50}(DPPH)$, $CI_{50}(ABTS)$ e como poder de redução de íons Fe^{3+} (FRAP)) das infusões de *P. niruri* (originárias das amostras comerciais ou de referência) são apresentados na tabela 3. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre as infusões das diferentes amostras de quebra-pedra comerciais com relação ao TTFla. O TTFla médio dessas infusões variou de 11,07 (CC) a 18,32 (NU) mg de equivalentes de rutina (ER)/g de amostra seca. O valor médio para esse parâmetro, considerando todas as amostras comerciais analisadas, foi de $(14,21 \pm 3,65)$ mg de ER/g de amostra seca. Dessa forma, em média, o conteúdo total de flavonoides das infusões das amostras de *P. niruri* comerciais mostrou-se semelhante ao conteúdo total $[(14,78 \pm 7,64)$ mg de ER/g de amostra seca] de flavonoides das infusões de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca), produzidas a partir de amostras de referência e comerciais originárias do estado do Rio de Janeiro. No caso dessa outra erva (pata-de-vaca), o TTFla variou de 4,82 – 37,00 mg ER/g de amostra seca (JUNG et al., 2022). As infusões de *P. niruri* também apresentaram um TTFla médio $[(710,70 \pm 182,59)$ mg de ER/L de infusão] próximo ao encontrado em infusões de boldo-do-chile comercializadas no Brasil $[(755,92 \pm 34,48)$ mg de ER/L de infusão] (SOUZA et al, 2019). Por outro lado, o TTFla médio das infusões de *P. niruri*

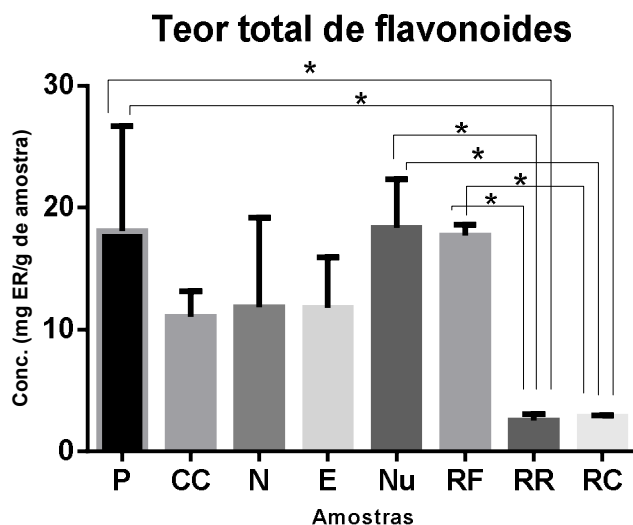
mostrou-se numericamente superior ao observado para as infusões da carqueja conhecida como *Baccharis myriocephala* [(11,58 ± 1,25) mg de ER/g de amostra seca] (TEIXEIRA et al., 2024). Por conta dos desvios padrões associados a esses valores médios, é bem provável que essa diferença não seja estatisticamente significativa.

Tabela 3: dosagem do teor total flavonoides e capacidade antioxidante (poder redutor total, $Cl_{50(DPPH)}$, $Cl_{50(ABTS)}$ e FRAP) das infusões de *P. niruri* originárias das amostras comerciais e de referência

Amostras	TTFla (mg ER/g)	PRT (mg EAG/g)	$Cl_{50(DPPH)}$ (μ g/mL)	$Cl_{50(ABTS)}$ (μ g/mL)	FRAP (μ M de Fe^{2+} /g)
CC (M ± DP)	11,07 ± 2,09 ^{a,b}	19,13 ± 11,10 ^a	1604,15 ± 643,34 ^{a,b}	536,99 ± 299,13 ^a	243,67 ± 185,54 ^a
P (M ± DP)	18,06 ± 8,63 ^a	27,12 ± 23,74 ^a	1173,6 ± 1083,39 ^{a,b}	283,68 ± 124,75 ^a	364,86 ± 319,84 ^a
N (M ± DP)	11,80 ± 7,39 ^{a,b}	27,98 ± 23,61 ^a	2556,28 ± 1554,54 ^a	787,61 ± 738,61 ^a	257,85 ± 197,5 ^a
E (M ± DP)	11,79 ± 4,14 ^{a,b}	40,28 ± 27,97 ^a	1577,78 ± 186,75 ^{a,b}	421,80 ± 118,42 ^a	303,13 ± 290,47 ^a
NU (M ± DP)	18,32 ± 3,98 ^a	59,25 ± 14,90 ^a	603,09 ± 676,71 ^{a,b}	175,40 ± 88,18 ^a	768,49 ± 179,05 ^a
RF (M ± DP)	17,68 ± 0,93 ^a	54,98 ± 4,53 ^a	164,65 ± 20,70 ^b	51,55 ± 4,10 ^a	1780,74 ± 244,17 ^b
RC (M ± DP)	2,84 ± 0,13 ^b	17,32 ± 1,88 ^a	525,17 ± 50,76 ^{a,b}	370,16 ± 189,17 ^a	398,81 ± 108,76 ^a
RR (M ± DP)	2,57 ± 0,52 ^b	13,90 ± 2,66 ^a	1253,63 ± 334,24 ^{a,b}	524,16 ± 263,68 ^a	238,003 ± 75,98 ^a

CC – amostras comerciais da marca 1; P – amostras comerciais da marca 2; N – amostras comerciais da marca 3; E – amostras comerciais da marca 4; NU – amostras comerciais da marca 5; RF – amostras de referência constituídas por folhas de *P. niruri*; RC - amostras de referência constituídas por caules (talos) de *P. niruri*; RR – amostras de referência constituídas por raízes de *P. niruri*; TTFla – teor total de flavonoides; PRT – poder redutor total; Cl_{50} (concentração da infusão capaz de neutralizar 50% dos radicais DPPH ou ABTS). FRAP- *Ferric Reducing Antioxidant Power* = poder antioxidante de redução de íons Fe^{3+} ; ER – equivalentes de rutina, EAG – equivalentes de ácido gálico; Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre os resultados ($p < 0,05$).

Com relação às amostras de referência, percebe-se que não há diferença estatística ($p > 0,05$) entre os TTFla das infusões produzidas a partir das amostras RR e RC. Por outro lado, o TTFla das infusões de RF mostrou-se superior ($p < 0,05$) aos teores encontrados para esses compostos fenólicos nas outras duas amostras de referência (RR e RC). As amostras de RF não diferiram das amostras comerciais com relação a esse parâmetro (medido em suas infusões). Já as amostras RR e RC apresentaram TTFla inferiores ($p < 0,05$) aos das amostras comerciais NU e P (Figura 4).



* $p < 0,05$

CC – amostras comerciais da marca 1;
P – amostras comerciais da marca 2;
N – amostras comerciais da marca 3;
E – amostras comerciais da marca 4;
NU – amostras comerciais da marca 5;
RF – amostras de referência das folhas;
RC - amostras de referência dos caules (talos);
RR – amostras de referência das raízes.

Figura 4 – TTFla das infusões de *P. niruri*. Fonte: próprio autor.

891

892 O TTFla de infusões de amostras de *P. niruri* já foi indicado em estudos
893 anteriores (NGUANG et al, 2017; LULIANA et al. 2019). Entretanto, a comparação
894 desses dados da literatura com os dados do presente estudo não é possível, por
895 exemplo, pelo fato dos resultados terem sido apresentados em mg de
896 equivalentes de quercetina (EQ)/g de peso seco (NGUANG et al, 2017). No caso
897 do estudo de Luliana e colaboradores (2019), os resultados foram expressos por
898 grama de extrato (fração aquosa: $20,07 \pm 1,23$ mg ER/g extrato), o que também
899 inviabiliza a comparação com os dados obtidos no presente estudo, mesmo que a
900 rutina tenha sido escolhida como composto de referência.

901 Com relação à capacidade antioxidante das infusões de quebra-pedra
902 analisadas, um dos métodos empregados em seu monitoramento foi o de Folin-

Ciocalteu. Esse método é frequentemente utilizado para a determinação do teor total de compostos fenólicos de diferentes matrizes. Entretanto, é importante destacar que o teste de Folin-Ciocalteu mede na realidade o poder redutor total das amostras. Dessa forma, associar os resultados deste teste exclusivamente à presença de compostos fenólicos é um equívoco. Isso pode produzir resultados superestimados para a concentração desse grupo, visto que outras substâncias com potencial redutor (p. ex.: açúcares redutores, vitamina C, carotenoides) podem contribuir positivamente com o teste. Sendo assim, o teste foi considerado como mais uma forma de avaliarmos a capacidade antioxidante das infusões de quebra-pedra testadas.

O PRT de extratos em clorofórmio das folhas de *P. niruri* foi estimado pelo método de Folin-Ciocalteu em 115,32 mg de EAG/g de amostra seca (KUMAR; CHOZHAN; MURUGESH, 2022). Esse valor é muito superior ao apresentado pelas infusões produzidas a partir das amostras de *P. niruri* comerciais ou de referência analisadas no presente estudo. Isso indica uma diferença importante entre o clorofórmio e a água fervente com relação às suas capacidades de extração dos compostos responsáveis pelo poder redutor desses dois tipos de extratos. Entretanto, devemos destacar que só as infusões podem ser consumidas pela população. Navarro e colaboradores (2017) também avaliaram o PRT de extratos de *P. niruri* ricos em polifenóis que foram produzidos com o auxílio de diferentes solventes (metil terc-butil éter, metanol, hexano e clorofórmio) e técnicas de ultrassom e rota-evaporação. Nesse estudo, o PRT foi estimado em $(328,80 \pm 13,41)$ mg de EAG/g de extrato. O processo de extração usado por Navarro e colaboradores (2017) é muito diferente do processo de infusão; além disso, envolveu técnicas de concentração do extrato como, por exemplo, a rota-evaporação e os resultados foram expressos em relação à massa do extrato. Dessa forma, a comparação com os valores de PRT das infusões apresentados no presente estudo fica inviabilizada.

Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as infusões originárias das amostras estudadas (comerciais e de referência) com relação aos valores de PRT determinados através do método de Folin-Ciocalteu. O PRT

médio, considerando todas as amostras de *P. niruri* analisadas, foi de $(32,50 \pm 17,26)$ mg de EAG/g de amostra seca. Esse valor se mostra numericamente superior ao valor encontrado para o PRT das infusões de *Baccharis myrioccephala* $[(25,26 \pm 1,72)$ mg EAG/g de amostra seca] (TEIXEIRA et al., 2024), mas é possível que isso não reflita uma diferença estatisticamente significativa. Por outro lado, as infusões de quebra-pedra apresentaram um PRT $[(65,66 \pm 34,93)$ mg de EAG/L de infusão] inferior ao observado para as infusões produzidas a partir de amostras comerciais de boldo-do-chile $[(806,10 \pm 201,81)$ mg de EAG/L de infusão] (SOUZA et al., 2019).

Os valores médios de PRT das infusões de quebra-pedra provenientes das amostras comerciais NU e das amostras de referência das folhas (RF) mostraram-se bem próximos ao valor médio de PRT $[(58,37 \pm 8,61)$ mg EAG/g] encontrado para infusões comerciais de erva mate, planta de consumo muito popular no Brasil, principalmente na região Sul do país (SOUZA; SETIORINI; SUPRAPTO, 2011).

Na revisão da literatura, realizada para o desenvolvimento do presente estudo, não foram identificados outros trabalhos de pesquisa que fizessem referência à capacidade antioxidante, medida pelo emprego dos reagentes DPPH, ABTS ou FRAP, de infusões de *P. niruri* preparadas de forma similar à indicada no presente estudo. Os extratos aquosos analisados nos estudos disponíveis na literatura foram preparados de maneira muito distinta, empregando, por exemplo, técnicas de concentração como a liofilização (AMIN et al., 2012A ; HARISH; SHIVANANDAPPA, 2006). Dessa forma, a comparação efetiva desses dados com os produzidos no presente estudo não se mostra possível.

A capacidade antioxidante (CA) das infusões de *P. niruri* testadas foi (em parte) expressa como a concentração de cada infusão necessária para neutralizar 50% dos radicais DPPH ou ABTS ($CI_{50(DPPH)}$ ou $CI_{50(ABTS)}$). Quanto menor é o CI_{50} de uma solução, maior será seu potencial antioxidante. A CA das infusões medida pelo ensaio com o reagente DPPH produziu valores de CI_{50} que variaram de $(164,65 \pm 20,70)$ $\mu\text{g/mL}$ (RF) a $(2556,28 \pm 1554,54)$ $\mu\text{g/mL}$ (N). Só foi possível observar diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as infusões

originárias dessas duas amostras (RF e N), que apresentaram os valores extremos da faixa de $CI_{50(DPPH)}$ determinada para as amostras testadas (Figura 5). Desconsiderando esses valores extremos, o valor médio de $CI_{50(DPPH)}$ das demais infusões é de $(1122,90 \pm 465,97) \mu\text{g/mL}$. Esse valor é inferior ao valor de $CI_{50(DPPH)}$ $[(2.210 \pm 270) \mu\text{g/mL}]$ estimado para as infusões de *Baccharis myriocephala* (TEIXEIRA et al., 2024). Dessa forma, a maioria das infusões de quebra-pedra parece apresentar um potencial antioxidante (medido pelo emprego do reagente DPPH) superior ao das infusões dessa espécie de carqueja. Por outro lado, a maioria dessas infusões de quebra-pedra apresenta uma CA inferior à CA apresentada ($430 \mu\text{g/mL}$) pelas infusões de boldo-do-chile (SOUZA et al., 2019). Os resultados de $CI_{50(DPPH)}$ obtidos para os padrões de rutina e ácido gálico foram $93 \mu\text{g/mL}$ e $8,5 \mu\text{g/mL}$, respectivamente (OLIVEIRA; ROCHA; MOREIRA, 2023). Sendo assim, as infusões de *P. niruri* do presente estudo possuem um potencial antioxidante inferior ao observado para esses dois padrões de compostos antioxidantes.

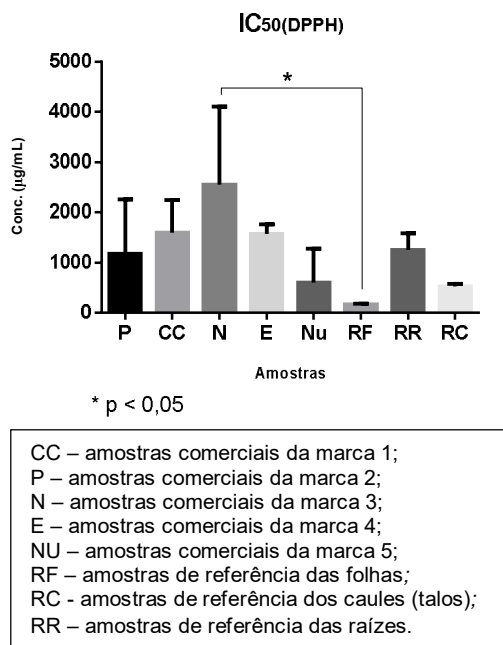


Figura 5 – CA das infusões de *P. niruri* expressa como $CI_{50(DPPH)}$.
Fonte: próprio autor.

A CA antioxidante das infusões de *P. niruri* também foi determinada pelo teste com o reagente ABTS. Nesse caso, não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as diferentes infusões analisadas. A CA média, considerando todas as amostras analisadas, foi representada pelo valor de $Cl_{50(ABTS)}$ de $(393,92 \pm 230,18) \mu\text{g/mL}$. Esse resultado mostrou-se superior ao valor de $Cl_{50(ABTS)}$ do Trolox (6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), que foi estimado em $28 \mu\text{g/mL}$ (MARQUES; MOREIRA; AYRES, 2022). Dessa forma, as infusões de *P. niruri* apresentam um potencial antioxidante inferior ao do Trolox.

Por último, a CA de cada infusão foi testada pelo método de FRAP. Os valores associados à CA medida por esse método variaram de $(238,00 \pm 75,98) \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/g de amostra seca (RR) a $(1780,74 \pm 244,17) \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/g de amostra seca (RF). A CA das infusões produzidas a partir das folhas de referência (RF) mostrou-se estatisticamente superior ($p < 0,05$) às capacidades antioxidantes de todas as demais infusões avaliadas. Esse resultado reforçou as tendências numéricas observadas nos testes com DPPH e ABTS, que faziam as infusões de RF se destacarem, mas não a ponto de se diferenciarem de todas as demais de forma estatisticamente significativa. Provavelmente isso não aconteceu em função dos elevados desvios padrões observados, principalmente para as infusões provenientes das amostras comerciais. Como a bioatividade dessas plantas está relacionada com substâncias produzidas pelo seu metabolismo secundário, variações de composição e bioatividade podem ser observadas de forma mais marcante entre amostras de diferentes lotes, visto que os padrões de síntese desses metabólitos secundários respondem a estímulos de fatores bióticos ou abióticos aos quais o vegetal esteja exposto (HELDT; PIECHULLA, 2011; ZHOU et al., 2017; SHARMA et al., 2019; LI et al., 2021).

A avaliação dos dados com o auxílio do teste de correlação de Pearson reforçou a influência que os flavonoides parecem ter sobre o potencial antioxidante dessas infusões de *P. niruri*. Essa influência mostrou-se mais marcante durante a avaliação das amostras de referência (RF, RR e RC). Observou-se, por exemplo, um elevado coeficiente de correlação de Pearson

positivo ($r = + 0,980485$, $p = 0,01304062$) entre os valores de TTFla e de PRT para essas infusões. De forma similar, foi possível observar um coeficiente de correlação de Pearson positivo de grandeza similar ($r = + 0,9813557$, $p = 0,0007898894$) pela comparação dos valores de TTFla com os valores associados à CA (medida por FRAP) das infusões originárias das amostras de referência. A comparação dos valores de TTFla com os valores de CA medidos pelos ensaios com DPPH ou ABTS geraram coeficientes de correlação (r) um pouco menores em módulo, mas ainda assim estatisticamente significativos para as amostras de referência. Comparando os dados de TTFla com os valores de $Cl_{50(DPPH)}$ obteve-se um $r = - 0,7208868$ ($p = 0,01414661$). No caso da comparação dos valores de TTFla com os valores de $Cl_{50(ABTS)}$, o coeficiente de correlação de Pearson foi de $- 0,7527099$ ($p = 0,01271333$). Isso indica que quanto maior é a concentração total de flavonoides da infusão, menor é seu valor de $Cl_{50(DPPH)}$ ou de $Cl_{50(ABTS)}$ e, portanto, maior é sua capacidade antioxidante. Coeficientes de correlação de Pearson menores, mas ainda estatisticamente significativos, indicaram contribuição semelhante do TTFla sobre a CA das infusões originárias das amostras comerciais: TTFla x PRT ($r = + 0,6233242$, $p = 0,01304062$); TTFla x FRAP ($r = + 0,7697683$, $p = 0,0007898894$); TTFla x $Cl_{50(DPPH)}$ ($r = - 0,6176444$, $p = 0,01414661$); TTFla x $Cl_{50(DPPH)}$ ($r = - 0,6250764$, $p = 0,01271333$).

5.5. PERFIL DA FRAÇÃO VOLÁTIL DAS INFUSÕES

Os compostos orgânicos voláteis presentes nas infusões originárias das amostras de *P. niruri* comerciais e de referência estão listados na Tabela 4. Considerando todas as infusões analisadas, foram identificados trinta e sete (37) compostos orgânicos voláteis. Esses compostos podem ser divididos em terpênicos (6) e não terpênicos (31). No grupo dos compostos terpênicos foram encontrados dois monoterpenos oxigenados, três sesquiterpenos oxigenados e um diterpeno oxigenado. Já no grupo dos compostos não terpênicos foram encontradas as seguintes classes químicas: ésteres (14 representantes), hidrocarbonetos (6), ácidos graxos (4), álcoois (4) e aldeídos (3). Nove desses compostos foram encontrados em todas as infusões (comerciais ou de referência):

2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato, tributil fosfato, α -pentilcinamaldeído, ácido tetradecanoico, 2-etil-hexil salicilato, octadecano, homossalato, 1-hexadecanol e ácido n-hexadecanoico. Desse grupo, os compostos orgânicos voláteis majoritários foram o 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato [concentração variando de $(0,72 \pm 0,07) \mu\text{g/mL}$ (CC) a $(3,29 \pm 1,00) \mu\text{g/mL}$ (RR)], o homossalato [$(0,42 \pm 0,26) \mu\text{g/mL}$ (RF) a $(1,73 \pm 1,14) \mu\text{g/mL}$ (CC)], o 2-etil-hexil salicilato [$(0,22 \pm 0,03) \mu\text{g/mL}$ (RC) a $(1,31 \pm 1,78) \mu\text{g/mL}$ (E)], o ácido n-hexadecanoico [$(0,20 \pm 0,35) \mu\text{g/mL}$ (NU) a $(1,58 \pm 0,33) \mu\text{g/mL}$ (CC)] e o α -pentilcinamaldeído [$(0,17 \pm 0,14) \mu\text{g/mL}$ (N) a $(0,33 \pm 0,02) \mu\text{g/mL}$ (CC)]. Apesar das diferenças numéricas entre esses valores de concentração, a avaliação estatística mostrou que as amostras não diferiram de forma significativa ($p > 0,05$) com relação a esse parâmetro. A presença desses nove compostos orgânicos voláteis e de alguns outros, comuns a várias das amostras comerciais e de referência (por exemplo: isopropil miristato, ácido pentadecanoico, eicosano, isopropil palmitato e manool), sugere razoável semelhança entre esses dois grupos (amostras comerciais e de referência), o que pode indicar um potencial uso desse perfil de compostos voláteis das infusões (obtido pela técnica de microextração em fase sólida) para avaliação da autenticidade das amostras comerciais dessa erva. Desse grupo de compostos voláteis comuns a várias das amostras comerciais e de referência, destacam-se o diterpeno oxigenado manool e o ácido pentadecanoico. O manool só não foi detectado nas infusões provenientes das raízes de referência (RR). Esse composto orgânico volátil é considerado o principal diterpeno de várias espécies de sálvia, estando presente em concentrações mais elevadas na *Salvia officinalis*. O manool induz relaxamento vascular, dependente do endotélio, na aorta de ratos. Esse processo é mediado pela via de sinalização NO/GMPc. Além disso, ele promove a redução da pressão arterial também pelo aumento plasmático de óxido nítrico. Esses efeitos em conjunto podem estar envolvidos na modulação da resistência periférica, contribuindo para o efeito anti-hipertensivo desse diterpeno (MONTEIRO et al., 2020). O ácido pentadecanoico só não foi encontrado nas infusões provenientes das amostras comerciais da marca P. Esse ácido graxo já

foi associado às seguintes propriedades bioativas: antioxidante, hipocolesterolêmica, nematicida, pesticida, anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica (PASARIBU et al., 2021).

O composto orgânico volátil 1-octadecanol só foi encontrado nas infusões provenientes das amostras comerciais; porém, ele foi encontrado nas amostras das cinco diferentes marcas analisadas. Por outro lado, o β -linalol, o etil-hexil benzoato, o pentadecanal, o 1-pentadecanol e a farnesil acetona só foram detectados nas infusões produzidas a partir das folhas das amostras de referência (RF). O β -Linalol possui limiar de odor em água de 6 $\mu\text{g/L}$ (SOUZA et al., 2019), sendo muito comumente classificado como um composto de odor ativo em várias plantas. Esse composto orgânico volátil possui aroma doce e agradável, lembrando frutas frescas, mamão e capim; possui propriedades anti-inflamatória, anti-hiperalgésica, antinociceptiva, acaricida, bactericida e fungicida (SOUZA et al., 2019; ARAÚJO et al., 2014; MARIANO et al., 2019). O oleato de metila só foi encontrado nas infusões dos caules de referência (RC), enquanto que os compostos voláteis decanal, 3-hidróxi-2,4,4-trimetilpentil-2-metilpropanoato e o globulol foram identificados somente nas infusões originárias das amostras de referência das raízes de *P. niruri* (RR). Alguns compostos orgânicos voláteis (cis-geranilacetona, heptadecano, metil elaidato) foram encontrados em todas as amostras de referência (RF, RC e RR), mas estavam ausentes das amostras comerciais. A cis-geranilacetona possui um limiar de odor em água de 60 $\mu\text{g/L}$ e seu odor já foi relacionado com notas de verde e de magnólia (ZHU et al., 2022). Esse composto volátil, associado a uma nota odorífera floral, parece ter um impacto significativo no aroma de frutas como uvas, maçãs, lichia e mangas (JUNG et al., 2022). Jung e colaboradores (2022) detectaram esse composto orgânico na fração volátil de todas as infusões de *Bauhinia forficata* L (comerciais ou de referência) avaliadas pelo emprego de técnicas analíticas semelhantes às técnicas utilizadas no presente estudo.

As diferenças de perfil descritas acima e outras pequenas diferenças observadas podem ser explicadas por vários fatores (Figura 6). Por exemplo, a composição dessas frações voláteis sofre grande influência das condições

ambientais as quais as plantas foram expostas durante seu desenvolvimento. A disponibilidade hídrica, a salinidade do solo, as condições climáticas, o período de colheita e a herbivoria, por exemplo, podem interferir no metabolismo secundário da planta, provocando variações nos perfis dessas frações voláteis. Alguns desses compostos voláteis, provenientes do metabolismo secundário da planta, exercem funções ecológicas e fisiológicas importantes como, por exemplo, ação atratora de polinizadores, participação em estratégias de proteção contra a herbivoria, formação de pigmentos fotossintéticos e ação hormonal (HELDT; PIECHULLA, 2011; ZHOU et al., 2017; LI et al., 2021). As condições de processamento e armazenamento dessas plantas também podem influenciar o perfil químico de suas infusões. Por exemplo, a temperatura e o tempo de secagem das plantas podem favorecer perdas diferenciais por volatilização e seu grau de fragmentação pode afetar o rendimento de extração durante a infusão, influenciando a composição química final desses produtos (AZIZ et al., 2018; KRAKOWSKA-SIEPRAWSKA et al., 2022). Por último, é importante destacar que a composição da fração volátil das infusões de ervas é influenciada pela parte da planta utilizada (folhas, caules, raízes e flores), refletindo funções ecológicas específicas e características bioquímicas de cada órgão vegetal. Portanto, ao preparar infusões, também é importante considerar a parte da planta escolhida, pois isso determinará em parte o perfil de compostos voláteis e, consequentemente, o aroma, sabor e potenciais propriedades terapêuticas dessas infusões (COUTO et al., 2013; ALADE et al., 2020).

1128

1129

Tabela 4 – Compostos orgânicos voláteis presentes no headspace das infusões de *P. niruri* (comerciais e de referência) analisadas.

Compostos	IK	IKL	CC (µg/mL)	P (µg/mL)	N (µg/mL)	E (µg/mL)	NU (µg/mL)	RF (µg/mL)	RC (µg/mL)	RR (µg/mL)
β-Linalol ^{MO}	1079	1079 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0,04±0,02	ND	ND
Decanal ^{Ald}	1179	1179 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,01±0,02
3-Hidróxi-2,4,4-trimetilpentil-2-metilpropanoato ^{Est}	1347	1365,2 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,01±0,01
cis-Geraniacetona ^{MO}	1425	1425 ^{PC}	ND	ND	ND	ND	ND	0,03±0,02	0,02±0,00	0,06±0,09
Espatuleno ^{SO}	1550	1572 ^N	ND	0,09±0,09	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ácido dodecanoico ^{AG}	1554	1554 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0,04±0,06	0,01±0,01	NI
2,2,4-Trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato ^{Est}	1577	1587,5 ^{PC}	0,72±0,07	3,00±0,96	2,30±1,27	1,51±0,67	1,63±0,88	2,19±1,81	3,06±1,05	3,29±1,00
Globulol ^{SO}	1598	1598 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,09±0,08
Hexadecano ^{Hid}	1598	1600 ^{Ph}	ND	ND	ND	ND	ND	0,10±0,16	0,03±0,04	NI
Tributil fosfato ^{Est}	1618	1619 ^N	0,12±0,02	0,08±0,09	0,08±0,06	0,09±0,08	0,09±0,02	0,17±0,04	0,14±0,02	0,13±0,03
1-Tetradecanol ^{Alc}	1659	1659 ^N	0,03±0,01	ND	ND	0,02±0,02	ND	0,03±0,05	0,02±0,03	ND
Etil-hexil benzoato ^{Est}	1679	1674 ^{PC}	ND	ND	ND	ND	ND	0,02±0,02	ND	ND
Pentadecanal ^{Ald}	1691	1690 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0,01±0,01	ND	ND
Heptadecano ^{Hid}	1698	1700 ^{Ph}	ND	ND	ND	ND	ND	0,05±0,06	0,04±0,04	0,03±0,01
α-Pentilcinamalaldeído ^{Ald}	1708	1672 ^N	0,33±0,02	0,18±0,07	0,17±0,14	0,28±0,06	0,32±0,08	0,24±0,04	0,18±0,03	0,20±0,01
Ácido tetradecanoico ^{AG}	1754	1752 ^N	0,15±0,14	0,04±0,04	0,02±0,04	0,18±0,09	0,11±0,11	0,33±0,30	0,13±0,22	0,08±0,06
2-Etil-hexil salicilato ^{Est}	1777	1769 ^N	0,66±0,44	0,45±0,46	0,47±0,43	1,31±1,78	0,28±0,15	0,19±0,10	0,22±0,03	0,25±0,13
1-Octadeceno ^{Hid}	1788	1788 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0,05±0,08	0,02±0,04	ND
1-Pentadecanol ^{Alc}	1794	1794 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0,02±0,03	ND	ND
Octadecano ^{Hid}	1798	1800 ^{Ph}	0,04±0,01	0,05±0,02	0,05±0,03	0,05±0,01	0,04±0,01	0,13±0,17	0,11±0,13	0,06±0,04
Isopropil miristato ^{Est}	1811	1812 ^N	0,04±0,02	0,03±0,02	0,01±0,01	ND	0,01±0,01	0,07±0,10	0,06±0,07	ND
Ácido pentadecanoico ^{AG}	1848	1848 ^N	0,01±0,02	NI	0,01±0,01	0,01±0,01	0,01±0,02	0,07±0,08	0,04±0,07	0,01±0,02
Homossalato ^{Est}	1855	1903,8 ^{PC}	1,73±1,14	1,32±1,56	1,48±1,35	0,62±0,57	0,92±0,78	0,42±0,26	0,55±0,14	0,45±0,42
1-Hexadecanol ^{Alc}	1862	1862 ^N	0,25±0,10	0,16±0,22	0,24±0,21	4,12±6,41	0,31±0,33	0,08±0,05	0,11±0,05	0,09±0,05
Farnesil acetona ^{SO}	1887	1886 ^{PC}	ND	ND	ND	ND	ND	0,03±0,01	ND	ND
Nonadecano ^{Hid}	1897	1900 ^{Ph}	ND	ND	0,01±0,02	ND	ND	0,04±0,04	0,04±0,06	0,01±0,01
Metil hexadecanoato ^{Est}	1908	1908 ^N	ND	0,02±0,02	0,07±0,07	ND	ND	0,46±0,64	0,28±0,42	0,07±0,12
Ácido n-hexadecanoico ^{AG}	1951	1951 ^N	1,58±0,33	0,39±0,68	0,26±0,35	0,72±0,85	0,20±0,35	1,37±0,54	0,41±0,45	0,57±0,43
Eicosano ^{Hid}	1997	2000 ^{Ph}	0,05±0,03	ND	0,03±0,03	0,05±0,02	ND	0,03±0,03	0,03±0,03	ND
Isopropil palmitato ^{Est}	2008	2011 ^{PC}	0,01±0,02	ND	0,01±0,01	0,01±0,01	ND	0,02±0,01	0,01±0,02	ND
Manool ^{OD}	2025	2055 ^{Ph}	0,11±0,04	0,12±0,09	0,07±0,07	0,08±0,07	0,10±0,09	0,16±0,07	0,10±0,01	ND
1-Otadecanol ^{Alc}	2063	2063 ^N	0,08±0,13	0,04±0,06	0,08±0,08	0,60±0,55	0,29±0,45	ND	ND	ND
Metil elaidato ^{Est}	2078	2082 ^{PC}	ND	ND	ND	ND	ND	0,52±0,80	0,38±0,65	0,067±0,10
Metil éster do ácido oleico ^{Est}	2082	2082 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0	0,01±0,02	ND
Metil estearato ^{Est}	2107	2107 ^N	ND	ND	ND	ND	ND	0,03±0,03	0,02±0,03	ND
Dodecil benzoato ^{Est}	2164	2163 ^{Ph}	ND	ND	0,01±0,02	ND	ND	ND	ND	ND
Tributil acetilcitrato ^{Est}	2218	2224 ^N	ND	0,01±0,02	ND	ND	0,02±0,04	0,01±0,02	0,01±0,02	ND

IK – índice de Kovats modificado (VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963); IKL – índice de Kovats da literatura; CC – amostras comerciais da marca 1; P – amostras comerciais da marca 2; N – amostras comerciais da marca 3; E – amostras comerciais da marca 4; NU – amostras comerciais da marca 5; RF – amostras de referência constituídas por folhas de *P. niruri*; RC – amostras de referência constituídas por caules (talos) de *P. niruri*; RR – amostras de referência constituídas por raízes de *P. niruri*; ND – não detectado; MO – Monoterpeno oxigenado; Ald – Aldeído; Est – Éster; SO – Sesquiterpeno oxigenado; AG – Ácido graxo; Hid – Hidrocarboneto; Alc – Álcool; DO – diterpeno oxigenado; fontes de obtenção dos valores de IKL: N – NIST; PC – PubChem; Ph – Pherobase.

1130

1131

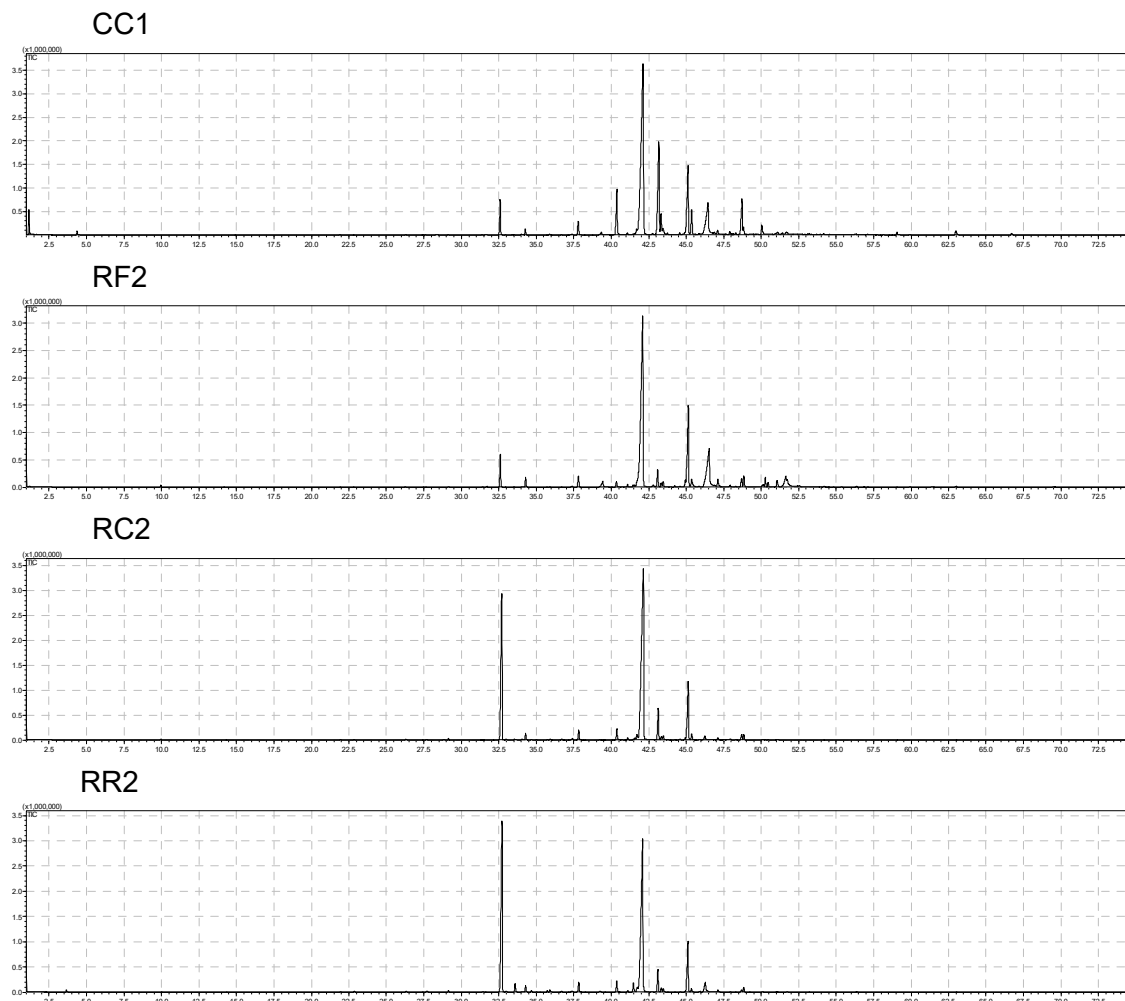


Figura 6 – Cromatogramas das frações voláteis das infusões de quebra-pedra. CC1 – amostra comercial do lote 1 da marca 1; RF2 – replicata 2 da amostra de referência constituída por folhas de *P. niruri*; RC2 – replicata 2 da amostra de referência constituída por caules (talos) de *P. niruri*; RR2 – replicata 2 da amostra de referência constituída por raízes de *P. niruri*.

1132

1133 6. CONCLUSÕES

1134 Esse estudo destaca-se por oferecer informações sobre o teor total de
1135 flavonoides e a capacidade antioxidante (PRT, $CI_{50(DPPH)}$, $CI_{50(ABTS)}$ e FRAP) de
1136 infusões de *P. niruri* preparadas em condições similares às condições
1137 normalmente utilizadas para a preparação de infusões caseiras. Dessa forma, os
1138 resultados apresentados indicam os teores totais de flavonoides e os potenciais
1139 antioxidantes que costumam ser efetivamente acessados pelos consumidores

dessa erva através da principal forma utilizada em seu consumo: a infusão. O TTFla médio das infusões analisadas (originárias de amostras de referência e comerciais) foi de $(11,77 \pm 6,35)$ mg ER/g de amostra seca. As infusões das amostras RC e RR apresentaram valores de TTFla inferiores ($p < 0,05$) aos observados nas infusões das amostras RF, NU e P. O PRT médio, considerando todas as amostras de *P. niruri* analisadas, foi de $(32,50 \pm 17,26)$ mg de EAG/g de amostra seca. Não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as infusões originárias das amostras estudadas (comerciais e de referência) com relação a esse parâmetro. O potencial antioxidante médio das infusões, expresso como $Cl_{50}(DPPH)$, foi de $(1182,29 \pm 758,78)$ μ g/mL. Só houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) com relação a esse parâmetro entre as amostras RF e N. O potencial antioxidante das infusões também foi avaliado pelo teste com o reagente ABTS, produzindo um $Cl_{50}(ABTS)$ médio de $(393,92 \pm 230,18)$ μ g/mL; não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre as diferentes infusões analisadas com relação a esse parâmetro. Com o ensaio FRAP, a capacidade antioxidante das infusões variou de $(238,00 \pm 75,98)$ μ M de Fe^{2+} /g de amostra seca a $(1780,74 \pm 244,17)$ μ M de Fe^{2+} /g de amostra seca, com as infusões produzidas a partir das folhas de referência (RF) apresentando valores estatisticamente superiores ($p < 0,05$) aos observados para todas as demais infusões avaliadas. Os flavonoides parecem ter expressiva influência sobre o potencial antioxidante dessas infusões de *P. niruri*, principalmente nas amostras de referência (RF, RR e RC).

O estudo também apresenta o primeiro conjunto de dados sobre o perfil de compostos orgânicos voláteis das infusões de *P. niruri*, com destaque para aqueles compostos que têm potencial para estarem associados com a primeira impressão odorífera relacionada a esse tipo de infusão, visto que foram isolados do *headspace* dessas bebidas. Foram identificados trinta e sete compostos orgânicos voláteis no conjunto de infusões analisadas. O grupo com o maior número de representantes foi o dos ésteres, seguido do grupo dos hidrocarbonetos e dos compostos terpênicos oxigenados. A presença de vários compostos em comum (2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol diisobutirato, tributil fosfato, α -pentilcinamaldeído, ácido tetradecanoico, 2-etil-hexil salicilato, octadecano,

homossalato, 1-hexadecanol, ácido n-hexadecanoico, isopropil miristato, ácido pentadecanoico, eicosano, isopropil palmitato e manool) entre as frações voláteis das infusões originárias das amostras de referência e comerciais sugere que as amostras comerciais são autênticas, ou seja, pertencem à espécie *Phyllanthus niruri*. As diferenças de perfil entre as frações voláteis das infusões analisadas podem ser explicadas pela influência das condições ambientais as quais as plantas foram expostas durante seu desenvolvimento, pelas variações nas condições de processamento e armazenamento dessas plantas e, também, pelas diferentes partes da planta que foram utilizadas para a produção das infusões.

7. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Sr. Sérgio Salvia Monteiro e à profa. Angélica Virginia Valois Montarroyos pela cessão das amostras *in natura* da erva *P. niruri* e ao prof. Luiz José Soares Pinto pela sua caracterização botânica. Os autores agradecem ao suporte financeiro da UNIRIO e das seguintes agências de fomento à pesquisa: CAPES, FAPERJ e CNPq.

8. REFERÊNCIAS

- Abi-Zaid IE, Riachi LG, De Maria CAB, Moreira RFA. Investigation of the volatile fraction of chamomile (*Matricaria recutita* L.) infusions prepared from Brazilian commercial sachets. Int Food Res J. 2015; 22(5): 2133–2140.
- Alade GO, Oladipo OT, Frank A, Ajibesin KK. Quality control of medicinal plants: establishing some pharmacopoeial standards for the leaf of *Phyllanthus niruri* L. Niger J Nat Prod Med. 2020; 24(1): 1-6.
- Albrecht I, Silva N, Carvalho F, Oda F, Santos A. Chemical variability of phenolic compounds in *Phyllanthus niruri*. Eclética Química. 2023; 48(3): 17-26.
- Amin Z, Abdulla M, AlshawshM, Qadir S. Assessment of In vitro antioxidant, antibacterial and immune activation potentials of aqueous and ethanol extracts of *Phyllanthus niruri*. J Sci Food Agric. 2012A; 92 (9): 1874-7.
- Amin ZA, Bilgen M, Alshawsh MA, Ali HM, Hadi AHA, Abdulla MA. Protective role of *Phyllanthus niruri* extract against thioacetamide-induced liver cirrhosis in rat model. Evid Based Complement Alternat Med. 2012B, 2012:241583.
- Araujo MC, Pinheiro MCO, Teixeira IEA-Z, Riachi LG, Rocha CB, De Maria CAB, Moreira RFA. Volatile and semi-volatile composition of the ripe Brazilian couroupita guianensis fruit. The Nat Prod J. 2014; 4(4): 280-289.
- Aziz ZAA, Ahmad A, Setapar SHM, Karakucuk A, Azim MM, Lokhat D, Rafatullah M, Ganash M, Kamal MA, Ashraf GM. Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - a review. Curr Drug Metab. 2018; 19(13): 1100-1110. doi: 10.2174/1389200219666180723144850.

- 1219 - Barros F, Albuquerque I. Substâncias e medicamentos abortivos utilizados por
1220 adolescentes em unidade secundária de saúde. Rev Bras Promoç Saúde. 2005;
1221 8(4): 177-184.
1222
- 1223 - Baskaran M, Periyasamy L, Rajagopalan R. Effect of *Phyllanthus niruri* on alcohol
1224 and polyunsaturated fatty acid induced oxidative stress in liver. Int J Pharm Pharm
1225 Sci. 2010; 2: 58-62.
1226
- 1227 - Beidokhti M, Andersen M, Eid H, Villavicencio M, Staerk D, Haddad P, Jager A.
1228 Investigation of antidiabetic potential of *Phyllanthus niruri* L. using assays for a-
1229 glucosidase, muscle glucose transport, liver glucose production, and adipogenesis.
1230 J. Elsevier. 2017; 493(1): 869-874.
1231
- 1232 - Bernstein N, Akram M, Daniyal M, Koltai H, Fridlender M, Gorelick J.
1233 Antiinflammatory potential of medicinal plants: a source for therapeutic secondary
1234 metabolites. Rev Elsevier. 2018; 150: 131-184.
1235
- 1236 - Bezerra W, Silva M, Bezerra A, Bezerra K, Vieira A, Pereira D, Borges M. O uso
1237 de fitoterapia com ação anti-inflamatória que atuam no sistema geniturinário. Rev
1238 gvaa. 2014; 8(1): 24-36.
1239
- 1240 - Bhattacharyya S, Ghosh S, Sil P. Amelioration of aspirin induced oxidative
1241 impairment and apoptotic cell death by a novel antioxidant protein molecule
1242 isolated from the herb *Phyllanthus niruri*. Journal Plos One. 2014; 9 (2): 1-17.
1243
- 1244 - Boim M, Heilberg I, Schor N. *Phyllanthus niruri* as a promising alternative
1245 treatment for nephrolithiasis. Int Braz J Urol. 2010; 36(6): 657-664.
1246
- 1247 - Braga L. Estudo da variação metabolômica de espécies de *phyllanthus* spp
1248 submetidas a déficit hídrico. (Trabalho de conclusão de curso, curso de graduação
1249 em Agronomia, Universidade Federal do Ceará), 2018.

- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 519, de 26 de junho de 1998. Dispõe sobre o controle sanitário de água potável. Diário Oficial da União. 30 jun 1998; (Seção 1): 23.
- Bravo S, Alonso J, Pozuelo G, Gomez V, Santaella M, Gonzales I, Periago M. The influence of post-harvest UV-C hormesis on lycopene, β -carotene, and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes. Food Research International. 2012; 49(1): 113-122.
- Carvalho ACB, Branco PF, Fernandes LA, Marques RFO. Regulação Brasileira em Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Rev Fitos. 2012; 7(1): 5–16.
- Couto AG, Kunzler ML, Spaniol B, Magalhães PM, Ortega GG, Petrovick PR. Chemical and technological evaluation of the *Phyllanthus niruri* aerial parts as a function of cultivation and harvesting conditions. Rev Bras Farmacogn. 2013; 23(1): 36-43.
- Fatema A, Kumbhare S, Khapekar R. Phytochemical screening and medicinal potential of *Phyllanthus niruri*. International Journal of Advanced Scientific Research and Management. 2019; 4(5): 148-154.
- Ferrante C, Chiavaroli A, Angelini P, Venanzoni R, Flores G, Brunetti L, Petrucci M, Politi M, Menghini L, Leone S, Recinella L, Zengin G, Ak G, Mascio M, Bacchin F, Orlando G. Phenolic content and antimicrobial and anti-inflammatory effects of *Solidago virga-aurea*, *Phyllanthus niruri*, *Epilobium angustifolium*, *Peumus boldus*, and *Ononis spinosa* extracts. Antibiotics. 2020; 1-21.
- Gami B, Kothari I. Antioxidant & antimicrobial activity of *in vivo* and *in vitro* grown plants of *Phyllanthus niruri* L. Int J Pharm Bio Sci. 2011; 2(2): 78-89.

- González-Gallego J, García-Mediavilla M, Sánchez-Campos S, Tuñón M. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *British Journal of Nutrition*. 2010; 3: 15-27.
- Govindarajan R, Rastogi S, Vijaykumar M, Shirwaikar A, Rawat AKS, Mehrotra S, Pushpangadan P. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gangeticum*. *Biol Pharm Bull*. 2003; 26(10): 1424–7.
- Harish R, Shivanandappa, T. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. *Food Chem*. 2006; 95(2): 180–185, doi: 10.1016/j.foodchem.2004.11.049.
- Hassim N, Markom M, Rosli M, Harun S. Scale-up approach for supercritical fluid extraction with ethanol–water modified carbon dioxide on *Phyllanthus niruri* for safe enriched herbal extracts. *Scientific Reports*. 2021; 1-19.
- Heldt HW, Piechulla B. *Plant Biochemistry*. 4. ed. Amsterdam: Elsevier, 2011.
- Hong M, Li S, Tan HY, Wang N, Tsao SW, Feng Y. Current status of herbal medicines in chronic liver disease therapy: the biological effects, molecular target and future prospects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16(12): 28705- 28745.
- Ishihara M, Sakagami H. Application of semiempirical method to estimate the cytotoxic activity of gallic acid and its related compounds. *Anticancer Res*. 2003; 23(3B): 2549-2552.
- Jamshidi M, Barzegar M, Sahari M. Effect of gamma and microwave irradiation on antioxidant and antimicrobial activities of *Nhamomum zeylanicum* and *Echinacea purpurea*. *Inter Food Res J*. 2014; 21(4): 1289–1296.

- Jung EP, De Freitas BP, Kunigami CN, Moreira DL, De Figueiredo NG, Ribeiro LO, Moreira RFA. *Bauhinia forticata* Link infusions: chemical and bioactivity of volatile and non-volatile fractions molecules. *Molecules*. 2022; 27(17): 5415, doi: 10.3390/molecules27175415
- Júnior R, Soares L, Porto C, Aquino R, Guedes H, Petrovick P, Souza T, Araújo A, Guerra G. Growth inhibitory effects of *Phyllanthus niruri* extracts in combination with cisplatin on cancer cell lines. *World J Gastroenterol*. 2012; 8(31): 4162-4168.
- Krakowska-Sieprawska A, Kielbasa A, Rafińska K, Ligor M, Buszewski B. Modern methods of pre-treatment of plant material for the extraction of bioactive compounds. *Molecules*. 2022; 27(3): 730.
- Kumar SR, Chozhan K, Murugesh KA. Determination of bioactive compounds in the leaf extract of *Phyllanthus niruri*, *Emblica officinalis* and *Psoralea corylifolia*. *J Ayurvedic Herb Med*. 2022; 8(1): 11-13.
- Kumar S, Sharma S, Sharma S, Singh S, Singh R, Singh P, Singh R. Phytochemical and pharmacological properties of *Phyllanthus niruri*: a review. *Pharmacogn Rev*. 2017; 11(21): 1-9.
- Li J, Hu H, Chen Y, Xie J, Li J, Zeng T, Wang M, Luo J, Zheng R, Jongsma MA, Wang C. Tissue specificity of (E)- β -farnesene and germacrene D accumulation in pyrethrum flowers. *Phytochem*. 2021; 187:112768, doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112768.
- Liheluka E, Gibore NS, Lusingu JPA, Gesase S, Minja DTR, Lamshoft M, Dekker D, Bali T. Community perceptions on the effectiveness of herbal medicines and factors associated with their use in managing diarrhoea among under-five children in North-eastern Tanzania. *Trop Med Health*. 2023; 51: 48 (2023).

- 1343 - Lorenzi H, Matos F. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova
1344 Odessa: Instituto Plantarum, 2012.
- 1345
- 1346 - Luliana S, Desnita R, Martien R, Nurrochmad A. Total flavonoid contents and *in*
1347 *silico* study of flavonoid compounds from Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) towards
1348 alpha-amylase and alpha-glucosidase enzyme. *Pharmaciana*. 2019; 9(1): 1-10.
- 1349
- 1350 - Mamta S, Sunil G. Qualitative phytochemical screening and identification of
1351 phytoconstituents from *Phyllanthus niruri* L. by GC-MS. *Research Jornal of*
1352 *Pharmacy and Technology*. 2020; 13(8): 3618-3622.
- 1353
- 1354 - Mariano XM, Souza W F M, Rocha CB, Moreira RFA. Bioactive volatile fraction of
1355 Chilean boldo (*Peumus boldus* Molina) – an overview. *J Essent Oil Res*. 2019;
1356 31(6): 474–486.
- 1357
- 1358 - Marques L. *Phyllanthus niruri* (Quebra-Pedra) no tratamento de urolitíase:
1359 propostade documentação para registro simplificado como fitoterápico. *Rev Fitos*.
1360 2010; 5(3): 20-33.
- 1361
- 1362 - Marques TS, Moreira RFA, Ayres EMM. Characterization of the essential oils
1363 from leaves of different sweet potato cultivars grown in Brazil. *S Afr J Bot*. 2022;
1364 144: 18–22.
- 1365
- 1366 - Martins ER, Lima LR. Sinopse do gênero *Phyllanthus* L. (Phyllanthaceae) do
1367 Estado de São Paulo. *Hoehnea*. 2011; 38(1): 123-133.
- 1368
- 1369 - Mediani A, Abas F, Alfi Khatib A, Tan C, Ismail I, Shaari K, Ismail A, Lajis N.
1370 Relationship between metabolites composition and biological activities of
1371 *Phyllanthus niruri* extracts prepared by different drying methods and solvents
1372 extraction. *Plant Foods Hum Nutr*. 2015; 70: 184–192.
- 1373

1374 - Mehta M, Gupta S, Duseja A, Goyal S. Phytochemical and antioxidants profiling of
 1375 *Phyllanthus niruri*: a hepatoprotective plant. World J Pharm Pharm Sci. 2019; 8(8):
 1376 1117-1127.

1377

1378 - Monteiro ASN, Campos DR, Albuquerque AAS, Evora PRB, Ferreira LG, Celotto
 1379 AC. Efeito do diterpeno manool sobre a pressão arterial e reatividade vascular em
 1380 ratos normotensos e hipertensos. Arq Bras Cardiol. 2020; 115(4):669-677.

1381

1382 - Moreira J, Klein-Junior LC, Filho VC, Buzzi FC. Anti-hyperalgesic activity of
 1383 corilagin, a tannin isolated from *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). Journal of
 1384 ethnopharmacology. 2013; 146(1): 318-323.

1385

1386 - Murugesan S, Kottekad S, Crasta I, Sreevathsan S, Usharani D, Perumal M,
 1387 Mudliar S. Targeting COVID-19 (SARS-CoV-2) main protease through active
 1388 phytocompounds of ayurvedic medicinal plants – *Embllica officinalis* (Amla),
 1389 *Phyllanthus niruri* Linn. (Bhumi Amla) and *Tinospora cordifolia* (Giloy) – a
 1390 molecular docking and simulation study. J Elsevier. 2021; 136: 1-13.

1391

1392 - Narayan D, Saxena S, Anand V, Tripathi J, Salunkhe C, Gautam S. (2021).
 1393 Enhancement in differentially observed functional bioactivities in *Phyllanthus niruri*
 1394 plant parts upon radiation hygeinization. J. Elsevier. 2021; 189: 1-7.

1395

1396 - Navarro M, Moreira I, Arnaez E, Quesada S, Azofeifa G, Alvarado D, Monagas
 1397 MJ. Proanthocyanidin characterization, antioxidant and cytotoxic activities of three
 1398 plants commonly used in traditional medicine in Costa Rica: *Petiveria alliaceae* L.,
 1399 *Phyllanthus niruri* L. and *Senna reticulata* Willd. Plants (Basel). 2017; 6(4): E50,
 1400 doi: 10.3390/plants6040050

1401

1402 - Neves LC, de Alencar SM, Carpes ST. Determinação da atividade antioxidante e
 1403 do teor de compostos fenólicos e flavonoides totais em amostras de pólen apícola
 1404 de *Apis mellifera*. Braz J Food Technol. 2009; 7: 107–110.

- Nguang SL, Yeong YL, Pang SF, Gimbun J. Ultrasonic assisted extraction on phenolic and flavonoid content from *Phyllanthus niruri* plant. Indian Journal of Science and Technology. 2017; 10(2): 1-5, doi: 10.17485/ijst/2017/v10i2/110391
- Oliveira DA, Rocha CB, Moreira RFA. Evaluation of the essential oils and teas produced from the Bahia and Pará cocoa almond husks. Sci Plena. 2023; 19(1): 011502, doi: 10.14808/sci.plena.2023.011502.
- Omurugesan K. A comparison between the modern hydrodistillation technique and microwave extractor in extracting lignans from *Phyllanthus niruri*. (Trabalho de conclusão de curso, Faculty of Chemical Engineering and Natural Resources, Universiti of Malaysia – Pahang, 2012.
- Pasaribu T, Sinurat A, Wina E, Cahyaningsih T. Evaluation of the phytochemical content, antimicrobial and antioxidant activity of *Cocos nucifera* liquid smoke, *Garcinia mangostana* pericarp, *Syzygium aromaticum* leaf, and *Phyllanthus niruri* L. extracts. Vet World. 2021; 14(11): 3048-3055.
- Patel J.R., Tripathi P., Sharma V., Chauhan N.S., Dixit V.K. *Phyllanthus amarus*: Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology: A review. J. Ethnopharmacol. 2011;138:286–313. doi: 10.1016/j.jep.2011.09.040.
- Paula V, Cruz, L, Sene L, Gratoão T, Soares T, Moraes-Souza R, Damasceno D. Volpato G. Maternal-fetal repercussions of *Phyllanthus niruri* L. treatment during rat pregnancy. Journal of Ethnopharmacology. 2020; 254: 1-32.
- Pinmai K, Chunlaratthanabhorn S, Ngamkitidechakul C, Soonthornchareon N, Hahnvajanawong C. Synergistic growth inhibitory effects of *Phyllanthus emblica* and *Terminalia bellerica* extracts with conventional cytotoxic agents: doxorubicin and cisplatin against human hepatocellular carcinoma and lung cancer cells. World

1436 J Gastroenterol. 2008; 14: 1491-1497.

1437

1438 - Potters G, Horemans N, Jansen M. The cellular redox state in plant stress biology

1439 - a charging concept. Plant Physiology and Biochemistry. 2010; 48(5): 292-300.

1440

1441 - Rosario A, Almeida S. Análise fitoquímica da espécie *Phyllanthus niruri* L.

1442 (quebra-pedra). Est Cient (UNIFAP). 2016; 6 (1): 35-41.

1443

1444 - Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J,

1445 Saura-Calixto FD. 2020. Metodologia científica: determinação da atividade

1446 antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺. Comunicado

1447 Técnico, 128. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Embrapa

1448 Agroindústria Tropical. 1ª edição on line; 2007.

1449

1450 - Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J,

1451 Saura-Calixto FD. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante

1452 total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Comunicado Técnico,

1453 125. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Embrapa Agroindústria

1454 Tropical. 1ª edição on line; 2006.

1455

1456 - Rusmana D, Wahyudianingsih R, Elisabeth M, Balqis M, Widowati¹ W.

1457 Antioxidant activity of *Phyllanthus niruri* extract, rutin and quercetin. Indones Biomed J.

1458 2017; 9(2): 84-90.

1459

1460 - Sharma A, Shahzad B, Rehman A, Bhardwaj R, Landi M, Zheng B. Response of

1461 phenylpropanoid pathway and the role of polyphenols in plants under abiotic

1462 stress. Molecules. 2019; 24(13):2452, doi: 10.3390/molecules24132452

1463

1464 - Sharma P, Parmar J, Verma P, Goyal P. Modulatory influence of *Phyllanthus*

1465 *niruri* on oxidative stress, antioxidant defense, and chemically induced skin tumors.

1466 J Environ Pathol Tox Onc. 2011; 30: 15-27.

1467

1468 - Souza GMK, Resende JH, Feitosa E, Bezerra AL, Carvalho EB, Catanho MTJA.
 1469 Influência de *Phyllanthus niruri* na determinação dos hormônios tireoidianos em
 1470 ratas prenhes. Trabalho apresentado no XVI Latino-americano Congress of
 1471 Pharmacology, Água de Lindoia, SP, 2000.

1472

1473 - Souza S, Setiorini F, Suprpto H. Efektifitas ekstrak tanaman meniran
 1474 (*Phyllanthus niruri*) sebagai antibakteri edwardsiella tarda secara *in vitro*. J Ilm
 1475 Perikan dan Kelaut. 2011; 3(1): 103-108.

1476

1477 - Souza WFM, Mariano XM, Isnard JL, de Souza GS, Gomes ALS, Carvalho RJT,
 1478 Rocha CB, Junior CLS, Moreira RFA. Evaluation of the volatile composition,
 1479 toxicological and antioxidant potentials of the essential oils and teas of commercial
 1480 Chilean boldo samples. Food Res Int. 2019; 124: 27–33.

1481

1482 - Sudarno S, Setiorini F, Suprpto H. Efektifitas Ekstrak Tanaman Meniran
 1483 (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antibakteri Edwardsiella tarda Secara *in vitro*. J Ilm
 1484 Perikan dan Kelaut. 2011; 3(1): 103-108.

1485

1486 - Teixeira IEA-Z, Rocha CB, Heiden G, Moreira RFA. Evaluation of the essential oil
 1487 and tea produced from Baccharis myriocephala leaves, J Essent Oil Res. 2024;
 1488 36:1-7.

1489

1490 - Van Den Dool H, Kratz D. A generalization of the retention index system including
 1491 linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J
 1492 Chromatogr. 1963; 11: 463-467.

1493

1494 - Zhou W, Kügler A, McGale E, Haverkamp A, Knaden M, Guo H, Beran F, Yon F,
 1495 Li R, Lackus N, Köllner TG, Bing J, Schuman MC, Hansson BS, Kessler D,
 1496 Baldwin IT, Xu S. Tissue-Specific emission of (E)- α -bergamotene helps resolve the
 1497 dilemma when pollinators are also herbivores. Curr Biol. 2017; 27(9):1336-1341.

1498 doi: 10.1016/j.cub.2017.03.017.

1499

1500 - Zhu W, Fang X, Wang W, Xu W, Chen W, Wu S, Huang Y, Wang S. Aroma
1501 effects of critical volatile compounds during thermophilic bacteria pile-fermentation
1502 in dark tea using gas chromatography mass spectrometry and odor activity value.
1503 Food Sci. Technol. 2022; 42: e87022.

1504

1505 - Zielińska D, Szawara-Nowak D, Zieliński H. Determination of the antioxidant
1506 activity of rutin and its contribution to the antioxidant capacity of diversified
1507 buckwheat origin material by updated analytical strategies. Polish J Food Nutr Sci.
1508 2010; 60: 315-321.

1509