

INFUSÃO AQUOSA DE FOLHAS DE PITANGUEIRA (*Eugenia uniflora*): OTIMIZAÇÃO DO MÉTODO

VICENTE GOMES WIETH¹; GIOVANA PAULA ZANDONÁ²; JÉSSICA
FERNANDA HOFFMANN³; CESAR VALMOR ROMBALDI⁴.

¹Universidade Federal de Pelotas – vicente.wieth@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – giovana.zandona@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – jessicafh91@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – cesarvrf@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

A pitangueira (*Eugenia uniflora*) é uma espécie nativa no Sul do Brasil, faz parte da família das Myrtaceae, e também é encontrada em outros países da América do Sul, como Argentina e Paraguai (FIÚZA et al., 2008). Essa espécie produz frutos ricos em compostos fitoquímicos, e as folhas têm potencial antioxidante (LENARDÃO et al., 2016; MASSARIOLI et al., 2013; SOARES et al., 2014; VICTORIA et al., 2013). Esses trabalhos deram ênfase ao estudo dos frutos (composição fitoquímica e putativas propriedades funcionais), e às folhas, nesse caso óleos essenciais (LENARDÃO et al., 2016; MASSARIOLI et al., 2013; SOARES et al., 2014; VICTORIA et al., 2013). Porém, acredita-se que as folhas tenham riqueza em compostos fitoquímicos e que esses possam ser extraídos, ao menos parcialmente, na forma de infusões, popularmente denominadas de chás.

Os chás e infusões, no cenário mundial, são as bebidas mais consumidas (FAO, 2015). De acordo com a legislação brasileira, o chá é o produto de origem vegetal, constituído por uma parte da planta, podendo ser moído, tostado ou fermentado (BRASIL, 2005a), sendo que o chá de pitangueira pode ser produzido a partir de suas folhas ou frutos (BRASIL, 2005b).

É nesse contexto que esse trabalho se insere, na perspectiva de otimizar a extração de compostos fotoquímicos em infusão aquosa de folhas de pitangueira.

2. METODOLOGIA

Coleta das folhas e obtenção das infusões

As folhas de pitangueira foram coletadas em acessos registrados no Sisgen (código: A8703BA). O material foi seco em estufa com circulação de ar (Ethink Tecnhnology®), por 72 h a 40°C e, posteriormente, as folhas foram moídas em moinho de facas (Marconi M48) com peneira de 30 mesh, resultando partículas de aproximadamente 0,595-0,600 mm.

Para a infusão foram pesados 200 mg de folhas secas em tubos Falcon® de 50 mL e adicionado volumes variados de água mineral, todos os tratamentos levados ao banho maria para haver temperatura constante durante o tempo de infusão. O solvente utilizado para a infusão foi a água mineral (Fonte da Pedra®).

Delineamento

Para avaliar o efeito dos diferentes parâmetros e otimizar as condições de extração dos compostos fenólicos, flavonoides e DPPH (variáveis respostas) em folhas de *E. uniflora*, foi empregado o método de superfície resposta (RSM) com dois níveis e três fatores (2^3), sendo eles temperatura (V1: 50 a 90°C), volume

(V2: 10 a 25mL) e tempo (V3: 5 a 30 min), sendo essas variáveis independentes codificadas de -1,68 a 1,68. O trabalho consistiu em 17 experimentos aleatorizados, com três repetições.

Fenóis Totais, Flavonoides Totais e Atividade Antioxidante (Radical DPPH[•])

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada conforme a metodologia proposta por Singleton & Rossi (1965). Os flavonoides totais foi realizado com base no método proposto por Zhishen, Mengcheng e Wu (1999). A atividade antioxidante (AA) foi realizada com o radical DPPH[•] de acordo com Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995). Todos os resultados foram expressos em mg.g⁻¹ de acordo com a curva padrão de cada compostos (ácido gálico, catequina e trolox, Sigma Aldrich®).

Análise Estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os dados foram submetidos a análise de variância no software Design Expert®, com significância de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cada experimento foi realizado de acordo com as suas respectivas variáveis independentes (temperatura, volume e tempo de extração), sendo que para cada experimento foram avaliadas as variáveis respostas (fenóis, flavonoides e DPPH) (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis do Delineamento Composto Central Rotacional e respostas

| Experimentos | Temperatura (°C) | Volume (mL) | Tempo (min) | Fenóis (mg g ⁻¹) | Flavonoides (mg g ⁻¹) | DPPH (mg g ⁻¹) |
|--------------|------------------|-------------|-------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|
| 1 | 58 | 13 | 10 | 18,11±1,62 | 11,66±0,79 | 9,1±1,03 |
| 2 | 82 | 13 | 10 | 12,29±0,58 | 10,21±1,96 | 9,2±0,90 |
| 3 | 58 | 22 | 10 | 32,31±2,49 | 13,09±2,16 | 15,6±1,78 |
| 4 | 82 | 22 | 10 | 23,87±4,03 | 12,16±3,40 | 15,6±1,68 |
| 5 | 58 | 13 | 25 | 18,98±0,88 | 9,25±0,65 | 9,2±1,03 |
| 6 | 82 | 13 | 25 | 15,88±2,19 | 9,70±4,68 | 8,8±0,86 |
| 7 | 58 | 22 | 25 | 32,45±1,86 | 13,25±3,81 | 15,7±1,72 |
| 8 | 82 | 22 | 25 | 26,41±3,88 | 11,95±2,28 | 15,6±1,45 |
| 9 | 70 | 17 | 17 | 28,95±6,31 | 14,87±4,34 | 15,50±1,61 |
| 10 | 70 | 17 | 17 | 23,97±0,32 | 13,94±0,49 | 11,98±1,15 |
| 11 | 70 | 17 | 17 | 23,68±2,48 | 12,36±0,96 | 12,08±1,35 |
| 12 | 90 | 17 | 17 | 23,20±0,94 | 11,76±0,51 | 11,97±1,17 |
| 13 | 50 | 17 | 17 | 23,65±3,87 | 12,83±0,52 | 11,81±0,96 |
| 14 | 70 | 25 | 17 | 34,42±2,93 | 21,35±1,31 | 17,98±1,93 |
| 15 | 70 | 10 | 17 | 14,36±0,74 | 12,03±0,69 | 7,11±0,75 |
| 16 | 70 | 17 | 30 | 20,19±2,51 | 11,94±1,50 | 11,36±1,41 |
| 17 | 70 | 17 | 5 | 20,61±2,76 | 12,63±0,43 | 12,04±1,35 |

Resultados expressos em média ± erro padrão; fenóis (mg g⁻¹ de ácido gálico), flavonoides (mg g⁻¹ de catequina); DPPH (mg g⁻¹ de trolox).

Com base nos resultados, pode-se observar que para a extração de compostos fenólicos totais, as maiores concentrações foram evidenciadas para os experimentos (14, 7 e 3), tendo uma variação entre todos os experimentos de 12,29 a 34,42 mg g⁻¹. Em relação ao experimento 3 e 4, onde a única variável distinta entre ambos experimentos era a temperatura de extração (58 e 82°C, respectivamente); pode-se observar diferença de 8,44 mg g⁻¹ no teor de compostos fenólicos, enquanto que flavonoides e atividade antioxidante frente o radical DPPH foi similar (Tabela 1). Isso pode indicar que temperaturas mais baixas do que 82°C, podem ter favorecido para a extração/manutenção de compostos fenólicos. Já, para os flavonoides e radical DPPH, os resultados foram semelhantes nos dois experimentos (3 e 4) (RICE-EVANS, MILLER & PAGANGA, 1998).

Quanto analisado todos os experimentos, observa-se que as concentrações mais altas de fenólicos (34,42 mg g⁻¹), flavonoides (21,35 mg g⁻¹) e DPPH (17,98 mg g⁻¹) foram encontradas no experimento 14, com temperatura, tempo de extração intermediária (70°C, 17 min) e maior volume de extração (25 mL). Gupta e colaboradores (2009) avaliaram diversas plantas tradicionais da Índia com uso medicinal, dentre elas, a *Eugenia uniflora* na qual obtiveram no extrato aquoso das folhas valores menores do que os encontrados nesses experimentos (fenólicos: 8.75 mg g⁻¹). Diniz (2013) obteve um valor próximo de 25 mg g⁻¹ de compostos flavonoides em seu extrato aquoso.

Com base nesse experimento, pode-se predizer qual seria o ponto ótimo de extração desses compostos para esse material vegetal, os quais estão apresentadas na tabela 2. Pode-se observar que os valores preditos pelo sistema se assemelham com aqueles utilizados no E14, com exceção do tempo de infusão (12,94 minutos) que é inferior daquele utilizado no E14 (17 minutos).

Tabela 2. Predição das condições ótimas de extração de compostos.

| Temperatura (°C) | Volume (mL) | Tempo (min) | Fenóis (mg g ⁻¹) | Flavonoides (mg g ⁻¹) | DPPH (mg g ⁻¹) | Desejabilidade |
|------------------|-------------|-------------|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------|----------------|
| 70 | 25 | 12,94 | 35,74 | 18,47 | 17,92 | 82,2% |

4. CONCLUSÕES

As infusões aquosas de folhas de pitangueira apresentam compostos fenólicos e flavonoides com atividade antioxidante. A partir de modelos matemáticos pode-se predizer possíveis parâmetros de extração que proporcionam obter maior quantidade de compostos. Entretanto, ainda é necessário validar o ponto ótimo de extração e, posteriormente, avaliar quais são os compostos fenólicos e flavonoides individuais presentes nas infusões aquosas de folhas de pitangueira. Essas são atividades a serem realizadas na continuidade do projeto.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do CNPq e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 454970/2014-5.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BEZERRA, I. C. F. et al. Chromatographic profiles of extractives from leaves of *Eugenia uniflora*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 28, n. 1, p. 92–101, 2018.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, 1 jan. 1995.

BRASIL. **Resolução no 277, de 22 de setembro de 2005**. Diário Oficial da União, v. 2005, p. 5, 2005a.

BRASIL. **Resolução nº 267, de 22 de setembro de 2005**. Diário Oficial da União, v. 2005, p. 20–23, 2005b.

DINIZ, T. T. G. **OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE FOLHAS DE PITANGA (*Eugenia uniflora L.*) E DE ALECRIM-PIMENTA (*Lippia sidoides Cham.*) POR EXTRAÇÃO SEQUENCIAL EM LEITO FIXO USANDO CO₂ SUPERCRÍTICO, ETANOL E ÁGUA COMO SOLVENTES**, 2013. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FAO. World tea production and trade Current and future development. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, p. 1–17, 2015.

FIÚZA, T. S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of the crude ethanol extract of *Eugenia uniflora* L. leaves. **Revista de Ciencias Farmaceuticas Basica e Aplicada**, v. 29, n. 3, p. 245–250, 2008.

GUPTA, A. D., PUNDEER, V., BANDE, G., DHAR, S., RANGANATH, I. R., & KUMARI, G. S. Evaluation of antioxidant activity of four folk antidiabetic medicinal plants of India. **Pharmacologyonline**, 200–208.

MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; MORERO, I. A. M.; ROCHA, A. A.; ALENCAR, S. M. Antioxidant activity of different pitanga (*Eugenia uniflora* L.) fruit fractions. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 11, p.288-293, 2013.

RICE-EVANS, C. P; MILLER, N. J; PAGANGA, G. STRUCTURE-ANTIOXIDANT ACTIVITY RELATIONSHIPS OF FLAVONOIDS AND PHENOLIC ACIDS CATHERINE. **Antioxidants in Health and Disease**, v. 20, p. 521, 1998.

SOARES, K. P. et al. Palmeiras (Arecaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 1, p. 113–139, 2014.

GUTIERREZ-GRIJALVA, E. P. et al. Review: dietary phenolic compounds, health benefits and bioaccessibility. **Archivos latinoamericanos de nutricion**, v. 66, n. 2, p. 87–100, 2016.

LENARDÃO, E. J; SAVEGNAGO, L.; JACOB, R. G.; VICTORIA. F. N.; MARTINEZ, D. M. Antinociceptive Effect of Essential Oils and Their Constituents: an Update Review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 27, No. 3, p. 435-474, 2016. INSTITUTO

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorometry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, 1965.

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; WU, J. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.