

Estudo comparativo do emprego de Reator Encamisado, Ultra-som e Maceração no preparo de extratos padronizados de *Alternanthera maritima* e avaliação da atividade antioxidante.

Belizze Zago¹, Ana Paula Teixeira², Claudia Regina F. Souza³, Wanderley Pereira de Oliveira³, Marcos José Salvador¹

¹Curso de Farmácia, DBV/IB/UNICAMP; ²IP&D/UNIVAP; ³ Depto de Ciências Farmacêuticas, FCFRP/USP.

Agência Financiadora: CNPq, FAPESP

Palavras-chave: Métodos de extração – Atividade antioxidante – *Alternanthera maritima*, Amaranthaceae

INTRODUÇÃO

Diferentes métodos de extração podem ser empregados na obtenção de extratos vegetais e a qualidade dos extratos obtidos pode variar com o procedimento de extração utilizado. Neste trabalho, procedeu-se o estudo comparativo do emprego de três métodos de extração (reator encamisado, ultra-som e maceração) no preparo de extratos padronizados de *Alternanthera maritima* (Amaranthaceae), uma planta com promissora atividade antioxidante. Os extratos foram analisados através dos procedimentos de ORAC_{FL} e DPPH e estimou-se o conteúdo de fenólicos totais solúveis daqueles que possuíram atividade anti-radical, assim como realizou-se a análise qualitativa por CLAE-UV-DAD e por ESI-MS.

MÉTODOS

O material vegetal (planta total) foi coletado em Restinga de Maricá (RJ) e uma amostra depositada no herbário da FFCLRP/USP. Após estabilização o material vegetal foi seco em estufa de ar circulante (40°C), pulverizado em moinho de faca e submetido aos métodos de extração ultra-som e extrator encamisado (30 ou 60 min. de extração T=30°C) e maceração (720 ou 1440 min. de extração, t.a.), utilizando como solventes extratores hexano, metanol e água destilada numa mesma proporção pó/solvente extrator (1:20, m/v). Os extratos foram submetidos à análise por DPPH e ORAC-FL e as atividades antioxidantes foram determinadas em concentrações entre 50 a 100 µg/mL e 25 µg/mL, respectivamente. Empregando-se o ensaio colorimétrico de redução do radical DPPH, sendo que como controle positivo utilizou-se quercetina e trolox e para o ORAC_{FL} o ensaio foi realizado através da Fluoresceína e AAPH como fontes de radicais livres e utilizou-se como substância de referência o Trolox. Para os extratos com atividade antioxidante estimou-se o seu conteúdo de fenólicos totais solúveis pelo método Folin-Ciocalteu (Leitor de Elisa λ=726 nm), e os resultados obtidos foram expressos como mg de ácido gálico equivalentes (GAE) por Kg de extrato, uma vez que se utilizou o ácido gálico como controle positivo. Os experimentos foram realizados em triplicata. Empregando a CLAE-UV-DAD, traçou-se o perfil químico dos extratos metanólicos obtidos empregando como substâncias-padrão flavonóides previamente isolados deste vegetal

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O emprego do ultra-som e do reator encamisado apresentou bom rendimento de transferência de massa em menor tempo de extração comparado com a maceração. As figuras 1, 2 e 3 representam a média do peso em massa obtidos de cada extrato. Os dados obtidos foram analisados pela análise de variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey. Os valores com P<0,05 foram considerados significativos. A porcentagem de redução do DPPH nas amostras metanólicas de concentração de 50 µg/mL e 100µg/mL foi superior a 60%. Com relação ao método ORAC_{FL} observou-se que o decaimento da fluorescência, ou seja, da capacidade de antioxidante foi melhor nas amostras de concentração 25 µg/mL. Os extratos hexânicos e aquosos não apresentaram atividade antioxidante considerável. Já o conteúdo fenólico (Tabela 1) variou entre 249,3 a 312,5mg de AGE/Kg de extrato seco. Na análise por CLAE-UV e ESI-MS (Tabela 2), pela similaridade nas mesmas condições de análise quanto ao tempo de retenção, bem como co-injecao das amostras dos extratos com as amostras padrão dos flavonoides antioxidantes vitexina (A14), 2''-O-α-L-ramnopiranosil-vitexina (A18) e 2''-O-α-D-glucopiranosil-vitexina (A19) e 5,7 diidroxi-4'-metoxiflavona-8-O-α-L-ramnosil (1→2)-C-β-D-glucopiranosídeo (A21), foi possível detectar a presença destes quatro flavonóides C- glicosilados nos extratos metanólicos obtidos nos 3 métodos de extração.

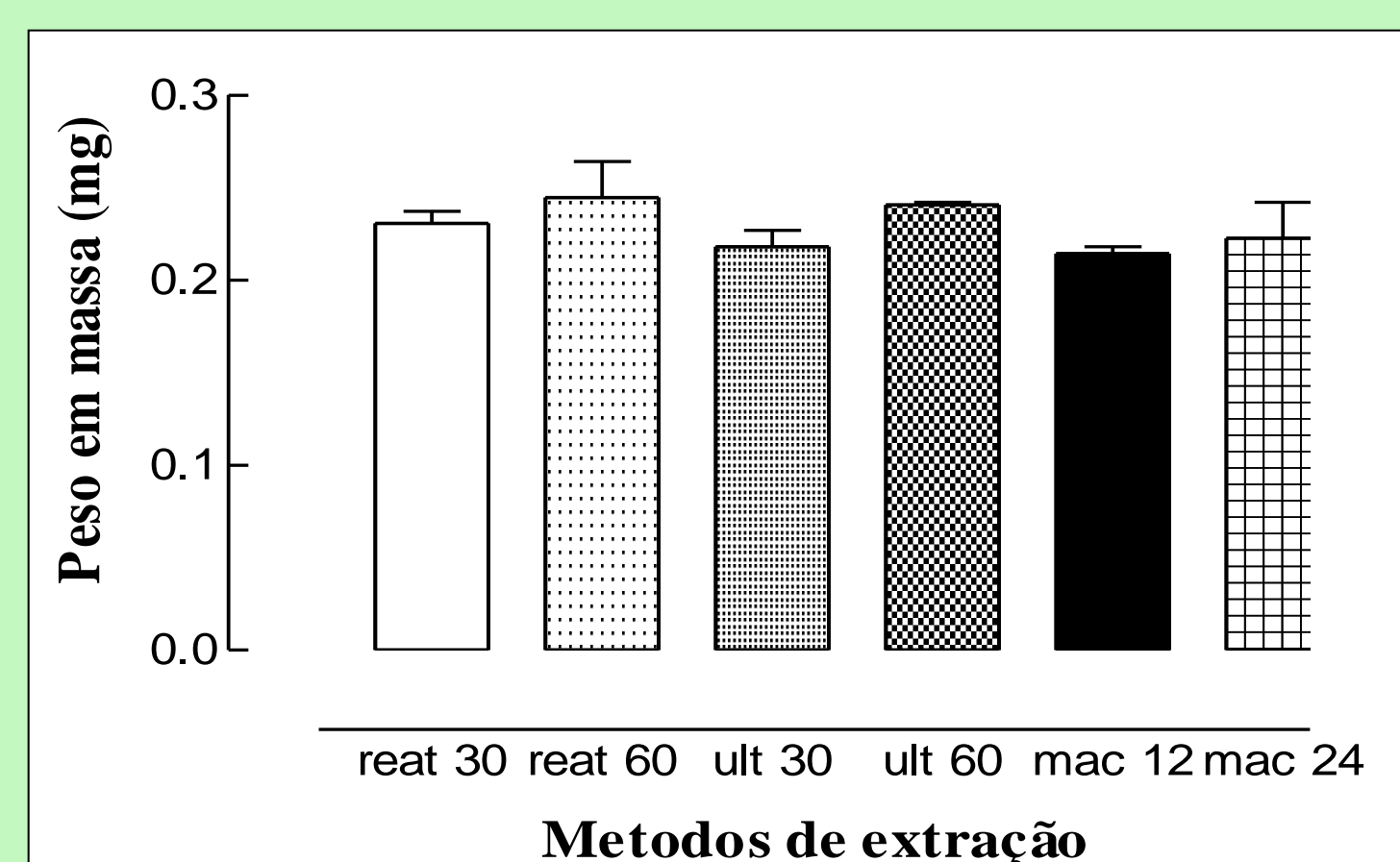


Figura 1– Peso em massa (g) dos extratos de *Alternanthera maritima* obtidos pelos 3 métodos de extração utilizando água destilada como solvente extrator.

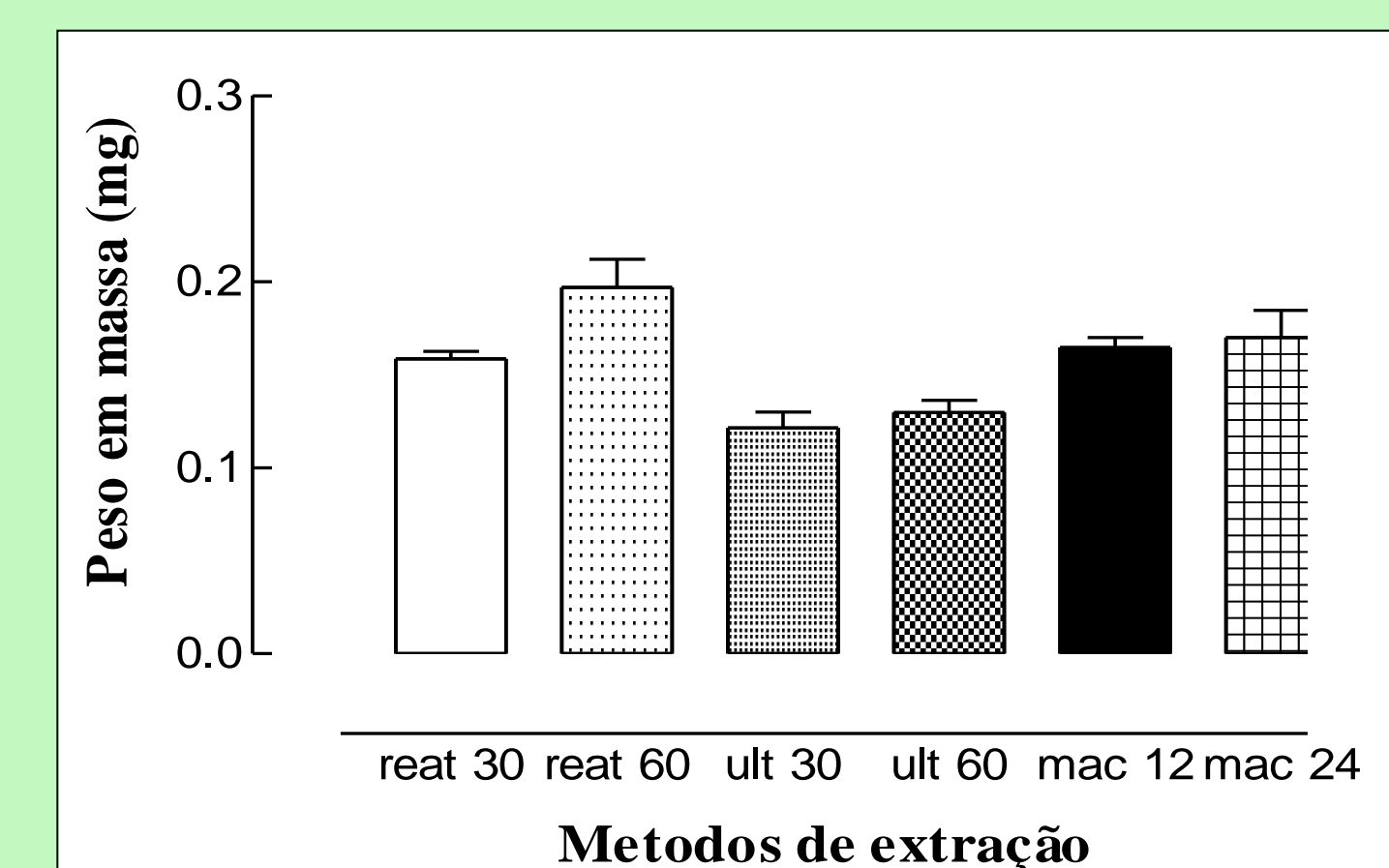


Figura 2 – Peso em massa (g) dos extratos de *Alternanthera maritima* obtidos pelos 3 métodos de extração utilizando metanol como solvente extrator.

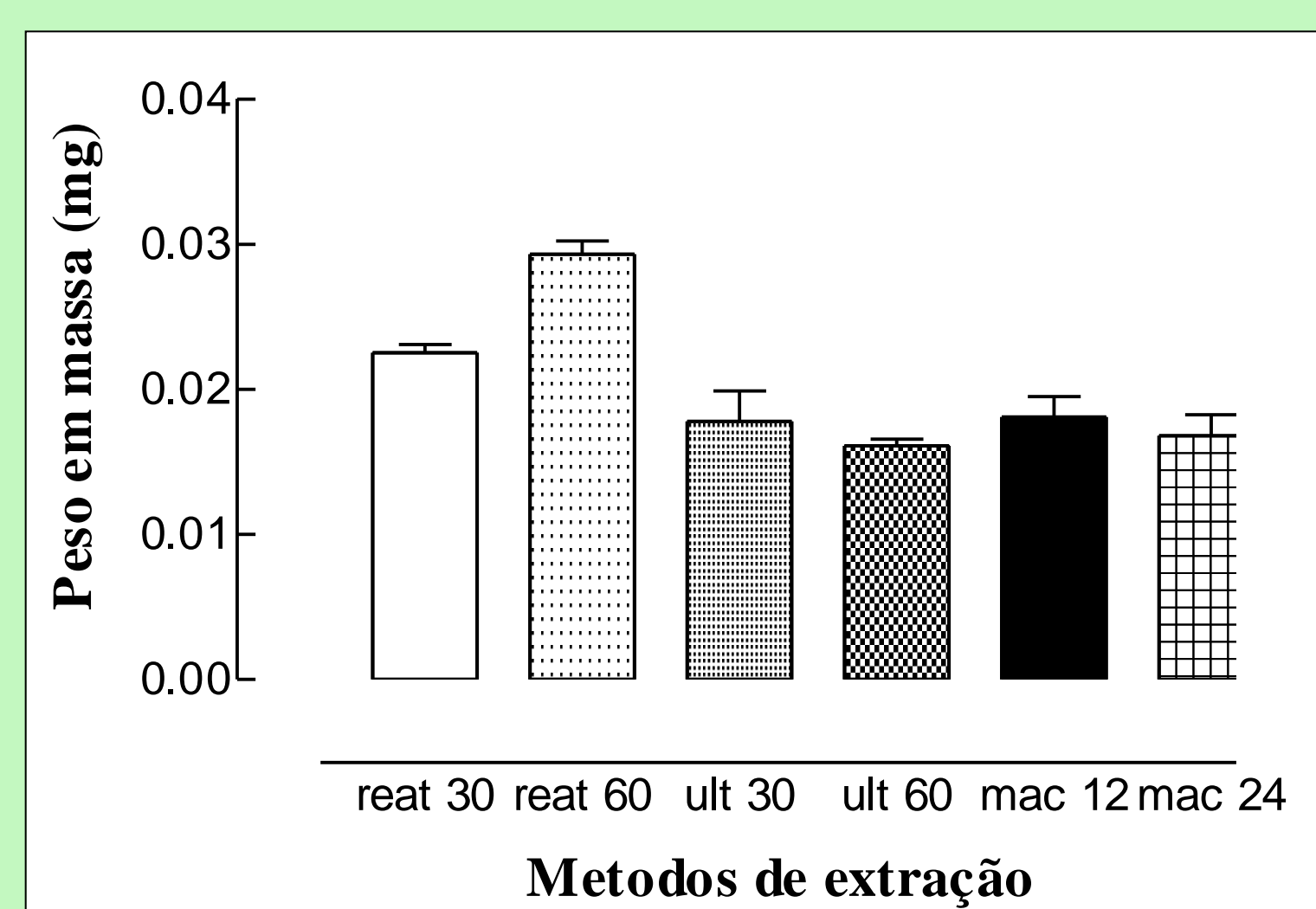


Figura 3– Peso em massa (g) dos extratos de *Alternanthera maritima* obtidos pelos 3 métodos de extração utilizando hexano como solvente extrator.

Amostra	Conteúdo fenólico ^a (GAE/g do extrato) ^b
Extratos metanólicos	
Extrator (30 minutos)	276,01 (1,40)
Extrator (60 minutos)	249,32 (1,20)
Ultra-som (30 minutos)	274,60 (1,25)
Ultra-som (60 minutos)	276,01 (1,80)
Maceração (12 horas)	312,46 (1,15)
Maceração (24 horas)	273,19 (1,90)

Tabela 1 – Conteúdo de compostos fenólicos solúveis totais dos extratos padronizados de *Alternanthera maritima*.

^a Média (%CV=coeficiente de variação= (desvio padrão/média)x100) do ensaio em triplicata.

^b Dados de fenóis expressos como miligrama de ácido gálico equivalente por grama do extrato.

Figura 5– Flavonóides identificados por CLAE e ESI-MS nos extratos metanólicos de *A. maritima* obtidos pelos três diferentes métodos de extração nos diferentes tempos.

Padrão	Rt (min) ^a	[M-H] ⁻ (m/z) [*]	US 30	US 60	RE 30	RE 60	MAC 12	MAC 24
A19	18,6	593	+/+	+/+	+/+	+/t	+/+	+/+
A18	19,4	577	+/+	+/+	+/+	+/t	+/+	+/t
A14	20,5	431	+/+	+/+	+/+	+/t	+/+	+/+
A21	22,9	591	+/t	+/t	+/t	+/-	+/t	+/t

Rt^a = valores de tempo de retenção, *[M-H]⁻ = íon molecular, +/+ = flavonóide detectados tanto no CLAE quanto no ESI-MS +/- = flavonóide detectado no CLAE e não detectado no ESI-MS; +/t= flavonóide detectado no CLAE e detectado como traço no ESI-MS.

CONCLUSÃO

- O emprego do reator encamisado e do ultra-som possibilitou uma otimização do processo de preparo dos extratos quando comparado ao método clássico de maceração;
- Os extratos metanólicos de *A. maritima* obtidos pelos três métodos de extração apresentaram promissora atividade antioxidante *in vitro* (ORAC_{FL} e DPPH) e esta atividade mostrou correlação com o conteúdo de fenólicos solúveis totais;
- A análise dos extratos por CLAE-UV e ESI-MS sugerem a presença dos flavonóides C-glicosilados vitexina (A14), 2''-O-α-L-ramnopiranosil-vitexina (A18), 2''-O-α-D-glucopiranosil-vitexina (A19) e 5,7 diidroxi-4'-metoxiflavona-8-O-α-L-ramnosil (1→2)-C-β-D-glucopiranosídeo (A21) nos extratos obtidos.