

## Avaliação da influência da temperatura de secagem na atividade antioxidante de folhas de leucena

## Evaluation of drying temperature influence on antioxidant activity of leucine leaves

### RESUMO

A *Leucaena leucocephala*, a leucena, é uma planta exótica invasora, utilizada principalmente na alimentação de animais. Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante e o teor de fenólicos totais das folhas de leucena *in natura* e secas sob diferentes temperaturas (40, 50, 60, 70 e 80 °C). O material vegetal foi submetido à extração com etanol e água, sendo, posteriormente, analisada a sua capacidade antioxidante, através do método de redução do radical DPPH. A determinação do conteúdo fenólico foi realizada com o reagente Folin Ciocalteu. O extrato foliar aquoso apresentou a maior atividade antioxidante (695,52  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ ) e de conteúdo fenólicos (104,29 mg EAG  $\text{g}^{-1}$ ) no conjunto das amostras analisadas. Foi observada perda da capacidade antioxidante, assim como do teor de fenólicos, com o incremento da temperatura de tratamento das folhas de leucena, a despeito do solvente extrator. Os resultados obtidos indicam que a leucena possui potencial antioxidante, sendo passível a sua aplicação nos setores farmacêuticos e de cosméticos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fabaceae. Plantas invasoras. Radicais livres.

### ABSTRACT

*Leucaena leucocephala*, the leucine, is an invasive exotic plant used mainly for animal feeding. This study aimed to evaluate the antioxidant capacity and total phenolic content of fresh and dried leucena leaves under different temperatures (40, 50, 60, 70 and 80 °C). The plant material was subjected to extraction with ethanol and water, and then its antioxidant capacity was analyzed by the DPPH radical reduction method. Phenolic content was determined with Folin Ciocalteu reagent. The aqueous leaf extract showed the highest antioxidant activity (695.52  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ ) and phenolic content (104.29 mg EAG  $\text{g}^{-1}$ ) in all analyzed samples. Loss of antioxidant capacity as well as phenolic content was observed with increasing treatment temperature of leucena leaves, despite the extraction solvent. The results obtained indicate that leucena has antioxidant potential, being applicable to the pharmaceutical and cosmetic industry.

**KEYWORDS:** Fabaceae. Invasive plants. Free radicals.

**Hellen Melo Barbosa**  
[hellen.mb@outlook.com](mailto:hellen.mb@outlook.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Gracielle Johann**  
[graciellej@utfpr.edu.br](mailto:graciellej@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Miriam Domingues Guimarães**  
[miriamguimaraes@alunos.utfpr.edu.br](mailto:miriamguimaraes@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Paula Fernandes Montanher**  
[paulamontanher@utfpr.edu.br](mailto:paulamontanher@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

**Recebido:** 19 ago. 2019.

**Aprovado:** 01 out. 2019.

**Direito autorial:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



## INTRODUÇÃO

A Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB), estabelecida em 1992 durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento (CNUMAD), realizada no Rio de Janeiro, define espécie exótica invasora como uma espécie que se encontra fora da sua área de distribuição natural, possuindo alto potencial de dispersão, assim como de colonizar e de dominar os ambientes invadidos.

A *Leucaena leucocephala*, comumente conhecida como leucena, é uma relevante leguminosa pertencente à família da Fabaceae, nativa da América Central e da Península de Yucatán (México), apresenta alta resistência à seca e alto valor nutritivo, sendo suas folhas ricas em proteína (WAN; WANG, 2018). A leucena, segundo Nehdi et al. (2014), pode ser utilizada para diversos fins, como na forragem para animais, produção de celulose e de madeira, na medicina tradicional e na alimentação. Além disso, o óleo extraído da semente dessa leguminosa apresenta uma qualidade aprazível e odor agradável, sendo também, rico em ácido linoleico, tocoferóis e  $\alpha$ -tocoferol e, conseqüentemente, em vitamina E. Essa, em associação à sua característica de absorção na faixa do ultravioleta, incute a sua utilização em indústrias de cosméticos e farmacêuticas.

Desta maneira, a leucena apresenta características que a torna uma fonte de matéria prima viável a aplicação em diferentes setores. Devido ao interesse do mercado em fontes naturais de antioxidantes, e as constantes descobertas de plantas como fontes destes, este estudo visa constatar a utilização da leucena para este fim.

Neste cenário, ao explorarem o tratamento de desidratação e o solvente utilizado para o preparo de extratos de folhas de oliveira Coratina, tratando as variáveis de forma independente, observou-se que ambas possuem influência na atividade antioxidante dos extratos (DIFONZO et al., 2017). A interferência resultante do processo de desidratação foi maior nas folhas secas ao ar quente, seguida das folhas liofilizadas. O solvente utilizado para extração que apresentou melhor eficiência foi o etanol/água (30:70 v/v). A temperatura de secagem como um fator capaz de influenciar a capacidade antioxidante de plantas também foi analisado na secagem das folhas de espinheira-santa (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009). Ao submeterem os extratos aos métodos de fosfomolibdênio e de DPPH, os autores concluíram que a temperatura utilizada no processo de secagem das folhas influencia diretamente a atividade antioxidante, visto que na temperatura de 40°C foram obtidos os maiores valores de atividade antioxidante (0,248 em poder antiradical e 4,02  $\mu\text{g mL}^{-1}$  na medida de IC<sub>50</sub>), e conforme o aumento da temperatura houve uma redução da atividade antioxidante.

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da temperatura de secagem na atividade antioxidante dos extratos das folhas de leucena, e, com isso, fomentar pesquisas futuras relacionadas à obtenção de extratos antioxidantes, a partir de leucena, que é uma espécie arbórea exótica e invasora.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes químicos utilizados foram 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) da Sigma Aldrich, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-ácido carboxílico (Trolox), Folin-Ciocalteu reagente de fenol da Dinâmica, ácido gálico da Vetec, álcool metílico (metanol), álcool etílico anidro (etanol) e água destilada.

As folhas de *Leucaena leucocephala* foram colhidas entre os meses de abril a maio de 2019, na cidade de Dois Vizinhos, Paraná. Para o presente estudo foram desenvolvidas amostras de folhas secas e *in natura*. As folhas foram secas em temperaturas de 40, 50, 60, 70 e 80 °C em uma estufa de circulação de ar até o equilíbrio. Após a secagem, foram submetidas a moagem em moinho de facas e peneiradas em peneira granulométrica (35 mesh), afim de se obter amostras homogêneas. A amostra referente a folha *in natura* foi macerada com pistilo e gral. Aproximadamente 2 g de cada amostra foi homogeneizada em 20 mL de solvente. Os solventes utilizados foram etanol e água destilada. Após a adição destes as amostras foram submetidas por 15 minutos a cuba de ultrassom. Para homogeneização final das amostras, utilizou-se agitado tipo vortex por cinco minutos.

Todos os extratos foram realizados em duplicatas, desta forma, para cada amostra de folhas secas e *in natura* foram desenvolvidos quatro extratos, dois aquosos e dois etanólicos. A utilização de dois solventes diferentes, permite a análise da capacidade de extração de cada um destes.

A metodologia adotada para a análise da capacidade de redução do DPPH foi o descrito por Brand - Williams, Cuvelier e Berset (1995) com modificações. Para o ensaio foram utilizadas 25 µL das soluções dos extratos, 2 mL de solução metanólica de DPPH  $6,25 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. As soluções foram mantidas no escuro e em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos, sendo realizadas em triplicatas. Após esse período, as absorvâncias das soluções foram lidas em um espectrofotômetro Uv-Vis a 517 nm, utilizando-se uma cubeta de vidro. Para a construção da curva de calibração foi utilizado solução metanólica de Trolox de concentrações conhecidas entre 0 a 2000 µmol L<sup>-1</sup>. Obteve-se a Eq. (1):

$$y = 0,8917 - 11,428 x, r^2 = 0,997 \quad (1)$$

Através da qual os resultados obtidos foram então expressos em µmol equivalente de Trolox (ET) por g de amostra seca.

Para a análise do conteúdo de fenólicos totais uma solução do reagente de Folin-Ciocalteu diluída em água destilada (1:1 v/v) foi preparada. A uma fração de 250 µL dos extratos foi adicionado 250 µL da solução do reagente de de Folin-Ciocalteu, 500 µL de uma solução saturada de carbonato de sódio e 4 mL de água destilada. As amostradas foram feitas em triplicatas, mantidas em repouso por 25 minutos, sendo posteriormente centrifugadas por 10 minutos a 3000 rpm. A leitura da absorvância foi realizada em um espectrofotômetro Uv-Vis a 725 nm.

Soluções metanólicas de ácido gálico em concentrações conhecidas no intervalo de 0 a 250 mg L<sup>-1</sup> foram utilizadas para a elaboração da curva, obtendo-se a Eq. (2):

$$y = -0,0084 + 26,163 x, r^2 = 0,997 \quad (2)$$

Substituindo os valores das absorvâncias das amostras na Eq. (2), os resultados obtidos passam a ser expressos em mg equivalente de ácido gálico (EAG) por 1 g de amostra seca.

## RESULTADOS E CONCLUSÃO

Os resultados da atividade antioxidante obtidos nas condições experimentais avaliadas e o desvio padrão estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Capacidade antioxidante pelo método de redução do radical DPPH

Temperatura de secagem	Extrato aquoso ( $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ )	Extrato etanólico ( $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ )
Leucena <i>in natura</i>	695,52 $\pm$ 13,99	645,50 $\pm$ 5,08
40°C	51,20 $\pm$ 0,38	86,46 $\pm$ 5,39
50°C	39,77 $\pm$ 1,23	68,96 $\pm$ 0,98
60°C	43,73 $\pm$ 0,03	46,79 $\pm$ 3,05
70°C	49,86 $\pm$ 1,66	28,87 $\pm$ 0,16
80°C	48,97 $\pm$ 0,33	19,01 $\pm$ 0,27

Fonte: Autoria própria (2019).

Independentemente do solvente extrator, houve perda do potencial antioxidante com o aumento da temperatura de pré-tratamento das folhas de leucena. Para os extratos etanólicos das folhas, o incremento da temperatura de secagem ocasionou diminuição na capacidade antioxidante determinada por DPPH. Desta forma, a temperatura foi um fator de influência na capacidade antioxidante da leucena, pois as folhas secas sob 40 °C apresentaram redução de 86,6% da capacidade antioxidante em relação a amostra *in natura*, e de aproximadamente 97% quando seca sob 80 °C. Os extratos etanólicos apresentaram decaimento linear com a temperatura de pré-tratamento das folhas, o mesmo não pode ser observado nos extratos aquosos. No entanto, a capacidade antioxidante do extrato aquoso das folhas de leucena *in natura* foi de 695,52  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$  valor superior ao encontrado no extrato etanólico (645, 50  $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ ).

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de compostos fenólicos. A partir dos valores da Tabela 1 e da Tabela 2 observa-se que, conforme esperado, houve uma correlação direta entre a quantificação de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante.

Tabela 2 – Conteúdo de fenólicos totais

Temperatura de secagem	Extrato aquoso (mg EAG $\text{g}^{-1}$ )	Extrato etanólico (mg EAG $\text{g}^{-1}$ )
Leucena <i>in natura</i>	104,29 $\pm$ 0,20	85,10 $\pm$ 0,29
40°C	5,55 $\pm$ 0,18	7,56 $\pm$ 0,03
50°C	5,09 $\pm$ 0,09	6,40 $\pm$ 0,13
60°C	4,32 $\pm$ 0,16	5,57 $\pm$ 0,48
70°C	5,53 $\pm$ 0,44	5,49 $\pm$ 0,07
80°C	6,56 $\pm$ 0,20	3,94 $\pm$ 0,22

Fonte: Autoria própria (2019).

Para a análise de conteúdo de fenólicos totais, o extrato aquoso das folhas *in natura* apresentou o maior valor (104,29 mg EAG g<sup>-1</sup>) em comparação com o extrato etanólico (85,10 mg EAG g<sup>-1</sup>). Esse comportamento era esperado, devido ao fato de as folhas *in natura* apresentarem maior quantidade de água livre, e o extrato aquoso favorecer, portanto, a extração devido à disponibilidade dos compostos fenólicos. Já para os extratos preparados a partir de folhas secas a 40, 50 e 60 °C, o conteúdo de fenólicos totais diminuiu conforme houve o aumento da temperatura (5,55, 5,09 e 4,32 mg EAG g<sup>-1</sup>, respectivamente). A perda do conteúdo de compostos fenólicos com o aumento da temperatura de secagem pode ser resultado da ligação destes com proteínas, ou das alterações da estrutura devido à secagem (QU; PAN; MA, 2010). Entretanto, para a extração aquosa das folhas secas a 70 °C, houve aumento pontual nos valores da capacidade antioxidante e conteúdo de fenólicos totais. Esse resultado pode estar relacionado ao rompimento de vacúolos celulares, ocorrido em temperaturas elevadas, como 70 °C, o que disponibilizaria os compostos fenólicos solúveis para extração aquosa (FAULDS; WILLIAMS, 1999).

A influência da temperatura na atividade antioxidante e no conteúdo de fenólicos totais das folhas de leucena estão de acordo com os obtidos na análise dos extratos de tomilho fresco, 8,78x10<sup>4</sup> mol EAG mL<sup>-1</sup>, e seco, 6,46x10<sup>4</sup> mol EAG mL<sup>-1</sup> (THAMER et al., 2018). Segundo os autores, a diminuição da atividade antioxidante e o teor de fenólicos, com o aumento da temperatura de secagem ocorre em função dos compostos serem termossensíveis. Por sua vez, Reis et al. (2013) ao avaliarem os mesmos parâmetros para a *Capsicum chinense* Jacq., comumente conhecida como pimenta do Pará, obtiveram como resultado a redução da atividade antioxidante e no conteúdo de compostos fenólicos ao compararem o conteúdo da pimenta fresca e após submetê-la a três diferentes temperaturas de secagem (45, 55 e 65 °C). Tais resultados corroboram com os dados deste trabalho.

Desta forma, conclui-se que o aumento da temperatura de secagem ocasionou uma redução na quantificação dos compostos fenólicos e na atividade antioxidante da planta. A folha *in natura* apresentou os maiores valores para as condições avaliadas. Os melhores resultados para ambos os testes foram obtidos com a extração aquosa, 695,52 µmol ET g<sup>-1</sup> para a atividade antioxidante e de 104,50 mg EAG g<sup>-1</sup> para o conteúdo total de fenólicos. Dentre as amostras foliares submetidas a secagem, o extrato etanólico preparado das folhas secas a 40 °C demonstrou maior atividade antioxidante e de conteúdo fenólico (86,46 µmol ET g<sup>-1</sup> e 7,56 mg EAG g<sup>-1</sup>). Desta maneira, a temperatura de 40 °C apresentou menor influência nas condições experimentais consideradas.

Assim, a leucena é uma considerável fonte para a extração de compostos antioxidantes e fenólicos. De modo que a sua utilização na indústria pode ser uma alternativa tanto para o controle desta espécie exótica invasora, quanto para agregar valor aos seus resíduos foliares.

#### AGRADECIMENTOS

A Fundação Araucária FA - Paraná/Brasil pela bolsa concedida.

#### REFERÊNCIAS

ANDRADE, C. A. et al. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex. G. don, leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 231–235, 2007.

BRAND - WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1995.

DIFONZO, G. et al. Green extracts from Coratina olive cultivar leaves: Antioxidant characterization and biological activity. **Journal of Functional Foods**, v. 31, p. 63–70, 2017.

FAULDS, C. B.; WILLIAMS, G. The role of hydroxycinnamates in the plant cell. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 3, p. 393–395, 1999.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 553–556, 2009.

NEHDI, I. A. et al. *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit seed oil: Characterization and uses. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 582–587, 2014.

QU, W.; PAN, Z.; MA, H. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 1, p. 16–23, 2010.

REIS, R. C. et al. Effect of drying temperature on the nutritional and antioxidant qualities of Cumari peppers from Pará (*Capsicum chinense* Jacqui ). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 02, p. 337–343, 2013.

SANTOS, L. DE O. DOS. et al. Avaliação da Atividade Antioxidante dos Compostos Fenólicos Presentes na *Amburana cearensis*. **Orbital: Electron. J. Chem.**, v. 8, n. 1, p. 44–49, 2016.

THAMER, F. H. et al. The effect of drying temperature on the antioxidant activity of thyme extracts. **J Food Technol Pres**, v. 2, n. 3, p. 15–19, 2018.

WAN, J.Z.; WANG, C.J. Expansion risk of invasive plants in regions of high plant diversity: a global assessment using 36 species. **Ecological Informatics**, v. 46, p. 8–18, 2018.