

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

NAIMY FERNANDA MACHADO CORREA DOS SANTOS

**EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE FLOR DE *Clitoria
ternatea***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**LONDRINA
2022**

NAIMY FERNANDA MACHADO CORREA DOS SANTOS

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE FLOR DE *Clitoria ternatea*

Extraction of bioactive compounds from *Clitoria ternatea* flower

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos do Curso Superior em Tecnologia em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR campus Londrina.

Orientador: Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai

Coorientadora: Profa. Dra. Caroline Maria Calliari

LONDRINA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

NAIMY FERNANDA MACHADO CORREA DOS SANTOS

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE FLOR DE *Clitoria ternatea*

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 23 de novembro de 2022.

Marianne Ayumi Shirai - Orientadora
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Ana Flávia de Oliveira – Membro avaliador
Doutorado em Nutrição pela Universidade Federal de São Paulo
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Marly Sayuri Katsuda – Membro avaliador
Doutorado em Ciência de Alimentos pela Universidade Estadual de Londrina
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LONDRINA

2022

Este trabalho de conclusão de curso é dedicado à minha família e amigos, por acreditarem em mim e me apoiarem durante minha graduação.

AGRADECIMENTOS

Ao longo desta trajetória os desafios foram grandes, por isso, agradeço primeiramente a Deus por ter me permitido, ter saúde para apresentar este trabalho em tempos tão difíceis como os atuais, ter guiado meus passos me dando sabedoria para chegar até aqui.

Agradeço a minha família, em especial a minha mãe Gisele, pois, sem ela seria impossível chegar até aqui, obrigada pelo esforço para me manter na faculdade e pelas lutas diárias que vencemos ao longo desta trajetória.

Aos meus amigos que estiveram do meu lado durante todo esse período me incentivando e sempre me mantendo no caminho, minha sincera gratidão, levarei vocês para a vida.

Agradeço a minha excelente orientadora, Dra. Marianne Ayumi Shirai, por sua paciência, gentileza e sabedoria que foram dedicadas a mim durante a construção deste trabalho.

Agradeço ao Laboratório Multiusuário do campus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

E os demais professores, mestres e colegas de sala que passaram por mim durante este período, contribuindo para minha formação acadêmica e me transmitindo, além de conhecimento, lições que irei carregar para o resto da vida.

A competitividade de um país não começa
nas indústrias ou nos laboratórios de
engenharia. Ela começa na sala de aula.
(LACOCCA, 2019)

RESUMO

A flor de feijão borboleta (*Clitoria ternatea*) é considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC), sendo utilizada no preparo de chás e diferentes alimentos na Ásia. Estudos têm demonstrado que a flor de feijão borboleta possui considerável concentração de compostos bioativos benéficos à saúde humana, mostrando-se como um potencial ingrediente para a indústria de alimentos. O objetivo deste trabalho foi extrair os compostos bioativos da flor de feijão borboleta. Para isso, empregou-se um planejamento fatorial 2^3 , com repetição no ponto central, para avaliar o efeito da concentração de etanol (0 a 80%), tempo (30 a 90 minutos) e temperatura (40 a 80°C) de extração na concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, determinados pelos métodos de redução do ferro (FRAP) e captura dos radicais livres DPPH e ABTS. Os resultados indicaram que água destilada a 40°C por 30 minutos foi a melhor condição para extração de compostos fenólicos. Além disso, o modelo matemático gerado possuiu bom ajuste ($R^2=0,92$). Os extratos obtidos apresentaram expressiva atividade antioxidante pelos métodos avaliados, sendo este fato associado à presença de compostos fenólicos. Com este trabalho foi possível detectar que a flor de feijão borboleta possui grande potencial para ser aplicado na indústria alimentícia com diversas propriedades benéficas para os consumidores.

Palavras-chave: PANC; antioxidante; antocianinas; compostos fenólicos.

ABSTRACT

The butterfly bean flower (*Clitoria ternatea*) is considered an unconventional food plant (PANC), being used in the preparation of teas and different foods in Asia. Studies have shown that the butterfly bean flower has a considerable concentration of bioactive compounds beneficial to human health, showing itself as a potential ingredient for the food industry. The objective of this work was to extract the bioactive compounds from the butterfly bean flower. For this, a 2^3 factorial design was used, with repetition at the central point, to evaluate the effect of ethanol concentration (0 to 80%), time (30 to 90 minutes), and temperature (40 to 80°C) of extraction in the concentration of total phenolic compounds and antioxidant activity, determined by the methods of iron reduction (FRAP) and capture of free radicals DPPH and ABTS. The results indicated that distilled water at 40°C for 30 minutes was the best condition for the extraction of phenolic compounds. In addition, the generated mathematical model had a good fit ($R^2=0.92$). The extracts obtained showed significant antioxidant activity by the methods evaluated, which is associated with the presence of phenolic compounds. With this work, it was possible to conclude that the butterfly bean flower has great potential to be applied in the food industry with several beneficial properties for consumers.

Keywords: Unconventional food plant; antioxidant; anthocyanins; phenolic compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Flor de feijão borboleta.....	13
Figura 2 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e tempo na concentração de compostos fenólicos totais.....	21
Figura 3 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e temperatura na concentração de compostos fenólicos totais.....	21
Figura 4 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e tempo na atividade antioxidante DPPH.....	23
Figura 5 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e temperatura na atividade antioxidante DPPH.....	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Planejamento fatorial para extração de compostos bioativos de flor de FB.....	17
Tabela 2 – Respostas da concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extrato de flor de FB.....	19
Tabela 3 – Coeficientes de regressão e análise de variância.....	19

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVO	12
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	12
3 FLOR DE <i>Clitoria ternatea</i>	13
3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS DA FLOR DE <i>Clitoria ternatea</i>	14
3.2 APLICAÇÃO DA <i>Clitoria ternatea</i> EM ALIMENTOS.....	15
4 MATERIAIS E MÉTODOS	16
4.1 MATERIAL.....	16
4.2 MÉTODOS.....	16
4.2.1 Extração dos compostos bioativos.....	16
4.2.2 Teor de compostos fenólicos.....	17
4.2.3 Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP).....	17
4.2.4 Capacidade antioxidante pela captura do radical livre DPPH.....	18
4.2.5 Capacidade antioxidante pela captura do radical livre ABTS.....	18
4.3. TRATAMENTO DOS DADOS.....	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
6 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Além dos fins medicinais, culturais, aproveitamento para tecnologias e combustão, os seres humanos também consomem plantas para fins alimentícios (ABREU *et al.*, 2001). Dentro do variado espectro de alimentos disponíveis para os seres humanos há as plantas alimentícias não convencionais (PANC), que são as que não são produzidas ou consumidas em larga escala, podendo ser cultivadas ou silvestres, nativas ou exóticas, espontâneas ou não, desde que passíveis de uso enquanto alimento (KINUPP; LORENZI, 2014).

No Brasil, pequenos agricultores consideravam diversas PANC prejudiciais às suas plantações, porém, com a habitualidade de uso, atualmente elas tornaram-se parte da vegetação nativa onde os pequenos agricultores as cultivam sem necessidade de insumos e apropriação e preparo de novas terras, por se desenvolverem em ambientes naturais (BARREIRA *et al.*, 2015).

As PANC têm sido bastante empregadas na dieta alimentar e como fonte alternativa de renda para comunidades rurais, fomentando a economia local e nutrindo comunidades periféricas, fortalecendo a soberania alimentar (BARREIRA *et al.*, 2015). Seu consumo pode ser estratégico para a manutenção da diversidade alimentar, com baixo impacto na agricultura e melhoria na nutrição por conta de seu valor nutricional elevado (RANIERI; ZANIRATO, 2021).

A utilização das PANC faz parte da história da agricultura no Brasil, porém ainda há poucas informações sobre o verdadeiro potencial desse recurso alimentar, informação ainda desconhecida por uma parcela significativa da população. As PANC estão sendo alvo de estudo por possuir compostos bioativos considerados benéficos à saúde (LEAL *et al.*, 2020).

Dentre as PANC, destaca-se a *Clitoria ternatea*, comumente conhecida no Brasil como feijão borboleta ou cunhã e cultivada em regiões de climas subtropical e tropical (SELVARA; VINAYAGAM; VARADAVENKATESAN, 2020). O feijão borboleta pertence à família Fabaceae e possui flores em formato de concha e com coloração azul e branca que através de análises quantitativas constatou-se a presença de compostos bioativos como alcalóides, taninos, glicosídeos, resinas, esteróides, saponinas, flavonóides e fenóis (MANJULA *et al.*, 2013). As pétalas da flor de feijão borboleta se destaca pela intensa coloração azul em razão da presença de

antocianinas, como as ternatinas A1, A2, B1, B2, D1 e D2 (CHAYARATANASIN *et al.*, 2015).

Considerando que a flor de feijão borboleta é muito utilizada no preparo de chás por infusão em água quente e que o seu extrato aquoso possui considerável concentração de compostos bioativos com potencial aplicação em alimentos, este projeto estudou diferentes condições para maximizar a extração de seus compostos bioativos.

2 OBJETIVO

Otimizar o processo de extração de compostos bioativos da flor de feijão borboleta (*Clitoria ternatea*).

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar diferentes concentrações de etanol, temperatura e tempo de extração de compostos bioativos da flor de feijão borboleta;
- Analisar a concentração de compostos fenólicos totais nos extratos obtidos;
- Determinar a capacidade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP dos extratos obtidos.

3. FLOR DE *Clitoria Ternatea*

O feijão borboleta (*Clitoria ternatea*) é comumente conhecido como planta trepadeira, encontrada na região sudeste da Ásia e pertence à família *Fabaceae* (ZAKARIA *et al.*, 2018). Visualmente as flores desta PANC variam entre as cores azul-escuro, azul-claro, branco e malva (Figura 1), podendo ser usada como corante natural na preparação de alimentos à base de água, como arroz, macarrão e pão; nas carnes brancas como o frango e o peixe empanado e nas confecções de drinks e chás (MUHAMMAD; RABETA, 2018).

Figura 1 - Flor de feijão borboleta



Fonte: Reckziegel (2020).

Esteticamente as folhas da *Clitoria ternatea* são pinadas, com pínulas que podem ser elípticas ou oblongas com comprimento e largura variando entre 2,5 a 5,0 centímetros e 2,0 a 3,2 centímetros. Elas possuem vagens de sementes com bico plano e com comprimento de 5 a 7 centímetros. A semente tem forma oval e apresenta cor marrom-escuro, com comprimento variando entre 4,5 a 7,0 milímetros e com 3 a 4 milímetros de largura. A raiz principal da planta possui muitas raízes laterais (KOSAI, *et al.*, 2015).

A flor de feijão borboleta (FB) é rica em compostos fenólicos como os flavonoides, com destaque para as antocianinas (MORAIS, 2020). O feijão borboleta, especialmente na Ásia, é uma planta conhecida por suas propriedades biológicas, possuindo efeito antidepressivo, ansiolítico, anti-inflamatório, antioxidante, antienvelhecimento, antidiabético, ansiolítico e antiestresse e ainda é considerado um

corante natural. Entende-se que o FB possui vários benefícios não só para o ser humano, mas também é uma planta com ótimo potencial para a indústria de alimentos.

3.1 COMPOSTOS BIOATIVOS DA FLOR DE *Clitoria Ternatea*

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário vegetal que possuem um ou mais anéis aromáticos em sua estrutura, o que lhes permite atuar como agentes redutores (ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019). Estes compostos possuem ação antioxidante pelo mecanismo primário, quando há a neutralização da cadeia de radicais cedendo hidrogênio ao radical livre, e assumindo a forma de radical estável (REISCHE; LILLARD; EITENMILLER, 2002). Todavia, a eficácia da ação oxidante depende da concentração do composto no alimento e da estrutura química (BOMFIM *et al.*, 2017).

As antocianinas, por exemplo, são compostos bioativos com propriedades antioxidantes, antimicrobianos, antidiabéticos e anticancerígenos. De acordo com Khoo *et al.* (2016) elas são usadas como alimento funcional e aditivo alimentar. As antocianinas são pigmentos solúveis em água, que estruturalmente são formados por glicosídeos e possuem um espectro de cor variando entre violeta, vermelho e azul, dependendo do grau de hidroxilação, padrão de glicosilação, padrão de metilação dos anéis aromáticos e do pH (ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019). Nas flores de FB as antocianinas predominantes são as ternatinas A1, A2, B1, B2, D1 e D2, de coloração azul (CHAYARATANASIN *et al.*, 2015).

Existem também outros compostos presentes no chá de FB que são solúveis e indispensáveis para sabor e aroma do chá, possuindo também proteínas, flavonóides como campferol e glicosídeos de miricetina, ácidos graxos (palmítico, esteárico, petroselinicos, araquídico, beênico e fitânico), fitosteróis como campesterol, estigmasterol, β -sitosterol e sitostanol, tocois polissacarídeos, vitaminas e sais minerais (AZIMA; NORIHAM; MANSHOOR, 2017; KAZUMA *et al.*, 2003).

Em razão da significativa concentração de compostos bioativos, as flores de FB podem ser empregadas como fontes naturais de antioxidantes, corantes e como suplemento na indústria de alimentos e farmacêutica (JEYARAJ; LIM; CHOO, 2021). Para a extração de compostos fenólicos de plantas, os métodos são variados,

principalmente devido à natureza complexa da matriz e, também pela presença de flavonoides com diferentes formas.

Para alcançar a alta eficiência do processo de extração deve-se atentar ao tipo de solvente, a proporção de sólido e líquido, temperatura de extração, tempo de extração e tempo de agitação podem afetar o rendimento de extração de compostos bioativos das flores de FB (NGUYEN *et al.*, 2016, ROCHA *et al.*, 2020). Quando se considera a aplicação do extrato em alimentos, solventes orgânicos potencialmente tóxicos devem ser evitados (KHOO *et al.*, 2017; CHEMAT *et al.*, 2019)

Entre os solventes comumente utilizados, na literatura, a extração de fenólicos se dá com o uso de etanol, metanol, acetona ou a mistura destes com água, mas para aplicação em alimentos, pelo caráter digestivo, os fenólicos são preferencialmente extraídos com etanol e água por serem considerados biocompatíveis e mais econômicos do que os outros solventes (ILAYARAJA *et al.*, 2015).

3.2 APLICAÇÃO DA *Clitoria Ternatea* EM ALIMENTOS

A *Clitoria ternatea* é uma planta que vem sendo alvo da culinária funcional que busca substitutos saudáveis para ingredientes tradicionalmente utilizados (TULER; PEIXOTO; SILVA, 2019). A gastronomia funcional busca combinar ingredientes dentro das preparações que vão além do sabor, valorizando todos os nutrientes presentes no alimento, focando na combinação nutricional para atender as necessidades de cada pessoa. Os alimentos funcionais trazem como aspiração a promessa de ajudar na prevenção e cura de doenças como para determinados tipos de câncer, alergias, problemas intestinais e gástricos, etc. (RAUD, 2008)

A flor de FB, por sua tonalidade azul intensa é considerado um corante natural e tem sido popularmente utilizado em diversos alimentos, bebidas e sobremesas na Ásia (FERNANDES *et al.*, 2019). O modo mais comum de consumo de flor de FB é na forma de chá. Entretanto, estudos vem sendo realizados para incorporar as flores de FB em diferentes formulações de alimentos no sentido de fortifica-los com seus compostos bioativos. Pasukamonset *et al.* (2018) adicionaram diferentes concentrações de extrato de flor de FB em bolo e observaram significativo aumento na concentração de compostos fenólicos, atividade antioxidante e redução da peroxidação de lipídeos. Além disso, o bolo com extrato teve uma boa aceitação sensorial.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho teve caráter experimental e consistiu em uma pesquisa quantitativa, com realização de análises físico-químicas nos laboratórios de Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Campus Londrina, no período de junho a novembro de 2021.

4.1. MATERIAL

A flor de feijão borboleta foi adquirida da empresa Fada Azul localizada na cidade de Corguinho, no estado de Mato Grosso do Sul, na forma desidratada.

Para a extração, utilizou-se como solventes a água destilada e etanol. Para análises da atividade antioxidante usou-se 2,2-difenil-2-picril-hidrazil hidratado (DPPH), o hidroxil-2,5,7,8 tetrametilcromano-2-carboxilato (Trolox), 2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina (TPTZ) e 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico) (ABTS). Para determinação de compostos fenólicos totais foi usado o reagente de Folin-Ciocalteu, ácido gálico e carbonato de sódio.

4.2 MÉTODOS

Neste tópico serão descritas as condições estudadas para extração dos compostos bioativos de flor de FB e a caracterização dos extratos em termos de concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados são expressos como a média desses ensaios \pm desvio padrão.

4.2.1 Extração dos compostos bioativos

Para a extração dos compostos bioativos de feijão borboleta foi empregado um planejamento fatorial 2^3 , com três repetições no ponto central, totalizando 11 ensaios. As variáveis estudadas foram concentração de etanol: água (0 a 80%), tempo (30 a 90 minutos) e temperatura (40 a 80°C), conforme a Tabela 1. Para todos os ensaios,

1 g de flor desidratada de feijão borboleta triturada com liquidificador e 20 ml de solvente foram adicionados em tubos Falcon e manteve-se por tempo e temperatura entre 30 e 90 minutos e entre 40 e 80°C, respectivamente. Após a mistura foi filtrada e o extrato obtido foi congelado para posteriormente se fazer as análises.

Tabela 1 – Planejamento fatorial 2³ para extração de compostos bioativos de flor de FB

Ensaio	Etanol (%)	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1	0 (-1)	30 (-1)	40 (-1)
2	80 (1)	30 (-1)	80 (-1)
3	0 (-1)	90 (1)	40 (-1)
4	80 (1)	90 (1)	80 (-1)
5	0 (-1)	30 (-1)	40 (1)
6	0 (1)	30 (-1)	80 (1)
7	80 (-1)	90 (1)	40 (1)
8	80 (1)	90 (1)	80 (1)
9	40 (0)	60 (0)	60 (0)
10	40 (0)	60 (0)	60 (0)
11	40 (0)	60 (0)	60 (0)

Fonte: Autoria própria (2022).

4.2.2 Teor de compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos foi determinado utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Em tubos de ensaio foram misturados 200 µL do extrato e 1000 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (10%, v/v). Em seguida foram adicionados 800 µL de solução de carbonato de sódio (7,5%, m/v) e os tubos foram mantidos em ambiente escuro por 2 h para reação. Um branco foi preparado substituindo-se o extrato por água destilada. A absorbância é medida a 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Biochrom, modelo Libra, Inglaterra). Uma curva analítica foi construída utilizando diferentes concentrações de ácido gálico (SINGLETON; ROSSI, 1965).

4.2.3 Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)

A capacidade antioxidante feita pela redução do ferro (FRAP) foi determinada de acordo com Rufino *et al.* (2006). Para obtenção do reagente FRAP misturou-se a solução 10 mM de TPTZ (2,4,6 tris (2-piridil) – triazina) em tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), 40 mM de solução HCl e solução aquosa de cloreto férrico 20 mM (10:1:1, v/v/v). Uma curva padrão de trolox foi construída para expressar os resultados.

4.2.4 Capacidade antioxidante pela captura do radical livre DPPH

A capacidade antioxidante pela captura do radical livre DPPH se deu de acordo com Rufino *et al.* (2007b). O volume de 3900 µL de uma solução de DPPH a 0,06 mM foi misturado a 1000 µL de extrato e incubado no escuro por 30 min a temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi feita a 515 nm em espectrofotômetro UV-Vis. Os resultados foram expressos em % de inibição.

4.2.5 Capacidade antioxidante pela captura do radical livre ABTS

Inicialmente foi preparada uma solução estoque de ABTS 7mM e persulfato de potássio 140 mM. Para o preparo do radical ABTS (ABTS^{•+}), 5 mL da solução estoque de ABTS foi misturada com 88 µL da solução de persulfato de potássio e mantida em ambiente escuro, a temperatura ambiente, por 16 horas.

Em seguida, 1 mL desta mistura foi diluído em álcool etílico até se obter uma absorbância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm. Em seguida, uma alíquota de 30 µL de cada diluição do extrato foi adicionado em tubos de ensaio com 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e após 6 minutos de repouso em ambiente escuro, realizou-se a leitura em 734 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Biochrom, modelo Libra, Inglaterra) utilizando álcool etílico como branco para a calibração do equipamento (RUFINO *et al.*, 2007a). Uma curva padrão de trolox foi construída para expressar os resultados.

4.3. TRATAMENTO DOS DADOS

Modelos polinomiais foram ajustados aos dados de concentração de compostos fenólicos totais, ABTS, DPPH e FRAP utilizando o programa Statistica 14.0.0.15 (TIBCO Software Inc., EUA).

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3$$

Em que Y é a resposta; b_0 é o valor médio, b_1 , b_2 e b_3 são os coeficientes de regressão de efeito linear; b_{12} , b_{13} , b_{23} são coeficientes de regressão de interação; e X_1 , X_2 e X_3 são as variáveis independentes. A análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de significância foi conduzida para avaliar o nível de significância, o coeficiente de determinação (R^2), o coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}) e a falta de ajuste do modelo matemático para as respostas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 encontram-se os resultados da concentração de compostos fenólicos totais extraídos das flores de FB e da atividade antioxidante nas condições definidas pelo planejamento fatorial. Na Tabela 3 estão apresentados os coeficientes de regressão e análise de variância dos modelos matemáticos das respostas.

Tabela 2 – Respostas da concentração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extrato de flor de FB

Ensaio	Etanol (%)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Fenólicos totais (mg EAG/g de flor seca)	FRAP (μ M Trolox/ g de flor seca)	DPPH (% inibição)	ABTS (μ M Trolox/ g de flor seca)
1	0 (-1)	30 (-1)	40 (-1)	18,37 \pm 0,15	19238,63 \pm 5,87	54,60 \pm 2,74	340750,00 \pm 11577
2	80 (1)	30 (-1)	80 (-1)	17,22 \pm 1,52	19236,47 \pm 7,88	60,39 \pm 1,32	306027,78 \pm 9765
3	0 (-1)	90 (1)	40 (-1)	16,10 \pm 0,21	19259,47 \pm 3,87	56,73 \pm 2,11	322416,67 \pm 13718
4	80 (1)	90 (1)	80 (-1)	12,44 \pm 0,65	19253,88 \pm 4,02	58,01 \pm 0,90	324361,11 \pm 8007
5	0 (-1)	30 (-1)	40 (1)	14,83 \pm 0,17	19195,63 \pm 11,62	79,43 \pm 1,28	337694,44 \pm 3469
6	80 (1)	30 (-1)	80 (1)	14,71 \pm 0,65	19213,05 \pm 22,87	75,52 \pm 1,28	321583,33 \pm 7500
7	0 (-1)	90 (1)	40 (1)	7,49 \pm 1,66	19209,22 \pm 3,74	79,43 \pm 0,21	337416,67 \pm 41857
8	80 (1)	90 (1)	80 (1)	10,97 \pm 1,98	19242,30 \pm 5,50	76,19 \pm 3,36	338250,00 \pm 14529
9	40 (0)	60 (0)	60 (0)	12,77 \pm 1,67	19225,72 \pm 3,05	57,31 \pm 1,96	362138,89 \pm 37807
10	40 (0)	60 (0)	60 (0)	12,50 \pm 0,42	19230,88 \pm 4,42	58,10 \pm 2,28	350194,44 \pm 3469
11	40 (0)	60 (0)	60 (0)	12,74 \pm 1,82	19199,05 \pm 34,96	66,48 \pm 1,25	321305,56 \pm 18358

Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 3 – Coeficientes de regressão e análise de variância

Fatores	Compostos Fenólicos	FRAP	DPPH	ABTS
Média	14,05*	19227,66*	65,65*	332921,7*
Etanol	-1,65*	-16,03	10,10*	5173,6
Tempo		10,14		2048,6
Temperatura	0,59	5,34		-6006,9
Etanol x Tempo	1,07*	0,57		2048,6
Etanol x Temperatura	1,05*		-1,77	2187,5
Tempo x Temperatura				6701,4
Falta de ajuste	2,84	388,13	109,36	6,06E+08
R ²	0,92	0,79	0,84	0,39
R ² _{aj}	0,87	0,64	0,79	0

*significativo ao nível de 5% (p<0,05)

Fonte: Autoria própria (2022).

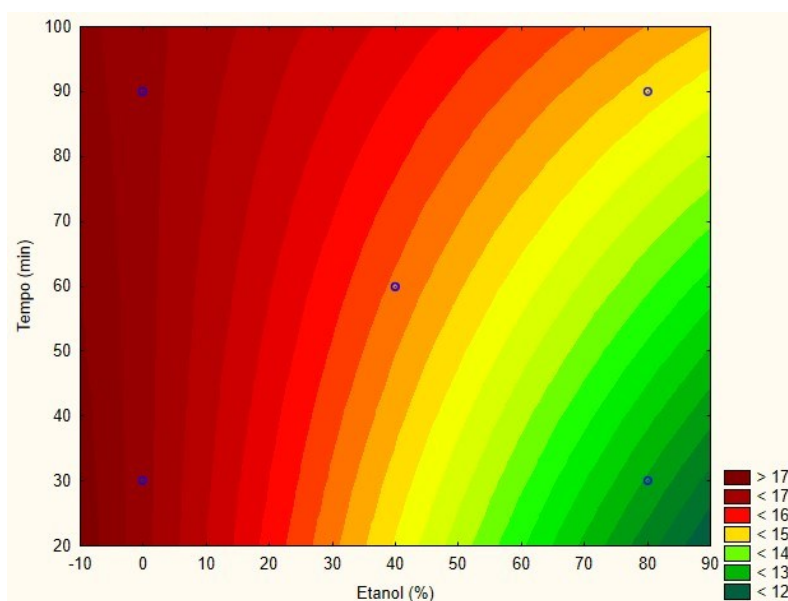
A concentração de compostos fenólicos variou de $7,49 \pm 1,66$ a $18,37 \pm 0,15$ mg para cada 1 g de flor seca. Nascimento *et al.* (2021) encontraram valores próximos de compostos fenólicos de $9,43 \pm 1,77$ a $17,94 \pm 0,63$ mg EAG/g de flor seca em extrato de flor de FB com experimentos sob as mesmas condições de concentração de etanol e temperatura, ou seja, a 40°C , com solvente sendo a água e tempo de processo de 30 minutos. Mehmood *et al.* (2019) obtiveram valores maiores de compostos fenólicos na mesma condição de extração (72 mg EAG/g amostra) e por ultrassom (87 mg EAG/g amostra) a 50°C utilizando água como solvente.

Diferentemente, Azima, Noriham e Manshoor (2017) quantificaram 76,9 mg EAG/ g de compostos fenólicos em extrato aquoso obtido a 100°C por 10 min e aparentemente, a alta temperatura não degradou os compostos fenólicos conforme observado no presente estudo. Por outro lado, Escher *et al.* (2020) obteve concentrações menores de 5,94 a 6,92 mg EAG/g, em extrações sob temperaturas e concentrações variadas, sendo o máximo obtido a 40°C por 30 minutos, entrando em acordo com os resultados deste projeto.

O maior valor de compostos fenólicos ($18,37 \pm 0,15$ mg EAG/g de flor seca) foi observado quando se utilizou água destilada a 40°C por 30 minutos e o oposto foi verificado quando foi empregado água destilada a 40°C com tempo de 90 minutos, sugerindo que maiores tempos podem degradar os compostos bioativos durante a extração. Para Nascimento *et al.* (2022), as melhores condições de extração foram similares, sendo os maiores valores de compostos fenólicos obtidos a 40°C por 30 minutos. Conclui-se que ao utilizar a água, é provável que ocorra o aumento no inchamento da matriz da planta, conduzindo à elevação da área de superfície de contato entre o soluto e solvente e isso pode melhorar o rendimento de extração de fenólicos (NASCIMENTO *et al.*, 2021).

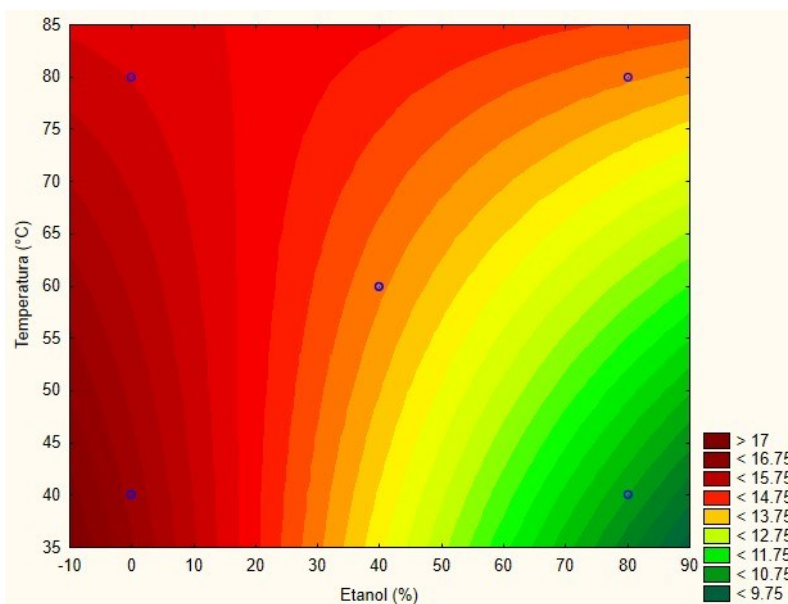
Verificou-se que a concentração de etanol teve efeito significativo (Tabela 2), ou seja, quanto maior a concentração, menor a extração de fenólicos (Figura 1 e 2). Efeito de interação entre as variáveis etanol e tempo e etanol e temperatura também foram significativos, ou seja, quanto menor a concentração de etanol e menor a temperatura, maior é a extração de compostos fenólicos. O efeito linear do tempo de extração não foi significativo e considerando os aspectos energéticos, sugere-se que o menor tempo (30 minutos) do planejamento pode ser empregado.

Figura 2 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e tempo na concentração de compostos fenólicos totais



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 3 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e temperatura na concentração de compostos fenólicos totais



Fonte: Autoria própria (2022).

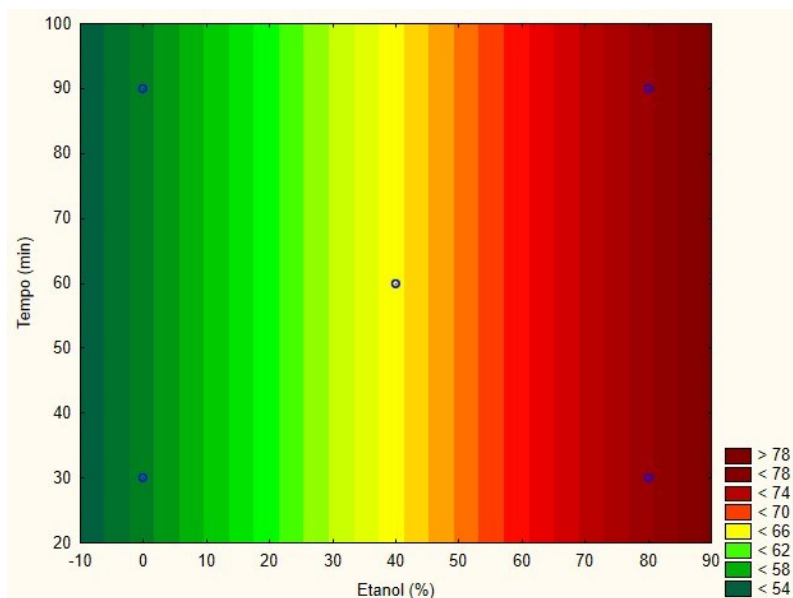
A análise de regressão múltipla para os valores de compostos fenólicos mostrou que o modelo matemático foi significativo ($p < 0,05$), a falta de ajuste não foi significativa e explica 92% da variação dos dados ($R^2_{aj} = 0,87$).

O efeito da concentração de etanol, tempo e temperatura de extração na capacidade antioxidante dos extratos de FB foi avaliado pelo método de redução do ferro (FRAP), capacidade de captura do radical ABTS e captura do radical DPPH. No geral, para todos os ensaios realizados os extratos apresentaram considerável atividade antioxidante. Os valores de capacidade antioxidante dos ensaios FRAP e ABTS foram bastante diversos, sendo mais elevado para ABTS e isso é em decorrência dos diferentes mecanismos de reação que estão envolvidos em cada método. O ensaio FRAP é caracterizado pela habilidade de transferir elétrons, que resulta na redução dos íons de ferro na presença de compostos antioxidantes. Já no caso do ensaio ABTS, o radical ABTS é de coloração verde escuro e quando em contato com um antioxidante, ocorre a redução do radical, promovendo a perda da coloração do meio reacional (RUFINO *et al.*, 2006; RUFINO *et al.*, 2007a).

No ensaio FRAP houve redução na capacidade antioxidante conforme aumentou-se a concentração de etanol, correlacionando com os resultados de compostos fenólicos encontrados neste trabalho e com o reportado por Nascimento *et al.* (2021). Entretanto, as variáveis lineares e de interação não foram significativas e o valor de R^2 foi de 0,79.

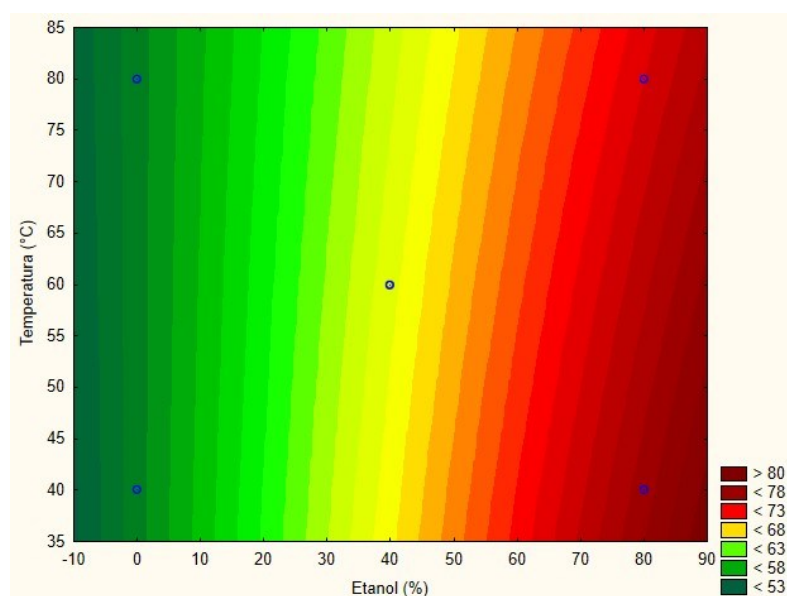
No ensaio DPPH, houve um aumento expressivo na capacidade antioxidante em função do aumento da concentração de etanol, sendo que este efeito foi significativo ($p < 0,05$). Os resultados obtidos corroboram com os verificados por estudo Nascimento *et al.* (2022) e Moraes (2020). Embora o efeito negativo de interação entre etanol e temperatura não fosse significativo ($p > 0,05$), este resultado pode ser útil para prever a atividade antioxidante nas condições de extração estudadas, indicando que quanto maior a concentração de etanol e menor a temperatura, maior a capacidade antioxidante pelo método DPPH. Este resultado também pode ser visualizado nos gráficos de superfície de resposta gerados, conforme Figuras 4 e 5.

Figura 4 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e tempo na atividade antioxidante DPPH



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 5 – Gráfico de superfície de resposta da influência do etanol e temperatura na atividade antioxidante DPPH



Fonte: Autoria própria (2022).

A análise de regressão múltipla para os valores de DPPH mostrou que o modelo matemático foi significativo ($p < 0,05$), a falta de ajuste não foi significativa, o R^2 foi de 0,84 e R^2_{aj} foi de 0,79, sugerindo um ajuste moderado para o presente estudo.

Para a capacidade antioxidante do ensaio ABTS, as variáveis estudadas não foram significativas e os valores de R^2 e R^2_{aj} foram bastante baixos. Isso indica que o

modelo matemático gerado não é capaz de descrever o efeito das variáveis tempo, temperatura e concentração de etanol nos níveis estabelecidos neste estudo para a capacidade antioxidante por ABTS.

6 CONCLUSÃO

Com o presente estudo verificou-se que a flor de *Clitoria ternatea* apresentou considerável atividade antioxidante pelos métodos ABTS, DPPH e FRAP, devido à presença de compostos fenólicos.

A metodologia de superfície de resposta foi eficiente na estimativa do efeito das variáveis concentração de etanol, tempo e temperatura de extração de compostos bioativos de flor de FB. Assim, água destilada associada ao menor tempo (30 minutos) e temperatura (40°C) de extração mostrou maior rendimento de extração de compostos fenólicos totais e consequentemente maior atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Edeli Simione *et al.* Alimentação mundial - uma reflexão sobre a história. **Revista Saúde e Sociedade**, v. 10, n. 2, p. 3-14, 2001.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 16th ed. Washington, 1995.
- ARABSHAHI-DELOUEE, Saeedeh; UROOJ, Asna. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 102, n. 4, p. 1233-1240, 2007.
- ARNOSO, Bernardo Junqueira de Moraes; COSTA, Giselle França da; SCHMIDT, Betina. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v. 18, n. 1, p. 39-48, 2019.
- BARREIRA, Tibério Fontenele *et al.* Diversidade e equitabilidade de Plantas Alimentícias Não Convencionais na zona rural de Viçosa, Minas Gerais Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 964-974, 2015.
- BOMFIM, Marinês Pereira *et al.* Caracterização dos compostos bioativos em frutas e hortaliças adquiridas no comércio de Padova – Itália. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 18, n. 2, p. 1-14, 2017.
- CHAYARATANASIN, Poramin. *et al.* Inhibitory effect of *Clitoria ternatea* flower petal extract on fructose-induced protein glycation and oxidation-dependent damages to albumin in vitro. **BMC Complementary Medicine and Therapy**, v. 15, n. 27, p. 1-9, 2015.
- DE AGUIAR, José Hugo de Aguiar; SALES, Francisco Sales Ávila; DE VASCONCELOS, Alexandra de Vasconcelos. Células solares sensibilizadas com corantes naturais extraídos das plantas Nerium oleander e Portulaca grandiflora. **Ciência e Natura**, v.38, n.3, p. 1191-1196, 2016.
- ESCHER, Graziela Bragueto, *et al.* *Clitoria ternatea* L. petal bioactive compounds display antioxidant, antihemolytic and antihypertensive effects, inhibit amylase and glucosidase activities and reduce human LDL, cholesterol and DNA induced oxidation. **Food Research International**, v. 128, p. 108763, 2020.
- FERNANDES, Luana *et al.* Borage, calendula, cosmos, Johnny Jump up, and pansy flowers: Volatiles, bioactive compounds, and sensory perception. **European Food Research and Technology**, v. 245, n. 3, p. 593–606, 2019.
- ILAYARAJA, Nallamuthu *et al.* Optimisation of extraction of bioactive compounds from Feronia limonia (wood apple) fruit using response surface methodology (RSM). **Food Chemistry**, v. 173, p. 348-354, 2015.
- JEYARAJ, Jeyaseela Ethel ; LIM, Yau Yan; WEE, Sim Choo. Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, n. 6, p. 2054-2067, 2021.

- KAZUMA, Kohei; NODA, Naonobu; SUZUKI, Masahiko. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 6, p.1133–1139, 2003.
- KHOO, Hock Eng *et al.* Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. **Food & Nutrition Research**, v. 61, n. 1, p. 1361779, 2017.
- KINUPP, Valdely Ferreira; LORENZI, Harri. **Plantas alimentícias não convencionais (Panc) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2014.
- KOSAI, Piya *et al.* Review on Ethnomedicinal uses of Memory Boosting Herb, Butterfly Pea, *Clitoria ternatea*. **Journal of Natural Remedies**, v. 15, n. 2, p. 71-76, 2015.
- MANJULA, P. *et al.* Phytochemical analysis of *Clitoria ternatea* Linn. a valuable medicinal plant. **Journal of the Indian Botanical Society**, v. 92, n. 3&4, p. 173-178, 2013.
- MEHMOOD, Arshad. *et al.* Impact of ultrasound and conventional extraction techniques on bioactive compounds and biological activities of blue butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 51, p. 12-19, 2019.
- MORAIS, Janne Santos de. **Avaliação da atividade antioxidante e bioacessibilidade de compostos fenólicos em diferentes espécies de flores comestíveis**. 2020. 64 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2020.
- MUHAMMAD, E. R; RABETA, M.S. A potential of Telang tree (*Clitoria ternatea*) in human health. **Food Research**, v. 2, n. 5, p. 415-420, 2018.
- NASCIMENTO, João Vitor *et al.* Extração de compostos fenólicos de flor de Feijão Borboleta (*Clitoria ternatea* L). **Research Society and Development**, v. 10, n. 11, p. e218101119450, 2021.
- NASCIMENTO, João Vitor *et al.* Extração de compostos bioativos de flor de *Clitoria ternatea* L. por tratamento ôhmico e convencional. In: Silvani Verruck. (Org.). **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1ed.Guarujá: Editora Científica Digital, v. 6, p. 177-188, 2022.
- NGUYEN, Van Tang *et al.* Phytochemicals and antioxidant capacity of Xao tam phan (*Paramignya trimeria*) root as affected by various solvents extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 67, p. 192-200, 2016.
- PASUKAMONSET, Pornpip. *et al.* Physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of sponge cakes fortified with *Clitoria ternatea* Extract. **Journal of Food Science Technology**, v. 55, n. 8, p. 2881-2889 2018.
- RANIERI, Guilherme Reis; ZANIRATO, Silvia Helena. Comidas da horta e do mato: plantas alimentícias em quintais urbanos no Vale do Paraíba. **Estudos Avançados**, v. 35, n. 101, p. 269-285, 2021.

RAUD, Cécile. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da Danone e da Nestlé no mercado brasileiro de iogurtes. **Revista de Sociologia e Política**, v. 16, n. 31, p. 85-100, 2008.

ROCHA, Rosiane. *et al.* Extraction of anthocyanins from red raspberry for natural food colorants development: processes optimization and in vitro bioactivity. **Processes**. v. 8, n. 11, p. 1447, 2020.

RUFINO, Maria do Socorro Moura *et al.* Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP). Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online** 125, 2006.

RUFINO, Maria do Socorro Moura *et al.* Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS. Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online** 128, 2007a.

RUFINO, Maria do Socorro Moura *et al.* Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: Embrapa, **Comunicado técnico online** 127, 2007b.

VARADAVENKATESAN, T.; VINAYAGAM, R.; SELVARA, R. Green synthesis and structural characterization of silver nanoparticles synthesized using the pod extract of *Clitoria ternatea* and its application towards dye degradation. **Materials Today: Proceedings**, v. 23, p. 27-29, 2020.

SINGLETON, Vernon, ROSSI, Joseph. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.

TULER, Amélia Carlos; PEIXOTO, Ariane Luna; SILVA, Nina Claudia Barboza da. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) na comunidade rural de São José da Figueira, Durandé, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 70, p. e01142018, 2019.

ZAKARIA, Nik Nur Azwanida *et al.* In vitro protective effects of an aqueous extract of *Clitoria ternatea* L. flower against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and UV-induced mtDNA damage in human keratinocytes. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 6, p. 1064-1072, 2018.