

BIORREFINARIA DA AROEIRA: ANÁLISE E QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DA FOLHA DA *Schinus molle* L.

Nome do orientando¹; Nome do coautor² Nome do orientador²

¹ Vínculo institucional (Ex.: Graduando em XXX ou Mestrando em XXX ou Doutorando em XXX ou Bolsista); Tipo de projeto (Ex.: Iniciação científica – Agência de fomento); e-mail do orientando

² Formação; Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; e-mail do orientador

RESUMO

Popularmente conhecida como aroeira salsa, a espécie *Schinus molle* L. é amplamente utilizada para diversos fins, sendo um deles o uso medicinal de seus compostos bioativos, compostos que são normalmente conhecidos por possuírem atividades antifúngicas, anti-inflamatórias, cicatrizantes etc. As análises foram realizadas na folha seca da aroeira e tiveram a finalidade de realizar a quantificação dos lipídios totais ($10,8940 \pm 0,7926\%$), dos fenólicos totais ($55,33 \pm 0,005(\text{mg EAG}) \cdot \text{g}^{-1}$) e dos flavonoides ($9,67 \pm 0,057(\text{mg EQ}) \cdot \text{g}^{-1}$). A comparação com dados da literatura revelou que as amostras analisadas possuem quase o dobro de lipídios e valores estatisticamente semelhantes de fenólicos e flavonoides.

PALAVRAS-CHAVE: *Schinus molle* L.; quantificação de lipídios totais; quantificação de fenólicos totais; quantificação de flavonoides.

1. INTRODUÇÃO

A *Schinus molle* L., popularmente conhecida como aroeira salsa, pertence à família Anacardiaceae, e ocorre até mesmo em solos secos e arenosos, adaptando-se a terrenos de baixa fertilidade e pedregosos, o que auxiliar com que ela esteja presente em quase todo o território nacional, possuindo grande importância ecológica na recuperação e expansão de áreas florestais.¹

Seu uso é extremamente variado, como existe em abundância a sua queima acaba sendo a mais viável em áreas rurais como fonte energética, além disso ela possui compostos que são conhecidos popularmente no tratamento de inflamações, comprovando sua ação antioxidante.^{1,2}

As substâncias bioativas presentes na *S. molle* já são conhecidas por fornecer valor nutricional e benefícios para a saúde, sendo o último justificado pela presença de flavonoides, conhecida pela ação anti-inflamatórias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorais, antitumorais, anticancerígenas e antioxidantes, assim como a presença de fenólicos também associada a atividade antioxidante.^{3,4}

O objetivo deste trabalho foi quantificar lipídios e compostos bioativos (fenólicos totais e flavonoides) presentes nas folhas secas da *Schinus molle* L., devido sua utilização como medicamento popular, onde as quantificações realizadas foram comparadas com as análises feitas por outros autores.

2. METODOLOGIA

A biomassa estudada foi a folha seca da *Schinus molle* L., coletada em Volta Redonda (Rio de Janeiro) em março de 2017, seca a temperatura ambiente estando protegida da luz e da umidade. Uma amostra de comprovação pode ser encontrada no herbário do Instituto de Biologia da UFRJ ID: RBR 35791.

As folhas foram trituradas com um moedor de café (Cadence Di Grano) e separada por um agitador de peneiras (Bertel) em peneiras (Bertel) de mesh 10, 12, 16, 32 e 35, onde a peneira que apresentou a maior quantidade de material foi a escolhida como padrão. As análises realizadas foram quantificação de lipídios, de fenólicos totais e de flavonoides, onde todas as medidas de massa foram coletadas por balança analítica (Shimadzu ATY224).

Para a quantificação de lipídios totais, foi realizada uma triplicata onde foram adicionados, aos erlenmeyers, 10mL de clorofórmio, 20mL de metanol e um volume de água ($V_{\text{água}}$) que foi determinado de acordo com a equação 1, onde a umidade da amostra foi obtida através de uma balança de infravermelho (Shimadzu MOC-120H).

$$(1) V_{\text{água}} = \left| 8 - \frac{\% \text{umidade} \cdot m_{\text{amostra}}}{100} \right|, \text{ onde } \% \text{umidade} = \text{umidade da amostra e } m_{\text{amostra}} = \text{massa da amostra}$$

Estando as soluções preparadas, o sistema foi agitado por 30 minutos em câmara incubadora com agitação orbital (Marcini MA420), após isso foram adicionados 10mL de clorofórmio, 10mL de sulfeto de sódio 1,5% e o sistema foi agitado novamente, agora por 2 minutos. Após a formação de fase, foram transferidos para um béquer 15mL de clorofórmio, presente na camada inferior que foi filtrado rapidamente com cerca de 2g de sulfato de sódio anidro onde 5mL do filtrado foram transferidos para béqueres de peso conhecido. Os béqueres foram colocados em estufa com circulação de ar (Quimis Q314M222) a 100°C por 1h, após isso foram colocados para secar em dessecador e pesados. A porcentagem de lipídios totais foi determinada a partir da equação 2.

$$(2) \%_{Lipídios} = \frac{N \cdot 100 \cdot 4}{P}, \text{ onde } N = \text{massa no béquer}, P = \text{massa da amostra}, 4 = \text{fator de correção (0,25 do volume usado)}$$

As quantificações de bioativos são realizadas com o uso de uma solução mãe, e seu preparo consistiu basicamente em difundir a amostra em solução de etanol 70% através de um banho maria sem circulação à 70°C (Marconi MA 127) e uma centrifugação refrigerada à 10°C (Sigma3-18K), eliminação do particulado a partir de uma filtração com filtro para seringa e concentração da amostra em centrífuga concentradora (Genevac DNA-23050-A00) com recuperadora de solvente (GenevacMST-23050-B00). Em seguida, 20 mL de etanol 95% foram adicionados em cada vial, esta solução descansou por 1 dia e após isso foi filtrada com uma seringa.

Para a quantificação de fenólicos totais, foram preparados uma triplicata e um branco onde, em tubos de ensaio, adicionou-se 0,5mL da solução mãe (0,5mL de etanol 95% no caso do branco) e 2,5mL da solução de Folin 10%, os tubos foram devidamente tampados, e envolvidos com papel alumínio para serem deixados ao abrigo da luz por 3min. Foram adicionados 2mL da solução aquosa de carbonato de sódio 7,5% e todo o conjunto, com as tampas parcialmente vedadas, foi posto em banho maria à 50°C por 5min e resfriados em água corrente por 2min. O espectrofotômetro (Femto700Plus) foi programado para a absorvância de 765nm. A quantificação foi realizada com base em curva analítica de ácido gálico onde o gráfico fornecia dados de média de absorvância por concentração de equivalente de ácido gálico (EAG).

A quantificação de flavonoides também foi feita em triplicata, foram adicionados 2mL da solução mãe (2mL de etanol 95% no caso do branco) e 2mL de solução metanólica de cloreto de alumínio 2%, os tubos foram devidamente tampados, e envolvidos com papel alumínio para serem deixados ao abrigo da luz por 30min. O espectrofotômetro foi programado para a absorvância de 415nm. A quantificação foi realizada com base em curva analítica de quercetina onde o gráfico fornecia dados de média de absorvância por concentração de equivalente de quercetina (EQ).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

A peneira escolhida foi a que dispunha o material entre o mesh 16 e o 32, onde todas as análises realizadas foram com amostra triturada nestes mesh.

A quantificação de lipídios totais apresentou uma média de 10,894±0,7926% de lipídios na amostra, que se mostrou um resultado superior ao encontrado por Hosni *et al.* (2011), que foi de 5,35% para o fruto maduro da *molle*. Deve-se salientar que a comparação não é direta visto que, mesmo se tratando da mesma espécie, frutos e folhas possuem diferentes composições.⁵

A preparação da solução mãe normalmente é feita com uma proporção de 10mg da amostra concentrada para 20mL de etanol, no entanto o concentrado ficou grudado nas paredes do vial de forma que ficou impossível retirar uma porção. Para contornar tal infortúnio, seguiu-se a metodologia discorrida anteriormente, onde as concentrações obtidas foram 0,00653g.mL⁻¹ para o vial 1 e 0,007965g.mL⁻¹ para o vial 2, porém todas as análises discorridas posteriormente utilizaram apenas a concentração do vial 1, exceto a quantificação de flavonoides, que, como o resultado das absorvâncias ficaram fora do intervalo da curva analítica utilizada, o experimento foi feito novamente com a metade da concentração.

A quantificação de fenólicos totais teve o valor da concentração multiplicada por 0,5 como um fator de correção por conta do volume utilizado na análise. A equação da curva analítica utilizada foi $y = 0,0104x + 0,0688$ com $R^2 = 0,9976$, onde o valor de equivalência encontrado foi de 55,33±0,005(mg EAG).g⁻¹. Comparando com o resultado de Chirinos *et al.* (2013) que foi de 52,7±0,6(mg EAG).g⁻¹ é possível constatar que o valor foi levemente superior, entretanto, estatisticamente os valores são semelhantes visto que, tratando-se de amostras orgânicas, a composição possuirá diferenças por conta do solo, da água, do clima etc.⁶

A quantificação de flavonoides foi multiplicada por 2 como um fator de correção por conta do volume utilizado na análise. A equação da curva analítica utilizada foi $y = 0,0293x + 0,0633$ com $R^2 = 0,9941$, onde o valor de equivalência encontrado foi de 9,67±0,057(mg EQ).g⁻¹. Comparando com o resultado obtido por

Chirinos *et al.* (2013), que foi de $11,15 \pm 0,12$ (mg EQ).g⁻¹, pode-se constatar que desta vez o valor foi levemente inferior a literatura, porém, assim como foi para a quantificação de fenólicos, os valores também são estatisticamente semelhantes.⁶

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados que foram obtidos das análises de quantificação de lipídios totais, de fenólicos totais e de flavonoides se mostraram muito significativos e serão úteis para uma futura caracterização e/ou isolamento dos compostos bioativos.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa concedida. Ao Professor Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves por doar as amostras de estudo. Ao Laboratório de Pesquisa Aplicada em Alimentos e Biotecnologia e a todos os vinculados, em especial a Prof. Dra. Bruna Aparecida Souza Machado, a Katharine Valéria Saraiva Hodel e a Gabriele de Abreu Barreto, por disponibilização do laboratório e auxílio nos experimentos.

5. REFERÊNCIAS

- ¹ SILVA, D. M. **Uso de lodo de curtume na composição de substratos para produção de mudas de reflorestamento.** Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade do Oeste Paulista, Presidente, São Paulo, 2012.
- ² SANTOS, A. C. A. dos; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SANRTORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. **Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul.** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, 20(2): 154-159, 2010.
- ³ BIESALSKI, H. K.; DRAGSTED, L. O.; ELMADFA, I.; GROSSKLAUS, R.; MULLER, M.; SCHRENK, D.; WALTER, P.; WEBBER, P. **Bioactive compounds: Definition and assessment of activity.** Department of Biological Chemistry and Nutrition, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany, 2009.
- ⁴ JIMENEZ, C. I. E.; MARTINES, E. Y. C.; FONSECA, J. G. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev. Fac. Med UNAM Vol. 52 No. 2, 2009.
- ⁵ SHOSNI, K.; JEMLI, M.; DZIRI, S.; M'RABET, Y.; ENNIGROU, A.; SGHAIER, A.; CASABIANCA, H.; VULLIET, E.; BRAHIM, N. B.; SEBEI H. **Changes in phytochemical, antimicrobial and free radical scavenging activities of the Peruvian pepper tree (*Schinus molle* L.) as influenced by fruit maturation.** Laboratoire des substances naturelles, Institut National de Recherche et d'Analyse Physico-chimique (INRAP), Pole technologique de Sidi Thabet, 2020 Ariana, Tunisia, 2011.
- ⁶ CHIRINOS, R.; PEDRESHI, R.; ROGEZ, H.; LARONDELLE, Y.; CAMPOS, D. **Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region.** Instituto de Biotecnología (IBT), Universidad Nacional Agraria La Molina, 2013.