

**AVALIAÇÃO DO EFEITO DO SOLVENTE NA CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Campomanesia*
*xanthocarpa***

ANA PAULA TEIXEIRA¹
CAROLINA LILIBETH CARVALHO DE PINHO^{1*}
RENATA LÁZARA DE ARAÚJO¹
CRISTIANE VIEIRA HELM²
MARCOS ROGÉRIO MAFRA¹
LUCIANA IGARASHI-MAFRA¹

A *Campomanesia xanthocarpa* é uma espécie pertencente à família *Myrtaceae* e popularmente conhecida como gabiroba. Suas folhas possuem compostos bioativos que podem ser extraídos, como os compostos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas e óleo essencial. A extração de compostos da folha é geralmente realizada pelo método de extração sólido-líquido (ESL), pelo seu melhor desempenho para extração de compostos bioativos. A ESL é realizada geralmente com solventes convencionais puros como, acetona, água e etanol, porém melhores resultados podem ser adquiridos com misturas de solventes. Nesse contexto, o presente trabalho avaliou o desempenho da extração realizada com diferentes misturas de água, etanol e acetona. Avaliou-se o efeito isolado e misturas binárias e ternárias desses solventes. As extrações foram realizadas na proporção de 1:20 (m/v, amostra/solvente) e mantidas a temperatura de 40 °C sob agitação contínua por 40 min, totalizando 10 extratos. O teor de compostos fenólicos totais (CFT) foi avaliado pelo método de Folin-Ciocalteu e a capacidade antioxidante (CA) pelos métodos de DPPH, ABTS e FRAP. Os resultados demonstraram que a mistura de solvente durante a extração influenciou o teor de CFT e CA. Observou-se que o ensaio 7, composto de quantidades iguais de água (33 %), etanol (33 %) e acetona (34 %), teve destaque nos métodos DPPH e ABTS, sendo obtido em cada um 622 µmol TE/g e 523 µmol TE/g de amostra, respectivamente. Logo, misturas de solventes podem melhorar a extração de compostos bioativos em comparação com solventes comuns puros.

PALAVRAS-CHAVE: Gabiroba; compostos bioativos; extração sólido-líquido.

¹ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR.

² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Florestas), Colombo-PR.

*E-mail para correspondência: carolinacpinho@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A *Campomanesia xanthocarpa*, popularmente conhecida como ‘gabiroba’, é uma planta pertencente à família Myrtaceae, nativa do Brasil, é encontrada principalmente nas regiões Sul e Sudeste (FERNANDA et al., 2018; SANTOS et al., 2010). Estudos das folhas dessa espécie foram realizados e encontrados a presença de flavonoides, taninos, saponinas e óleo essencial. O óleo encontrado possui um teor de 0,11% sendo os principais componentes, linalol (29%) e globulol (20%). Segundo Vallilo (2008) a folha também apresentou atividades antimicrobiana com concentração mínima maior que 500 µg mL⁻¹ e menor que 1000 µg mL⁻¹ em relação a *Staphylococcus aureus* e para à *Candida albicans*, maior que 100 µg mL⁻¹ e menor que 500 µg mL⁻¹ (VALLILO et al., 2008).

A ação dos antioxidantes presentes em extratos de plantas é de extrema importância para a redução da oxidação lipídica de tecidos e quando adicionados na alimentação humana, além de conservar o alimento, reduz o risco de desenvolvimento de arteriosclerose, doenças cardiovasculares e câncer (MILENE ANGELO; JORGE, 2007; SILVA et al., 2010). Por esses motivos a uma intensa busca das pesquisas por fontes de antioxidantes naturais e de fácil acesso para serem utilizados nas indústrias farmacêuticas, alimentícia e cosmética (SILVA et al., 2010).

Para extração de compostos bioativos de plantas utiliza-se a extração sólido-líquido (ESL), que se baseia na difusão da molécula bioativa. A extração ESL é uma operação unitária para a dissolução de um componente presente em um sólido, através da utilização de um solvente que não possui interação com os outros componentes do soluto (NOBRE; DA; PARA, 2019; WANG et al., 2019).

A escolha do solvente é de extrema importância nesse processo, pois interfere na eficiência da operação, seja nos métodos convencionais ou não convencionais. Para a escolha do solvente um fator de extrema importância é a polaridade do composto, além disso é visto também a afinidade molecular, segurança ambiental e viabilidade financeira. Geralmente, na ESL são utilizados solventes orgânicos comuns puros, como, água e etanol. Porém o uso de solventes convencionais puros pode não obter os melhores resultados na extração das biomoléculas, sendo assim, uma solução é a utilização de misturas de solventes visando a extração de todo potencial do soluto. Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito isolado, misturas binárias e ternárias de água, etanol e acetona na extração de compostos antioxidantes das folhas da gabiroba.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção e preparo da amostra

A amostra da folha da *Campomanesia xanthocarpa* foram coletadas na região metropolitana de Curitiba. As amostras foram secas a 50°C durante um período de 24 horas em estufa de circulação de ar, reduzidas a pó seco e fino

(60 – 20 mesh) e condicionadas em embalagens a vácuo na ausência de luz até o uso.

2.2 Extração

Para a extração foi realizado um planejamento experimental utilizando solventes com diferentes polaridades, em misturas binárias e ternárias, totalizando 10 extrações (Figura 1). Para isso diferentes ensaios, todos de 30 ml, foram realizados com distintas proporções entre os solventes, conforme a Tabela 1. O volume de solvente foi misturado a 1,5 g de amostra e mantidos a 40 °C durante 40 minutos sob agitação contínua.

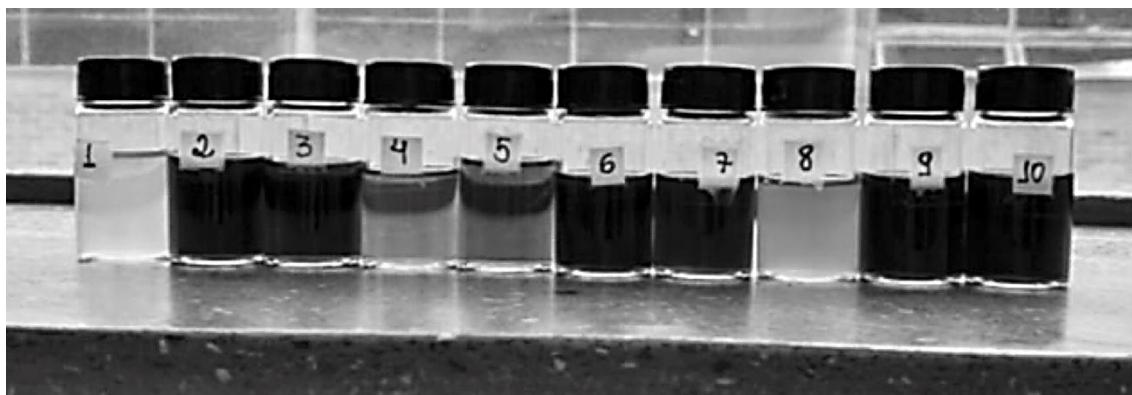


FIGURA 1 – EXTRATOS OBTIDOS DA FOLHA DA GABIROBA

TABELA 1 – PLANEJAMENTO DE EXTRAÇÕES.

Ensaio	Água (%)	Etanol (%)	Acetona (%)
1	100	0	0
2	0	100	0
3	0	0	100
4	50	50	0
5	50	0	50
6	0	50	50
7	33,3	33,3	33,4
8	66,6	16,7	16,7
9	16,7	66,6	16,7
10	16,7	16,7	66,6

2.3 Compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante

Todas as análises foram feitas em microplacas. A determinação dos compostos fenólicos totais (TPC) foi feita de acordo com o método colorimétrico adaptado de Singleton et al., (1999), baseado no reagente de Folin-Ciocalteau. Em tubos de ensaio foram misturados 240 µL de água destilada, 10 µL de extrato e 15 µL de reagente Folin-Ciocalteau. Após 3 min, 15 µL de carbonato de sódio (20% p/v) foi adicionado a cada tubo, seguido de

agitação. Os tubos foram então mantidos no escuro por 60 minutos à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-1800) a 760 nm. Os dados foram comparados com uma curva padrão de ácido gálico e os resultados expressos em mg de equivalente de ácido gálico (GAE)/100 g de amostra.

A capacidade de eliminação de radicais livres do DPPH foi analisada de acordo com Brand-Williams et al. (1995). Resumidamente, 190 µL de solução de DPPH foram adicionados a 10 µL de extrato. A mistura foi agitada e mantida no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. A absorbância foi medida usando um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 517 nm. Os dados foram comparados com uma curva padrão de Trolox e os resultados expressos em mg equivalente de Trolox (TE)/g de amostra.

A atividade antioxidante foi determinada a partir do sequestro de cátions do radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico) (ABTS) de acordo com Re et al., (1999). Os cátions radicais ABTS foram produzidos reagindo a solução ABTS (7mmol.L^{-1}) com uma solução de persulfato de potássio (140mmol.L^{-1}) e deixando a mistura em repouso no escuro à temperatura ambiente por 16h antes do uso. A solução de trabalho ABTS foi preparada diluindo a solução estoque ABTS com etanol absoluto até atingir absorbância de $0,700 \pm 0,020$ a 734nm. Para as análises, 10 µL de extrato foi misturado com 290 µL da solução de trabalho ABTS. Após 30 minutos de incubação no escuro, a absorbância foi lida a 734 nm. A quantificação foi realizada usando uma curva de calibração Trolox e os resultados foram expressos em µmol de TE/g de amostra.

O teste FRAP foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Benzie & Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado a partir de solução tampão de acetato de sódio (300 mmol.L^{-1} , pH 3,6), solução de TPTZ (10 mmol.L^{-1}) (diluída em solução de ácido clorídrico (40 mmol.L^{-1}) e cloreto férreo (III) solução (20 mmol.L^{-1}) na razão de volume de 10:1:1 (v/v/v), respectivamente. Em seguida, uma alíquota de 10 µL de extrato foi transferida para a microplaca seguida da adição de 290 µL de reagente FRAP. A solução foi homogeneizada e mantida no escuro por 30 minutos à temperatura ambiente. A absorbância foi medida a 595 nm e comparada com uma curva de Trolox padrão. Os resultados foram expressos em µmol de TE/g de amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 2 apresenta os resultados do teor de CFT e CA para todos os 10 extratos obtidos. Os resultados para TPC se mostraram parecidos para vários ensaios, não obtendo uma grande amplitude de concentrações. Os ensaios que obtiveram maiores concentrações de compostos fenólicos totais foram o 7 e 10, sendo o 10 um pouco superior com $330\text{ }\mu\text{mol/g}$ de amostra. O extrato 10 representa a extração realizada com aproximadamente 66% de acetona, 17% de água e 17% de etanol.

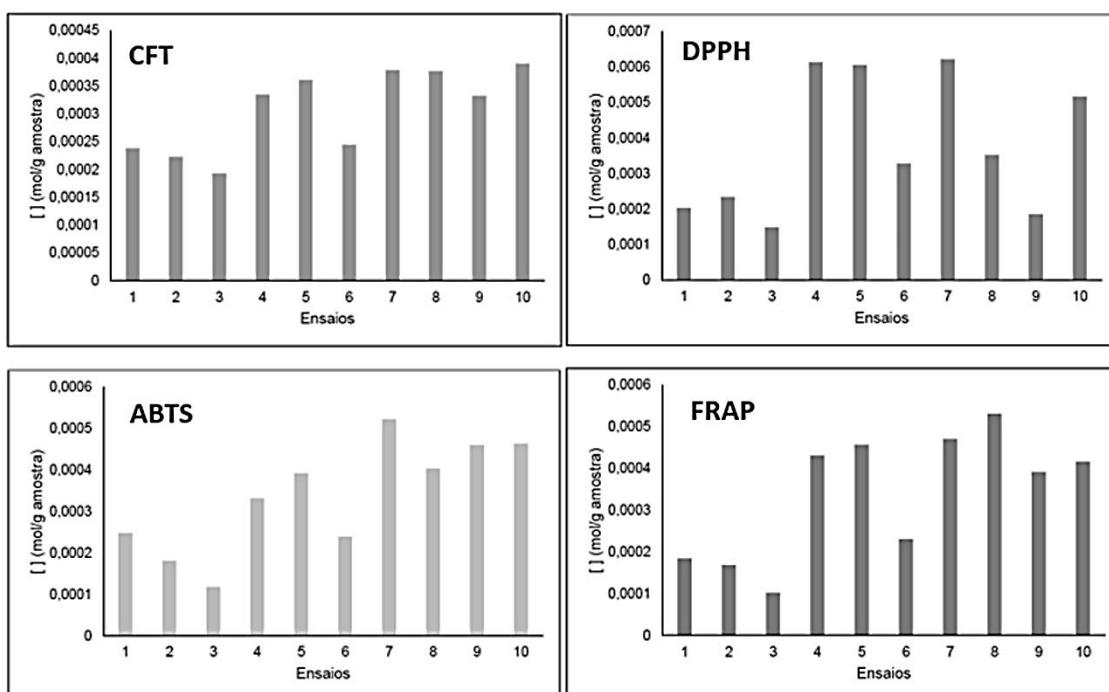


FIGURA 2 – DADOS DE CFT, DPPH, ABTS E FRAP OBTIDOS PARA OS 10 EXTRATOS.

Para o DPPH é possível perceber que os ensaios que obtiveram os melhores resultados nesse método foram o 4, 5 e 7 sendo que o ensaio 7 se sobressai aos demais. O ensaio 7 representa o extrato em que foram utilizadas iguais proporções de água, etanol e acetona. Nele foram obtidos 622 µmol/g de amostra de inibição do radical DPPH, mostrando então que foi obtido uma boa capacidade antioxidante desse extrato.

Quanto ao ABTS, o ensaio 7 obteve os melhores resultados (523 µmol/g de amostra). Ou seja, o extrato cujo as proporções foram iguais de água, etanol e acetona tiveram maior captura do radical mostrando então maior capacidade antioxidante nesse método.

No método FRAP o ensaio que obteve melhor resultado foi o 8, cuja extração foi realizada com aproximadamente 66% de água, 17% de etanol e 17% de acetona. Nesse ensaio foi adquirido 531 µmol/g de amostra de Fe²⁺, o que coloca o ensaio 8 com capacidade antioxidante mais acentuado que todos os demais nesse método.

4. CONCLUSÃO

No presente trabalho foram avaliadas diferentes misturas de solventes para a extração sólido-líquido e extração de biocompostos presentes nas folhas da gabiroba. Através dos estudos realizados é possível perceber que as misturas de solventes podem amplificar a extração de compostos bioativos em comparação com solventes comuns puros. Em comparação no desempenho geral tido nos ensaios é visto que o ensaio 7 (mistura ternária de água, etanol e

acetona) se sobressai, obtendo valores satisfatórios em todas as análises feitas.

EVALUATION OF THE EFFECT OF SOLVENT ON THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF EXTRACTS FROM *Campomanesia xanthocarpa* LEAVES

ABSTRACT: *Campomanesia xanthocarpa* is a species belonging to the Myrtaceae family and popularly known as gabiroba. Its leaves have bioactive compounds that can be extracted, such as phenolic compounds, flavonoids, tannins, saponins and essential oil. The extraction of compounds from the leaf is generally carried out using the solid-liquid extraction method (ESL), due to its better performance for extracting bioactive compounds. ESL is generally performed with pure conventional solvents such as acetone, water and ethanol, but better results can be achieved with solvent mixtures. In this context, the present work evaluated the performance of extraction carried out with different mixtures of water, ethanol and acetone. The isolated effect and binary and ternary mixtures of these solvents were evaluated. Extractions were carried out at a ratio of 1:20 (m/v, sample/solvent) and maintained at a temperature of 40 °C under continuous stirring for 40 min, totaling 10 extracts. The content of total phenolic compounds (TFC) was evaluated by the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant capacity (AC) by the DPPH, ABTS and FRAP methods. The results demonstrated that the solvent mixture during extraction influenced the CFT and CA content. It was observed that test 7, composed of equal amounts of water (33%), ethanol (33%) and acetone (34%), stood out in the DPPH and ABTS methods, with each one obtaining 622 µmol TE/g and 523 µmol TE/g of sample, respectively. Therefore, solvent mixtures can improve the extraction of bioactive compounds compared to pure common solvents.

REFERÊNCIAS

- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **ANALYTICAL BIOCHEMISTRY**, v. 239, n. 1, p. 70-76, July 1996.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- FERNANDA, S. et al. Pulp and Jam of Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Characterization and Rheological Properties. **Food Chemistry**. v. 263, n. October 2017, p. 292–299, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.004>
- MILENE ANGELO, P.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1–9, 2007.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Original Contribution antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

SANTOS, M. da S.; PETKOWICZ, C. L. O.; HAMINIUK, C. W. I.; CÂNDIDO, L. M. B. Polissacarídeos Extraídos da Gabiroba Propriedades Químicas e Perfil Reológico. **Polímeros**, v. 20, p. 352–358, 2010.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENT6S, R. M. **Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent**. [s.l]: s.n.].

VALLILO, M. I.; MORENO, P. R. H.; OLIVEIRA. E. de.; LAMARDO, L. C. A.; GARBELOTTI, M. L. Composição química dos frutos de Campomanesia xanthocarpa Berg-Myrtaceae. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 231–237, 2008.

WANG, X.; DU, X.; YU, W.; ZHANG, J.; WEI, J. Coproduction of hydrogen and methanol from methane by chemical looping reforming. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 58, n. 24, p. 10296–10306, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b01695>