



Extração bioguiada de compostos fenólicos a partir das folhas de ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata*)

Bioguided extraction of phenolic compounds from ora-pro-nobis leaves (*Pereskia aculeata*)

Fernanda Caroline Knob¹, Tatiane Luiza Cadorin Oldoni²

RESUMO

Extratos obtidos a partir de plantas, usualmente são complexos, e a separação e identificação de compostos químicos, assim como a concentração da atividade biológica em matrizes vegetais pode ser realizada por meio do fracionamento bioguiado. Esta pesquisa buscou otimizar um método de extração e purificação de compostos fenólicos utilizando a técnica bioguiada a partir do extrato das folhas de *P. aculeata*, visando produzir frações ricas em atividade antioxidante e determinar a composição química desta planta. Foram utilizadas duas técnicas de extração: (I) fracionamento partindo de um extrato hidroalcoólico 80% e (II) fracionamento partindo da folha da planta. Em ambos os processos foram utilizados diferentes solventes e a determinação da composição fenólica foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massas de alta resolução. Os melhores resultados foram obtidos para frações e extratos mais polares, destacando as moléculas rutina, isoquercetina e isoramnetina como os compostos presentes em maior quantidade e na maioria das amostras. Esta pesquisa reportou pela primeira vez a presença de feruloiltiramina, ácido dienico, ácido enoico e ácido trienoico nas folhas de *P. aculeata*.

PALAVRAS-CHAVE: CLAE; compostos bioativos; estudo bioguiado.

ABSTRACT

Extracts obtained from plants are usually complex, and the separation and identification of chemical compounds, as well as the concentration of biological activity in plant matrices, can be carried out using bioguided fractionation. This research sought to optimize a method for extracting and purifying phenolic compounds using the bioguided technique from *P. aculeata* leaf extract, with the aim of producing fractions rich in antioxidant activity and determining the chemical composition of this plant. Two extraction techniques were used: (I) fractionation from an 80% hydroalcoholic extract and (II) fractionation from the leaf of the plant. Different solvents were used in both processes and the phenolic composition was determined using high performance liquid chromatography and high resolution masses spectrometry. The best results were obtained for more polar fractions and extracts, highlighting the molecules rutin, isoquercetin and isorhamnetin as the compounds present in the greatest quantity and in the majority of samples. This research reported for the first time the presence of feruloyltyramine, dienic acid, enoic acid and trienoic acid in the leaves of *P. aculeata*.

KEYWORDS: HPLC; bioactive compounds; bioguided study.

INTRODUÇÃO

Compostos derivados de plantas destacam-se por sua potencial aplicação na produção de medicamentos e sínteses de moléculas com potencial biológico. À vista disso,

¹ Bolsista da Fundação Araucária. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil. E-mail: fernandaknob@gmail.com. ID Lattes: 6945958179504477.

² Docente no Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, Paraná, Brasil. E-mail: tatianeoldoni@utfpr.edu.br. ID Lattes: 3815028689849043.



uma planta que merece destaque é a *Pereskia aculeata* Miller, uma vez que estudos já desenvolvidos relatam que extratos obtidos das folhas dessa planta apresentaram efeito antioxidante, conferido à presença de compostos fenólicos (PINTO et al., 2016).

Diante disso, torna-se evidente a importância de avaliar o seu perfil químico. A extração sólido-líquido é comumente empregada para tal finalidade, onde são utilizados diversos solventes escolhidos com base nas polaridades, uma vez que diferentes compostos podem ser extraídos com diferentes polaridades (SILVA, 2021).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma das técnicas mais utilizadas para a separação, identificação e quantificação de substâncias bioativas, possuindo alta resolução e eficiência. Acoplada à técnica de separação, tem-se utilizado cada vez mais a espectrometria de massas de alta resolução (CLAE-ESI-QTOF-MS/MS), visando complementar os estudos. Essa ferramenta atua por meio da ionização das moléculas, separando os íons com base nas diferentes razões massa/carga (m/z). A grande vantagem dos analisadores de alta resolução é a possibilidade de identificação de um maior número de compostos e com maior confiabilidade (ALVES, 2019).

O objetivo desta pesquisa foi otimizar um método de extração e purificação de compostos fenólicos utilizando a técnica bioguiada a partir do extrato das folhas de *Pereskia aculeata* Miller, visando produzir frações ricas em atividade antioxidante e determinar a composição química desta planta.

MATERIAIS E MÉTODOS

OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

A planta *Pereskia aculeata* Miller foi disponibilizada pela empresa Proteios Nutrição Funcional Ltda-Me de Ribeirão Branco-SP. As folhas foram recebidas secas e trituradas.

Para a obtenção dos extratos utilizou-se a técnica de extração sólido-líquido, de maneira exaustiva, com o preparo de dois extratos diferentes:

(I) EEtOH-F: 500 g de folhas foram extraídos com 3 L de etanol:água (80:20, v/v) em temperatura ambiente, sob agitação contínua, com renovação do solvente a cada 24h. Essa etapa repetiu-se por 5 dias e o extrato foi concentrado em evaporador rotativo para remoção do etanol e liofilizado para remoção da água. O extrato foi denominado EH e, na sequência, foi submetido ao processo de extração sólido-líquido, com o uso de diferentes solventes na seguinte ordem: Hexano (Fr-Hex), Diclorometano (Fr-DCM), Acetato de Etila (Fr-AcOEt), Acetona (Fr-Ace) e Butanol (Fr-But), sob agitação contínua e substituição do solvente a cada 24 horas. As frações foram concentradas em evaporador rotativo.

(II) ES: 50 g de folha foram extraídos com 200 mL de solvente, na seguinte ordem: Hexano (E-Hex), Diclorometano (E-DCM), Acetato de Etila (E-AcOEt), Acetona (E-Ace), Butanol (E-But), Etanol (E-EtOH) e Etanol:água 80:20 v/v (E-EtOH:H₂O), sob agitação contínua e substituição do solvente a cada 24 horas. Os extratos foram concentrados em evaporador rotativo e o E-EtOH:H₂O foi liofilizado para remoção da água.

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA POR MEIO DE CLAE-DAD

Utilizou-se um cromatógrafo Varian 920-LC, com coluna ZORBAX Eclipse Plus C18 (250 x 4.6 mm, 5 µm de tamanho de partícula), mantida em temperatura constante de 30°C. A fase móvel utilizada consistiu em uma mistura de ácido acético:água (2:98, v/v) e ácido



acético:acetonitrila:água (2:40:58, v/v). A taxa de fluxo foi de 1 mL min^{-1} no modo gradiente, com tempo de corrida de 64 minutos. O volume injetado de amostra foi de $10 \mu\text{L}$. A caracterização das amostras foi realizada por comparação do tempo de retenção e absorção característica (λ 280/360 nm). Os padrões utilizados foram ácido gálico, catequina, ácido clorogênico, ácido vanílico, ácido cafeico, epicatequina, ácido cúmarico, ácido ferrúlico, rutina, isoquercetina, ácido isoclorogênico A, astragalina, ácido salicílico, miricetina, quercetina, ácido cinâmico e canferol. Para a quantificação dos compostos identificados foi construída uma curva de calibração para cada padrão, em concentrações de 1, 2,5, 5, 10, 20, 30 e 50 mg L^{-1} .

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR MEIO DE CLAE-ESI-QTOF-MS/MS

O extrato hidroalcolólico (EH) e as frações obtidas foram analisados utilizando um cromatógrafo líquido de ultra-alta performance (Shimadzu, Nexera X2, Japão) acoplado a uma coluna Acquity UPLC® BEH C18 (Waters, EUA, $1,7 \mu\text{m}$, $2,1 \times 50 \text{ mm}$). Utilizou-se a metodologia proposta por Prasiewicz et al. (2021). Os experimentos de MS foram realizados em um espectrômetro de massa de alta resolução Q-TOF geometry Impact II (Bruker Daltonics Corporation, Germany) equipado com uma fonte de ionização por electrospray, operada no modo de ionização negativo ajustado para 4500 V com um potencial de deslocamento da placa final de -500 V, seguindo a metodologia proposta por Prasiewicz et al. (2021).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO FENÓLICA POR MEIO DE CLAE-DAD

Para avaliar a eficácia da otimização do método empregado para separar os 17 padrões de compostos fenólicos, foram avaliados alguns parâmetros de qualidade, com os dados obtidos dispostos no material suplementar. O fator de capacidade (k), calculado com base no tempo em que os compostos interagiram com fase estacionária, variou de 0,85 a 13,3, indicando uma boa interação dos analitos com a fase estacionária durante um intervalo de tempo apropriado. A seletividade (α) e a resolução (R_s), que avaliam a capacidade do sistema em diferenciar e separar os componentes com larguras de base adequadas, apresentaram valores superiores ou igual a 1,0 para α e superiores ou igual a 1,5 para R_s , indicando um processo de separação adequado. Esses parâmetros ressaltam a eficiência do método, sobretudo na separação de uma amostra complexa com 17 compostos, muitos com propriedades químicas semelhantes.

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência foi empregada para detectar e quantificar compostos fenólicos presentes nos extratos e frações produzidos. O método utilizado foi otimizado para a separação de 17 compostos fenólicos, com os dados analíticos obtidos dispostos no material suplementar.

A eficiência da extração foi avaliada pela detecção e quantificação das substâncias bioativas presentes no extrato e nas frações de *P. aculeata*, os quais estão dispostos na Tabela 1. Em estudo realizado em etapa anterior pelo grupo de pesquisa, também foi avaliado o potencial antioxidante das frações e extratos.

Tabela 1. Teores dos compostos fenólicos identificados por CLAE-DAD nos extratos e frações das folhas de *Pereskia aculeata*.

| Amostra | Ácido vanílico | Ácido cafeico | Ácido cumárico | Ácido ferrúlico | Rutina | Isoquercetina | Quercetina | Ácido cinâmico | Canferol |
|-------------------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| | mg de composto/g de extrato ou fração | | | | | | | | |
| Método EEtOH-F | | | | | | | | | |
| EH | < LQ | 0.40 ^{CA} | 0.38 ^{CA} | < LQ | 6.58 ^{AA} | 1.62 ^{abA} | 0.14 ^{bA} | < LQ | <LQ |
| Fr-Hex | ND | 0.10 ^e | 0.15 ^d | ND | 0.86 ^{CA} | 0.21 ^d | 0.04 ^c | 0.22 ^c | ND |
| Fr-DCM | 0.23 ^b | 0.08 ^{eA} | 0.52 ^{CA} | 0.46 ^b | 0.47 ^{CA} | < LQ | 0.04 ^{CA} | 0.33 ^{AA} | 0.47 ^{AA} |
| Fr-AcOEt | 0.30 ^{AB} | 1.55 ^{AA} | 1.59 ^{AB} | 0.60 ^{AB} | 0.86 ^{CA} | 1.17 ^{CA} | 0.28 ^{AB} | 0.27 ^{bA} | 0.43 ^{AA} |
| Fr-Ace | 0.19 ^b | 0.79 ^{bA} | 0.72 ^{bA} | ND | 5.33 ^{bA} | 1.88 ^{AB} | 0.28 ^{AA} | 0.12 ^d | 0.10 ^{bA} |
| Fr-But | ND | 0.29 ^{dA} | 0.18 ^{dA} | ND | 4.86 ^{BB} | 1.49 ^{bcB} | 0.09 ^{bcA} | < LQ | 0.06 ^b |
| Método ES | | | | | | | | | |
| E-Hex | ND | ND | < LQ | ND | 0.23 ^{eB} | < LQ | ND | < LQ | ND |
| E-DCM | ND | 0.04 ^{fB} | 0.08 ^{eB} | ND | 0.63 ^{dA} | < LQ | 0.04 ^{dA} | 0.16 ^{BB} | 0.06 ^{BB} |
| E-AcOEt | 0.56 ^A | 1.89 ^{AA} | 3.40 ^{AA} | 0.75 ^A | 0.63 ^{dB} | 0.46 ^{eB} | 0.62 ^{AA} | 0.21 ^{aB} | 0.43 ^{AA} |
| E-Ace | < LQ | 0.65 ^{CA} | 0.38 ^{CB} | ND | 4.54 ^{CB} | 2.20 ^{bA} | 0.33 ^{bA} | < LQ | 0.06 ^{bA} |
| E-But | ND | 0.13 ^{eB} | 0.13 ^{dA} | ND | 7.76 ^{bA} | 1.88 ^{CA} | 0.04 ^{dA} | < LQ | ND |
| E-EtOH | < LQ | 0.82 ^b | 0.56 ^b | ND | 11.13 ^a | 2.97 ^a | 0.28 ^b | < LQ | 0.10 ^b |
| E-EtOH:H ₂ O | ND | 0.31 ^{dB} | 0.15 ^{dB} | ND | 4.39 ^{CB} | 0.98 ^{dB} | 0.09 ^{dB} | < LQ | ND |

Fonte: Elaborado pelos autores (2023). < LQ: abaixo do limite de quantificação; ND: não detectado; Valores expressos como média (n=3). Letras minúsculas diferentes na mesma coluna para cada método de extração indicam que há diferença significativa entre as amostras pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes para amostras obtidas com o mesmo solvente indicam que há diferença significativa entre as amostras pelo teste T de Student ($p \leq 0,05$).

No EH foram identificados os ácidos vanílico, cafeico, cumárico, ferrúlico e cinâmico, bem como os compostos rutina, isoquercetina, quercetina e canferol, destacando a rutina (6,58 mg.g⁻¹) e a isoquercetina (1,62 mg.g⁻¹) com elevados teores.

Para as frações obtidas pelo método EEtOH-F destaca-se a Fr-AcOEt para o ácido vanílico (0,30 mg.g⁻¹), ácido cafeico (1,55 mg.g⁻¹), ácido cumárico (1,59 mg.g⁻¹), ácido ferrúlico (0,60 mg.g⁻¹) e quercetina (0,28 mg.g⁻¹), uma vez que esta fração foi capaz de concentrar os bioativos citados em maior quantidade que o EH e demais frações.

Para os extratos obtidos pelo método ES destaca-se o E-AcOEt com os maiores teores para o ácido vanílico (0,56 mg.g⁻¹), ácido cafeico (1,89 mg.g⁻¹), ácido cumárico (3,40 mg.g⁻¹), ácido ferrúlico (0,75 mg.g⁻¹), quercetina (0,62 mg.g⁻¹), ácido cinâmico (0,21 mg.g⁻¹) e canferol (0,43 mg.g⁻¹). O E-EtOH apresentou teores superiores aos demais extratos e frações, de ambos os métodos, para a rutina (11,13 mg.g⁻¹) e isoquercetina (2,97 mg.g⁻¹), destacando-se como o extrato com maior capacidade de concentrar tais substâncias.

Dentre todos os compostos fenólicos identificados destacam-se a rutina e a isoquercetina, uma vez que foram identificados em todas as frações e extratos, apresentando os teores mais elevados.

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA POR MEIO DE CLAE-ESI-QTOF-MS/MS

Os compostos bioativos do extrato de *P. aculeata* obtidos com a extração pelo método EEtOH-F (método que apresentou os maiores teores de atividade antioxidante) foram identificados a partir dos espectros MS/MS (Quadro 1), resultando na identificação de 20 compostos, dos quais 9 foram identificados no EH, 10 na Fr-Hex e Fr-DCM, 14 na



Fr-AcOEt, 8 na Fr-Ace e 7 na Fr-But, destacando a fração obtida com o solvente acetato de etila com o maior número de compostos identificados.

Os flavonoides foram o principal grupo de polifenóis identificados, destacando derivados da Isoramnetina e Quercetina, identificados na maioria das frações e extrato. A molécula Isoramnetina-3-O-galactosídeo-6''-ramnosídeo está presente no EH e em todas as frações. Possui íon precursor em m/z 623,1640 e como pico base um fragmento de íon em m/z 271,0221, originado pela perda das partes glicosiladas e ramnose da molécula.

Quadro 1. Dados de CLAE-ESI-QTOF-MS/MS para os compostos identificados no EH e frações de *P. aculeata*

| Composto atribuído | Tr (min) | Fórmula molecular | Massa medida | Massa teórica | Fragmentos dos íons | Extrato/Frações |
|--|----------|---|--------------|---------------|--------------------------------------|---|
| Sacarose | 2.7 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | 341.1122 | 341.1090 | 179,0601 (100) 161,0491 (40,82) | Fr-Hex; Fr-DCM |
| Trealose | 2.8 | C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁ | 341.1105 | 341.1090 | 89,0257 (47,17) 179,0561 (28,30) | EH; Fr-Ace; Fr-But |
| Ácido cítrico | 4.1 | C ₆ H ₈ O ₇ | 191.0209 | 191.0197 | 111,0098 (100) 87,0082 (43,21) | EH; Fr-Hex; Fr-DCM |
| Ácido caftárico | 20.7 | C ₁₃ H ₁₂ O ₉ | 311.0436 | 311.0403 | 179,0358 (100) 149,0153 (53,97) | EH |
| Ácido cafeico | 23.5 | C ₉ H ₈ O ₄ | 179.0390 | 179.0360 | 135,0488 (100) | Fr-AcOEt |
| Quercetina-Ramnosídeo-Hexosídeo-Pentosídeo | 29.6 | C ₃₂ H ₃₈ O ₂₀ | 741.1913 | 741.1920 | 300,0277 (100) | EH; Fr-Hex |
| Ácido cumárico | 30.1 | C ₉ H ₈ O ₃ | 163.0439 | 163.0422 | 119,0534(100) | Fr-AcOEt |
| Quercetina-3-O-rutinosídeo (Rutina) | 30.7 | C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆ | 609.1493 | 609.1460 | 271,0273 (93,02) 300,0359 (65,94) | EH; Fr-Hex; Fr-DCM; Fr-Ace; Fr-But |
| Quercetina-3-O-glucosídeo (Isoquercetina) | 31.9 | C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂ | 463.0904 | 463.0880 | 300,0305 (100) 271,0267 (75,61) | EH; Fr-Hex; Fr-AcOEt; Fr-Ace; Fr-But |
| Ácido ferrúlico | 31.9 | C ₁₀ H ₁₀ O ₄ | 193.0542 | 193.0510 | 134,0396 (100) 178,0328 (31,82) | Fr-DCM; Fr-AcOEt |
| Isoramnetina-3-O-galactosídeo-6''-ramnosídeo | 33.1 | C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ | 623.1640 | 623.1620 | 271,0275 (100) 299,0247 (49,09) | EH; Fr-Hex; Fr-DCM; Fr-AcOEt; Fr-Ace; Fr-But |
| Quercetina-3-O-xylosídeo | 33.4 | C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁ | 433.0800 | 433.0780 | 300,0303 (100) 301,0327 (82,14) | EH; Fr-Hex; Fr-AcOEt; Fr-Ace; Fr-But |
| Isoramnetina-3-O-glucosídeo | 34.3 | C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂ | 477.1058 | 477.1038 | 315,0461 (100) 314,0458 (66,67) | EH; Fr-Hex; Fr-AcOEt; Fr-Ace; Fr-But |
| Canferol-3-O-arabinosídeo | 35.1 | C ₂₀ H ₁₈ O ₁₀ | 417.0907 | 417.0830 | 284,0382 (76,47) 255,0368 (50) | Fr-Acetato de etila |
| Ácido azelaico | 35.8 | C ₉ H ₁₆ O ₄ | 187.0998 | 187.0976 | 125,1010 (100) | Fr-Hex; Fr-DCM; Fr-AcOEt; Fr-Ace; Fr-But |
| Feruloiltiramina | 39.0 | C ₁₈ H ₁₉ NO ₄ | 312.1286 | 312.1241 | 148,0547 (100) 178,0576 (72,50) | Fr-DCM; Fr-AcOEt |
| Quercetina | 40.6 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ | 301.0419 | 301.0350 | 151,0071 (100) 179,0041 (44,86) | Fr-AcOEt |
| Ácido dienóico | 44.2 | C ₁₈ H ₃₂ O ₅ | 327.2215 | 327.2180 | 211,1361 (50) 229,1475 (36,73) | Fr-Hex; Fr-DCM; Fr-AcOEt |
| Ácido enóico | 47.4 | C ₁₈ H ₃₄ O ₅ | 329.2384 | 329.2312 | 211,1359 (29,63) 229,1515 (15,58) | Fr-DCM; Fr-AcOEt |
| Ácido trienoico | 48.1 | C ₁₈ H ₂₈ O ₄ | 307.1964 | 307.1910 | 185,1222 (100) 121,0656 (55,17) | Fr-DCM; Fr-AcOEt; Fr-Ace |

Fonte: Elaborado pelos autores (2023). Tr: tempo de retenção.

A molécula identificada como Quercetina-3-O-rutinosídeo (Rutina), está presente no EH, Fr-Hex, Fr-DCM, Fr-Ace e Fr-But, com íon precursor de m/z 609,1493 e pico base em m/z 271,0273. Este composto foi identificado por CLAE-DAD em todas as frações e extratos analisados. A molécula Quercetina-3-O-glucosídeo (Isoquercetina), possui íon precursor em m/z 463,0904 e fragmento de pico base em m/z 300,0305, o qual é característico ao núcleo de quercetina, evidenciando a perda da glucose. Esse composto foi identificado no EH, Fr-Hex, Fr-AcOEt, Fr-Ace e Fr-But por CLAE-ESI-QTOF-MS/MS, e em todas as frações



e EH por CLAE-DAD. As moléculas feruloiltiramina, ácido dienoico, ácido enoico e ácido trienoico ainda não tinham sido identificados em amostras de *P. aculeata* sendo, portanto, reportadas pela primeira vez nas folhas desta planta.

CONCLUSÃO

O método de extração EEtOH-F destacou-se pela maior atividade antioxidante e maior número de compostos extraídos. Entretanto, o método ES apresentou os teores mais elevados de muitos compostos identificados, como a rutina e a isoquercetina, que consistem nos compostos majoritários na análise por CLAE.

O processo de extração com o uso de diferentes solventes mostrou-se uma alternativa interessante na obtenção de frações ricas em compostos fenólicos das folhas de *P. aculeata*, indicando que houve eficiência na otimização do método de extração e purificação desta atividade biológica, sobretudo com o uso de solventes de polaridade média a alta, ressaltando o etanol e acetato de etila.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, a Fundação Araucária pelo apoio financeiro, a empresa Proteios Nutrição Funcional Ltda-Me pelo fornecimento da matéria prima e ao Laboratório Multiusuário Central de Análises.

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

Material suplementar

O material suplementar está disponível em <https://encurtador.com.br/gmyD0>.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. T. **Aplicação da espectrometria de massas de alta resolução na determinação de compostos fenólicos extraíveis e não extraíveis do araçá-piranga (*Eugenia multicostata*) e da pixirica (*Leandra leavigata*)**. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2019.

PINTO, N. DE C. C.; CASSINI-VIEIRA, P.; SOUZA-FAGUNDES, E. M. DE; et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves accelerate excisional wound healing in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 131–136, 2016.

PRASNIEWSKI, A.; SILVA, C. DA; AYRES, B. R. B.; et al. Characterization of phenolic compounds by UHPLC-QTOF-MS/MS and Functional properties of *Syzygium malaccense* leaves. **South African Journal of Botany**, v. 139, p. 418–426, 2021.

SILVA, M. O. **Estudo de diferentes métodos de extração de compostos bioativos e avaliação da atividade antioxidante da casca de café (*coffea arábica l.*)**. Dissertação - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2021.