

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE EXTRATO BRUTO DE *Pereskia aculeata* Miller EM CG/EM OBTIDO PELO MÉTODO DE EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM

Cintia Neves Ramos¹, Denise Bertin Carnevall², Laura Mardigan³, Rúbia Corrêa⁴, José Eduardo Gonçalves⁵

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina, Campus Maringá/PR, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. Bolsista PIBIC/CNPq- UniCesumar. cinevesramos@gmail.com

²Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. debertin@hotmail.com

³Pesquisadora do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Maringá/PR. mardiganlaura@gmail.com

⁴Coordenadora, ⁵Orientador, Pós-Doutores, Docentes do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, UNICESUMAR. Pesquisadores do Instituto Cesumar de Ciência, Tecnologia e Inovação – ICETI, Bolsistas Produtividade em Pesquisa do ICETI. rubia.correa@unicesumar.edu.br, jose.goncalves@unicesumar.edu.br

RESUMO

As plantas, em geral, são compostas por caules, folhas, flores, raízes, possuindo uma grande variedade de compostos químicos em sua composição. A *Pereskia aculeata* Miller pertence à família das cactáceas, sendo encontrada largamente na América Central e no Brasil. Uma parte da planta contém compostos com atividades antioxidante e antiinflamatória tais como taninos, polifenóis, ácidos fenólicos, terpenos e flavonóides. O uso de compostos antioxidantes derivados de plantas, representam um avanço na manutenção do equilíbrio biológico e da indústria alimentícia. A técnica assistida por ultrassom, é um método de extração não convencional de compostos bioativos que tem se destacado e pode ser um avanço tecnológico na extração desses compostos, por apresentar baixo custo e bom rendimento, além de atender requisitos da química verde devido o controle na geração de resíduos tóxicos, baixo consumo de solvente e tempo de extração. Portanto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar os compostos bioativos extraídos das folhas de *Pereskia aculeata* Miller pelo método de ultrassom assistida, utilizando os solventes diclorometano e etanol. Através da caracterização química do extrato bruto por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas, foi possível realizar um estudo fitoquímico onde se observou uma mistura hidrocarbônica apolar rica em triacotano, esteróides, flavonóides e diterpeno. A partir dos resultados, pode se observar que a *Pereskia aculeata* Miller possui grande quantidade de compostos bioativos em sua estrutura celular, bem como o processo de extração assistida por ultrassom representa uma técnica com grande capacidade de extração de compostos bioativos.

PALAVRAS-CHAVE: Análise cromatografia; Compostos bioativos; Extração ultrassônica; Química Verde.

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais têm sido largamente utilizadas na medicina tradicional (HAO, DA-CHENG, 2019). Devido a sua composição química com alto teor proteico, vitamínico e de sais minerais, estão ligadas a manutenção da saúde (MANAF, S; et al., 2016). Dentre elas encontram-se as hortaliças não-convencionais denominadas PANCs, que não são produzidas em escala comercial e ainda são pouco exploradas no Brasil, apesar da intensa biodiversidade do país (MIRANDA, M., et al, 2009; SANTOS, I, et al., 2012; SOUZA, M., 2009; BRASIL, 2010; CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL, 2011).

Dentro das PANCs encontra-se a *Pereskia aculeata* Miller, no Brasil popularmente conhecida como ora-pro-nóbis. Trata-se de uma trepadeira arbustiva de fácil cultivo pertencente à família *Cactacea*. (BRASIL, 2010; TOFANELLI, M., RESENDE, S., 2011). As folhas da ora-pro-nóbis possuem aminoácidos essenciais, vitaminas e sais minerais, sendo, portanto, uma fonte complementar na dieta de muitos brasileiros (ALMEIDA, M., CORRÊA, A., 2012; TAKEITI, et al., 2009).

Pesquisadores têm comprovado a presença de compostos bioativos importantes em vegetais com folhas verdes, tais como: ácido ascórbico, ácido fólico, polifenóis, ácidos fenólicos, flavanóides, compostos aromáticos (KOBORI, RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; KIM, 2013). Com isso, a comunidade científica aumentou seu interesse em obter compostos fenólicos a partir de espécies de plantas medicinais, por observar seu papel vital em reduzir

processos oxidativos, devido à presença desses compostos em suas estruturas celulares, que apresentam atividades antioxidantes, antitumorais e antimutagênicas. (TUNGMUNNITHUM, D, et al., 2018; WANG et al., 2013).

Alguns métodos utilizados para a separação de compostos bioativos como alcaloides, ácidos fenólicos, triterpenóides, glicosídeos esteroidais são: refluxo, fluido supercrítico, maceração, Soxhlet, técnica assistida por microondas, técnica assistida por ultrassom (SARVIN, B., et al., 2018). Para auxiliar na boa extração desses compostos, vários solventes podem ser utilizados, a depender da sua seletividade, viscosidade, densidade, miscibilidade, recuperação, pressão de vapor, estabilidade química e térmica (HAMINIUK et al., 2012).

A análise cromatográfica é extremamente importante para a escolha de um método de extração eficiente, pois, realiza a separação, identificação e possibilita a quantificação das variadas espécies químicas presente no extrato bruto obtido das plantas, permitindo avaliar e comparar os resultados gerados em cada técnica e condição de extração escolhida (COLLINS, C., et al., 2006; SONG et al., 2019; GARMUS et al., 2015).

Com base no exposto, o presente trabalho tem por objetivo otimizar o método de extração assistida por ultrassom para separação, identificação e quantificação de compostos fenólicos nas folhas da ora-pro-nóbis. Para isto, os solventes de escolha foram diclorometano e etanol que podem apresentar eficiência na extração destes compostos e que apresentam polaridades muito diferentes.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS

2.1.1. Localização e Descrição da Área Experimental

A pesquisa foi realizada no LIABQ (Laboratório Interdisciplinar de Análise Biológicas e Química) da Universidade Cesumar – UNICESUMAR, Maringá/PR. As folhas de *Pereskia acuelata* Miller foram colhidas na fazenda Unicesumar com latitude -23.341898, longitude: -51.875253, as oito horas da manhã. Após colheita foram secas em estufa à 40 °C e moídas em moinho de faca tipo Willey SL-31.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Extração

Para o processo de extração, 1 g do material em pó seco e triturado foi extraído com 20mL de dois solventes diferentes: diclorometano e etanol, utilizando extrator assistido por ultrassom de 550 W e 40 kHz por 40 minutos na temperatura de 40 ° C. A temperatura do banho de água foi monitorada por um termômetro digital, controlado pela circulação da água ao longo do experimento. Para a separação dos resíduos sólidos do extrato, a amostra foi centrifugada a 5000 rpm por 10 minutos. A fase superior foi coletada e armazenada sob refrigeração a 7°C para posterior análise. As extrações foram realizadas em triplicata.

2.2.2. Análise por CG/EM

As análises foram realizadas em um cromatógrafo à gás - CG (Agilent 7890B), acoplado ao espectrômetro de massas - EM (Agilent 5977A MSD), operando com uma fonte de elétrons com energia de ionização de 70 eV, utilizando uma coluna capilar HP-5MS IU (30 m x 0,25 mm x 0,250 mm) recheada com fase estacionária composta de 5% de fenil e 95% dimetil polisiloxano. O volume injetado das amostras, foi de 2 µL, nas condições de

programação do forno: temperatura inicial de 50 °C sendo mantida por 3 min seguido de aquecimento de 3 °C/min até temperatura final de 300 °C, permanecendo por 10 min. A injeção das amostras foi realizada no modo split na razão 1:20 com fluxo constante de 1,0 mL min⁻¹ de Hélio como gás de arraste com a temperatura do injetor mantidas a 250 °C e a linha de transferência em 280 °C. No detector de massas a temperatura da câmara de ionização será de 230 °C a temperatura do quadrupolo de 150 °C. No espectrômetro de massas será utilizado o sistema de detecção EM no modo “scan” operando na faixa de razão massa/carga (m/z) de 40 - 600, com “solvent delay” de 3 min.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A caracterização química do extrato bruto das folhas de ora-pro-nóbis realizada em CG/EM, obtido pela extração assistida por ultrassom utilizando os solventes diclorometano e etanol, apresenta os seguintes compostos dispostos na **Tabela 1**.

Tabela 1: Identificação dos compostos voláteis encontrados na análise por Cromatografia gasosa, com o solvente diclorometano e etanol, através da amostra do extrato bruto da ora-pro-nobis.

Pico	TR (min)	Composto	% Área Relativa	
			Diclorometano	Etanol
1	28.60	3,7,11,15-Tetrametil-2-hexadecan-1-ol	1.99	
2	31.69	Ácido palmítico, éster etil	0.64	
3	33.86	Fitol	3.69	9.80
4	34.73	9,12- Ácido octadecadienoico, éster etil	2.69	
5	34.84	Oleato de etila	3.58	
6	35.30	Ácido octadecanoico, 17-metil- éster metil	0.35	
7	41.38	Etil 13-dosenoate (etil erucate)	3.46	
8	45.09	Esqualeno	0.64	1.23
9	46.04	Octadecano,3-etil-5-(2-etilbutil)		5.22
10	46.05	Heptacosano	3.83	
11	47.36	1-Monolinoleoilglicerol trimetil éter	0.44	
12	48.11	γ-Tocoferol	0.64	
13	48.64	Tetratetracontano		38.09
14	48.67	Hexatriacontano	27.28	
15	48.91	Bufa-20,22-dienolida, 3,14- dihidroxi – (3β, 5β)	0.95	
16	49.16	Vitamina E	2.80	2.20
17	49.88	Octadecano, 3 etil – 5 – (2 – etilbutil)	1.30	1.04
18	50.07	Ácido oleico, éster eicosil	0.97	1.50
19	50.28	Campesterol	2.26	3.85
20	50.69	Ácido linoleico, propil éster		3.12
21	51.08	3-etil-5-(2-etilbutil)-Octadecano		11.06
22	51.18	n.i.		1.74
23	51.40	γ-Sitosterol	10.59	18.19
24	51.59	Ácido octadecadienoico, propil éster		5.47

TR = tempo de retenção (min); n.i. = não identificado

Fonte: Autores.

A extração por banho ultrassônico é baseada na propagação de ondas sonoras e força de cavitação resultantes que provocam aumento da permeabilidade da parede celular do vegetal, o que facilita a penetração do solvente, com isso se obtém melhoria na extração dos compostos almejados (GOULA, A., 2013; OLIVEIRA et al., 2016). Segundo Bendicho *et al* (2012) e Oliveira *et al* (2016) o método é simples, de baixo custo e ainda atende à alguns dos princípios da química verde, devido a utilização de reagentes diluídos e/ou utilizados em volumes reduzidos, dessa forma, diminui a geração de resíduos e age na prevenção de riscos ambientais.

Os solventes escolhidos possuem características físico-químicas muito diferentes. O diclorometano é um composto apolar, possui viscosidade 0.45, pressão de vapor 400 mmHg a 24.1°C, densidade relativa do vapor e líquida, 2.9 e 1.322 a 20°C, respectivamente. Enquanto etanol é altamente polar, miscível em água, possui viscosidade 1.11, pressão de vapor 60 mmHg a 26°C, densidade relativa do vapor e líquida, 1.6 e 0.790 a 20°C, respectivamente. (ABNT, 2014; CETESB, 2018).

Apesar das extremas diferenças entre ambos, obteve-se os mesmos compostos bioativos, como Vitamina E, γ -Sitosterol, Campesterol, Fitol, Ácido oleico, ester eicosil, Octadecano, 3 etil - 5 - (2 - etilbutil), Esqualeno, com destaque no etanol, onde a extração foi mais efetiva para todos os compostos citados. Este fato atente aos propósitos da química verde, pois, etanol é um solvente com menor toxicidade para o meio ambiente quando comparado a outros solventes, incluindo diclorometano. (ABNT, 2014; CETESB, 2018).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com Sujhata *et al* (2017), compostos bioativos de modo geral têm as seguintes características: atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena, atividade androgênica, dermatotogênica, hipocolesterolêmico, coletérico, propriedades antioxidantes, antitumorais, antiespasmódico, vasodilatador, antidiabético, hepatoprotetor, hipoglicêmico, antihepatotóxico. Sendo então, de alto interesse farmacológico e para a indústria alimentícia.

Os resultados obtidos da extração pelo método de ultrassom assistida, apontam que através desse método e solventes utilizados, se obtém boas fontes de compostos bioativos. Bem como houve destaque para o solvente etanol, onde a área relativa foi maior para todos os compostos extraídos semelhantes ao diclorometano. Logo, o método e condições escolhidas para a extração de compostos bioativos das folhas de ora-pro-nóbis, demonstram eficiência para o propósito exposto, além de atender requisitos da química verde.

REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 14725-4:2014. **Produtos químicos: Informações sobre segurança, saúde e meio ambiente.** Parte 4: Ficha de informações de segurança de produtos químicos (FISPQ). 2014.

ALMEIDA, M., CORRÊA, A. Utilização de cactáceas do Gênero *Pereskia* na alimentação humana em um município de Minas Gerais. **Ciência Rural**, vol. 42, num. 4, pag. 751- 756, Santa Maria, April, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000400029>. Acesso em: 20/07/2021.

BENDICHO, C., CALLE, I., PENA, F., COSTAS, M. CABALEIRO, N., LAVILLA, I. Ultrasound-assisted pretreatment of solid samples in the context of green analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 31, pag. 50–60, 2012. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.06.018>. Acesso em: 20/07/2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Corporativismo. **Manual de hortaliças não-convencionais.** P 62, 2010.

CETESB. Campanha Ambiental do Estado de São Paulo. **Ficha de Informação de Produto Químico.** 2018.

COLLINS, C.; BRAGA, G., BONATO, P. Fundamentos de cromatografia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. Vol. 42, Num. 02, April/June, São Paulo. In: Fundamentos de cromatografia. [S.l.]: Unicamp, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000200018>. Acesso em: 20/07/2021.

CONSERVAÇÃO INTERNACIONAL. Megadiversidade. 2011. Disponível em: <http://www.conservation.org.br/como/index.php?id=11>. Acesso em: 20/07/2021.

GARMUS, T., PAVIANI, L. Extraction of phenolic compounds from pepper-rosmarin (*Lippia sidoides* Cham.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**. Vol. 99, 68-75, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.01.016>. Acesso em: 20/07/2021.

GOULA, A. Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil - Kinetic modeling. **Journal of food Engineering**. Vol. 117, pag. 492-498, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.10.009>. Acesso em: 20/07/2021.

HAMINIUK, C, W, I., MACIEL, G, M., PLATA-OVIEDO, M, S, V., PERALTA, R, M. Phenolic compounds in fruits: an overview. **International Journal of Food Science + Technology**. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03067.x>. Acesso em: 20/07/2021.

HAO, DA-CHENG. Genomics and Evolution of medicinal Plants. **Ranunculales Medicinal Plants**. Biodiversity, Chemodiversity and Pharmacotherapy. Pag. 1-33, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814232-5.00001-0>. Acesso em: 20/07/2021.

KIM, S; CHO, AH.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, v.29, n.1, p.112-120, 2013. Available in: <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1016%2Fj.foodcont.2012.05.060>. Acesso em: 20/07/2021.

KOBORI, C., RODRIGUEZ, A., DELIA, B. Uncultivated Brazilian Green leaves are richer sources of carotenoids than are commercially produced leafy vegetables. **Food and Nutrition Bulletin**, v.29, n.4, p.320-328, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1177%2F156482650802900408>. Acesso em: 20/07/2021.

MANAF, S.; MOHD, H.; DAUD.; ALIMON, A.; MUSTAPHA, N.; HAMDAN, R.; MUNIADY, K.; MOHAMED, N.; RAZAK, R.; HAMID, N. The Effects of Vitex trifolia, Strobilanthes crispus and Aloe vera Herbal-mixed Dietary Supplementation on Growth Performance and Disease Resistance in Red Hybrid Tilapia (*Oreochromis* sp.). **Journal of Aquaculture Research & Development**. Vol. 7, ISSUE 4, 2016. DOI: 10.4172/2155-9546.1000425.

MIRANDA, M. O potencial da Ora-pro-nóbis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, vol. 4, num. 2, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em: 20/07/2021.

MURRAY, K. K.; BOYD, R. K.; EBERLIN, M. N.; LANGLEY, G. J.; LI, L.; NAITO, Y. Definitions of terms relating to mass spectrometry (IUPAC Recommendations 2013). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 7, p. 1515–1609, 2013.

OLIVEIRA, R.; ROCHA, J.; PINHEIRO, K.; MENDONÇA, M.; BARÃO, C. Aplicação de processo ultrassom na extração de catequinas dos resíduos de chá verde. **Brazilian Journal of Food Research**. v. 7, n. 3, p. 29-40, Campo Mourão, 2016.

SANTOS, I., PEDROSA, M., CARVALHO, O., GUIMARÃES, C., SILVA, L. Ora-pro-nóbis: da cerca à mesa. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais –EPAMIG**. Circular Técnica, num.177, dezembro, 2012. ISSN 0103-4413. Disponível em: <http://www.epamig.br/download/circular-tecnica-177/> . Acesso em: 20/07/2021.

SARVIN, B, FDOROVA, E., SHPIGUN, O., TITOVA, M., NIKITIN, M., KOCHKIN, D., RODIN, I., STAVRIANIDI. LC-MS Determination of steroidal glycosides from *Dioscorea deltoidea* Wall cell suspension culture: Optimization of pre-LC-MS procedure parameters by Latin Square design. **Journal of Chromatography B**. Vol. 1080, pag. 64-70, March, 2018. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.02.012>. Acesso em: 20/07/2021.

SHARIF, K., RAHMAN, M., ZAIDUL, I., JANNATUL, A., AKANDA, M. Pharmacological Relevance of Primitive Leafy *Cactuses Pereskia*. **Research Journal of Biotechnology**. Vol. 8(12), Pag. 134-142, 2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Mohammad_Sharif_Khan/publication/261722251_Pharmacological_Relevance_of_Primitive_Leafy_Cactuses_Pereskia/links/545ea8aa0cf2c1a63bfc20b3/Pharmacological-Relevance-of-Primitive-Leafy-Cactuses-Pereskia.pdf. Acesso em: 20/07/2021.

SONG, L. *et al.* Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (SONG, L. *et al.* Supercritical CO₂ fluid extraction of flavonoid compounds from Xinjiang jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) leaves and associated biological activities and flavonoid compositions. **Industrial Crops and Products**. Vol. 139, 2019. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111508>. Acesso em: 20/07/2021.

SOUZA, M., CORREA, E., GUIMARÃES, G., PEREIRA, P. Potencial da ora-pro-nobis na diversificação da produção agrícola familiar. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p.3550–3554, 2009. Disponível em: <http://revistas.aba-agroecologia.org.br/index.php/rbagroecologia/article/view/9145/6385>. Acesso em 20/07/2021.

SUJHATA, P., EVANJALINE, M., MUTHUKUMARASAMY, S., MOHAN, V., Determination of bioactive components of *Barleria Courtallica* Nes (Acanthaceae) by gas chromatography-mass spectrometry analysis. **Asian Journal of Pharmaceutical Clinic and Research**. Vol 10, Issue 6, p 273-283, 2017.

TAKEIT, C. ANTONIO, G., MOTTA, E., COLARES-QUEIROZ, F. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Science and Nutrition**. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, vol 60 (1, Suppl 1), pag. 148-160, Campinas, 2009. PMID:19468927. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/09637480802534509>. Acesso em: 20/07/2021.

TOFANELLI, M.; RESENDE, S. Sistemas de condução na produção de folhas de Ora-pro-nóbis. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. **Goiania**, vol. 41, num. 3, pg.466-469, jul./set. 2011. ISSN: 1517-6398. Disponível em: <https://doi.org/10.5216/pat.v41i3.12497>. Acesso em: 20/07/2021.

TUNGMUNNITHUM, D; THONGBOONYOU, A.; PHOLBOON, A.; YANGSABAI, A.
Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and
Medical Aspects: An Overview. **Medicines**. C. 5, p .93; 2018. Available in:
<https://doi.org/10.3390/medicines5030093>. Acesso em: 20/07/2021.

WANG, H.; LIU, Y.; QI, Z. ; WANG, S. ; LIU, S. ; WANG, H.; XIA, X.. An overview on
natural polysaccharides with antioxidant properties. **Current Medicinal Chemistry**, vol.
20, num. 23, 2899-2913, 2013.