

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 (2³), 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 prever 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 prever 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.
- FIUZA, 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. Colorimetry 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.