



Correlação entre a atividade antioxidante e a quantificação de fenólicos de extratos das folhas da espécie *Baccharis punctulata* DC

Correlation between antioxidant activity and quantification of phenolics from leaf extracts of Baccharis punctulata DC

Jaqueline Rosa dos Santos Refati*, Jociani Ascari†

RESUMO

O presente trabalho apresenta a correlação da atividade antioxidante e a quantificação de fenólicos totais e flavonoides para extratos das folhas da espécie *Baccharis punctulata*. Estabeleceu-se a correlação entre os resultados obtidos por meio do conceito estatístico de correlação de Pearson, com a ferramenta Excel. Foram um total de quatro amostras diferentes, obtidas por através de extração ácido-base, utilizando-se sequência de solventes: clorofórmio, acetato de etila e acetato de etila e metanol (1:1) em meio básico e acetato de etila em meio ácido. A caracterização química foi realizada em trabalho anterior e utilizada para corroborar os resultados de quantificações apresentados. Todas as análises foram realizadas em triplicata em leitor de microplacas Elisa. Foi possível concluir que todas as amostras analisadas possuem atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonoides em diferentes concentrações, assim como uma correlação positiva entre as mesmas, o que faz da espécie em estudo promissora para continuidade dos trabalhos buscando moléculas bioativas.

Palavras-chave: antioxidantes, fenólicos, flavonoides, correlação de Pearson, *Baccharis punctulata*.

ABSTRACT

The present work presents the correlation of the antioxidant activity and the quantification of total phenolics and flavonoids for extracts from the leaves of the *Baccharis punctulata* species. Correlation was established between the results obtained through the statistical concept of Pearson's correlation, with the Excel tool. There were a total of four different samples, obtained through acid-base extraction, using a sequence of solvents: chloroform, ethyl acetate and ethyl acetate and methanol (1:1) in a basic medium and ethyl acetate in an acid medium. The chemical characterization was carried out in a previous work and used to corroborate the presented quantification results. All analyzes were performed in triplicate in an Elisa microplate reader. It was possible to conclude that all analyzed samples have antioxidant activity, phenolic compounds and flavonoids at different concentrations, as well as a positive correlation between them, which makes the species under study promising to continue the work in search of bioactive molecules.

Keywords: Antioxidants, phenolics, flavonoids, Pearson correlation, *Baccharis punctulata*

1 INTRODUÇÃO

* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; jaquel_rosa@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; jascari@utfpr.edu.br



As substâncias químicas que possuem propriedades antioxidantes, são aquelas que têm a capacidade de proteger organismos dos danos causados por radicais livres. Dentre os metabólitos secundários presentes em plantas que possuem propriedades antioxidantes estão os compostos fenólicos com destaque aos flavonoides [1]. Os metabólitos secundários são substâncias específicas para proteção de stress abióticos e bióticos, como formação de patógenos, a exemplo pode-se citar os fungos [2]. Os compostos fenólicos no geral apresentam uma hidroxila ligada ao anel aromático sendo um grupo heterogêneo com cerca de 10.000 compostos, por isso possuem elevada diversidade química e biológica [3].

Espécies do gênero *Baccharis*, possuem em sua composição química metabólitos secundários, tais como flavonoides, ácidos cafeoilquínicos, glicosilados ou não, cumarinas e entre outros [4]. Dentre as espécies do gênero, pode-se citar a *Baccharis punctulata* [5], que na Bolívia é popularmente conhecida como “Chíllka saru saru” e tem suas partes aéreas utilizadas no tratamento de asma e as folhas em luxações e contusões [6], [7].

A determinação de compostos com propriedades antioxidantes em extratos de plantas é em geral avaliada por meio da técnica de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH). Já a quantificação de compostos fenólicos totais pode ser feita pelo método Folin-Ciocalteu, que tem como princípio a transferência de elétrons, o mesmo princípio utilizado para flavonoides totais com padrão quercetina. Em ambos ocorre reação de complexação sendo que para flavonoides totais, a reação se dá de forma mais seletiva, especificamente para os compostos fenólicos do tipo flavonoides (Granato e Nunes, 2016).

Os resultados experimentais obtidos pelas metodologias descritas podem ser utilizados para, por meio da ferramenta Excel, se verificar se estão interrelacionadas ou não. Uma das formas de se fazer isso é por meio do recurso estatístico de correlação de Pearson (r). Essa medida estabelece a correlação entre duas variáveis e varia de -1 a +1. Sendo que, quanto mais a relação entre as variáveis em estudo for perto de 1, independente de ser positiva ou negativa, maior o grau de dependência linear entre as variáveis. E se esta correlação estiver perto de zero, menor a relação [8]. Assim, objetivou-se a determinação da atividade antioxidante, avaliação da quantificação de compostos fenólicos totais e flavonoides totais de extratos das folhas da espécie *Baccharis punctulata* e se estabeleceu a correlação entre eles, fazendo uso da ferramenta Excel para determinação do coeficiente de correlação de Pearson.

2 METODOLOGIA

As amostras de extratos da espécie *Baccharis punctulata* deste trabalho foram obtidas pelo grupo de pesquisa em trabalhos anteriores. De acordo com o meio de extração, receberam os seguintes códigos: PE01, extraída com clorofórmio (CHCl_3); PE02, com acetato de etila (AcOEt), em $\text{pH}=8,0$; PE03 com acetato de etila e metanol 1:1 em $\text{pH}8$ e a amostra P04 extraída com acetato de etila em $\text{pH}=4,0$. A determinação da atividade antioxidante se deu após reação com radical DPPH e leitura num leitor de microplacas Elisa, da Locus, LMS-96, no comprimento de onda de 517nm e o percentual de atividade antioxidante (IC_{50}) foi calculado pela quantidade de DPPH consumido no meio reacional. Após o IC_{50} , se determinou a atividade antioxidante com base em um antioxidante conhecido, o ácido ascórbico, bem como compostos fenólicos totais com padrão ácido gálico e flavonoides totais com a quercetina [9]. As análises foram realizadas num leitor de microplacas, nos comprimentos de onda de 515nm, 715nm e 510nm, respectivamente.

As equações da reta dessas curvas padrões, tiveram a incógnita Y substituída pela absorbância dos extratos analisados e com isso se obteve a concentração de extrato equivalente aos respectivos padrões [9]. A partir dos resultados experimentais, estabeleceu-se a correlação de Pearson (r), definida como a medida de associação linear entre variáveis (X, Y) e por meio do programa Excel [10] foi possível atingir o objetivo de correlacionar

* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; jaquel_rosa@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; jascari@utfpr.edu.br



atividade antioxidante, a quantificação de fenólicos e flavonoides de extratos das folhas da espécie *Baccharis punctulata* DC.

3 RESULTADOS

Para atividade antioxidante, equações da reta bem como os respectivos IC₅₀ são apresentados na Tab. 1. Percebe-se que para inibir o radical DPPH em 50% o extrato em que se requer maior quantidade é o PE01. Com esses resultados a faixa de concentração de trabalho foi estimada. Após isso, se obteve a equação da reta da curva padrão ácido ascórbico, Eq. (1), e por meio dela, se determinou a concentração dos extratos equivalente ao ácido ascórbico, Tab. 2.

Tabela 1. Resultado para IC50

Extrato	Equação da reta	R ²	IC50 calculado (µg/mL)
PE01	Y=2,469X+9,6666	0,9955	16,33
PE02	Y=5,9383X+10,436	0,9998	6,63
PE03	Y= 6,6601X+12,379	0,9993	5,64
PE04	Y=7,3251X+17,396	0,9912	4,45

Fonte: Autoria própria (2021)

$$Y = -0,465X + 0,5285 \text{ e } R^2 = 0,9951 \quad (1)$$

Tabela 2. Resultado de atividade antioxidante equivalente ácido ascórbico(µgEAA/mL)

Extrato	Concentração extrato equivalente ácido ascórbico (µgEAA/mL)
PE01	0,083
PE02	0,233
PE03	0,405
PE04	0,599

Fonte: Autoria própria (2021)

O extrato PE01, obtido por solvente CHCl₃ apresentou menor capacidade antioxidante, mesmo em maior concentração. Enquanto os demais extratos o resultado foi superior. Entretanto extratos obtidos a partir da extração com CHCl₃ de outras espécies de *Baccharis* apresentam atividades antiúlcera e antioxidante [11]. Também é encontrado na composição química de *Baccharis trimera* mistura de flavonoides, como quercetina, luteolina, nepetina, apigenina e hispidulina, que são substâncias antioxidantes [12], corroborando com os resultados obtidos para os extratos em estudo.

Os compostos fenólicos totais, determinados pelo método Folin-Ciocalteu, com padrão ácido gálico para o qual se obteve a equação da reta Eq. (2). As concentrações de compostos fenólicos foram expressos em µg equivalente ácido gálico por mL da amostra, conforme Tab. 3. Enquanto o resultado para flavonoides totais, a determinação se deu a partir do padrão quercetina. Com a equação da curva padrão, Eq. (3) determinou-se o teor de composto fenólico flavonoides em µg equivalente quercetina por mL de amostra, Tab. 4.

Os extratos obtidos em solvente polar, apresentaram maior concentração de compostos fenólicos. Isso condiz com observado em estudos, como por exemplo, de caracterização para compostos fenólicos de extratos

* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; jaquel_rosa@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; jascari@utfpr.edu.br



metanóicos de *Baccharis platypoda*, que mostrou a presença de compostos fenólicos, como ácidos fenólicos, flavonas, flavonóis, mostrando a sua quimiodiversidade [13].

$$Y = 0,00727X \text{ e } R^2 = 0,9905 \quad (2)$$

Tabela 3. Resultado de compostos fenólicos totais (Folin-Ciocalteu) equivalente ao padrão ácido gálico ($\mu\text{gEAA/mL}$)

Extrato	Concentração de extrato equivalente ácido gálico ($\mu\text{gEAG/mL}$)
PE01	9,04
PE02	6,56
PE03	7,57
PE04	11,41

Fonte: Autoria própria (2021)

$$Y = 0,0025X \text{ e } R^2 = 0,9864 \quad (3)$$

Tabela 5. Resultado de flavonoides totais equivalente ao padrão ácido quercetina ($\mu\text{gEQuer/mL}$)

Extrato	Concentração de extrato equivalente quercetina ($\mu\text{gEQuer/mL}$)
PE01	28
PE02	16
PE03	48
PE04	72

Fonte: Autoria própria (2021)

A correlação de Pearson, é apresentada na Tab. 6. Em todos os casos observou-se uma correlação positiva. A mais fraca está entre fenólicos e a capacidade antioxidante apresentando uma correlação de $r: 0,55$. Entretanto, de acordo com a literatura, a correlação acima de $0,50$ é considerada forte [14].

Tabela 6. Coeficientes de correlação de Pearson entre os teores de fenólicos totais e flavonoides entre fenólicos totais e capacidade antioxidante

Correlação	r	n
Fenólicos totais X Flavonoides	0,81	4
Fenólicos totais X Capacidade antioxidante	0,55	4
Flavonoides X Capacidade antioxidante	0,89	4

Fonte: Autoria própria (2021)

Os resultados mostram que todos os extratos apresentaram atividade antioxidante e podem ser organizados em uma ordem crescente sendo $\text{PE04} > \text{PE03} > \text{PE02} > \text{PE01}$. Isso condiz com o observado no IC_{50} , quando foi necessário maior quantidade de extrato PE01 para se ter inibição em 50% do radical DPPH, bem como o que se notou quando realizado análise em cromatografia de camada delgada (CCD), apresentado em trabalho anterior, utilizando-se revelador específico para compostos fenólicos, o cloreto de ferro (FeCl_3), e para o PE01, obsevou-se uma revelação menos nítida quando comparando com as outras amostras, na mesma

* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; jaquel_rosa@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; jascari@utfpr.edu.br



CCD. Além disso, corroborou com o conceito teórico de que a depender da polaridade do solvente extrator utilizado, isso irá influenciar nos teores de compostos fenólicos, neste caso flavonoides e ácidos hidroxicinâmicos, como consequência na atividade antioxidante das amostras [15].

De acordo com Granato e Nunes (2016), observa-se que na extração utilizando CHCl_3 (extrato PE01), poderá conter proporções variadas de gorduras, diterpenos e triterpenos. Já o extrato com perfil de obtenção do PE02, pode conter flavonoide, e isso foi notado de acordo com o resultado obtido, pois apresentou maior atividade antioxidante em relação ao PE01. Quanto ao extrato nas mesmas condições de obtenção do PE03, também poderá apresentar em sua composição química flavonoides, de classe diferente daquelas citada anteriormente [16] como por exemplo nepetina, luteolina, encontrados em *Baccharis trimera* [17].

A amostra PE04, obtida em meio ácido, foi a esta apresentou melhor resultado quando comparada com as PE02 e PE03 sob as mesmas condições de massa. E, de acordo com a literatura, a classe de compostos fenólicos pode ser separada após a acidificação do extrato aquoso e extração com porções de acetato de etila incluem os ácidos hidroxicinâmicos e seus glicosídeos, ácidos mono-, di- e tricafecilquínicos. Os ácidos hidroxicinâmicos são compostos fenólicos comuns em plantas (cafeico, ferúlico, cumárico) tanto livres quanto na forma de ésteres do ácido quínico ou de açúcares [16]. Estudos ainda mostram que o gênero *Baccharis* tem em sua constituição química vários flavonoides e ácidos fenólicos, classes de metabólitos secundários que exercem diversas funções biológicas, como anti-inflamatória, antimicrobiana, entre outras [18]. Além disso, a literatura apresenta outros dados relacionados a sua aplicabilidade para a sociedade de forma mais abrangente, como por exemplo o caso da *Baccharis druncunculifolia*, como antioxidante natural [19].

4 CONCLUSÃO

Os extratos das folhas da espécie *Baccharis punctulata* apresentam atividade antioxidante, sendo esta variada quantitativamente quando comparado com um padrão e de acordo com o solvente extrator. Além disso, o percentual de inibição indireto em relação ao ácido ascórbico, evidenciou a presença de compostos fenólicos. Entre esses compostos, existem flavonoides. Conclui-se também a existência de uma correlação entre esses resultados, e que quanto maior a atividade antioxidante, maior o teor de compostos fenólicos e flavonoides, pois estes apresentaram uma correlação positiva. Isso torna a espécie promissora na continuidade do estudo, onde se pretende separar as espécies químicas e quantificá-las.

O fato de as análises terem sido realizada pelo método espectrofotométrico (Leitora de Microplacas) possibilitou um mínimo geração de resíduo, de forma a ser mais vantajoso quando comparado aos equipamentos espectrofotômetros convencionais, pois se tem minimizado o quantitativo de efluente.

REFERÊNCIAS

- [1] SELENE M. DE MORAIS; EVELINE S. B. CAVALCANTI; SÔNIA MARIA O. COSTA; LIZA A. AGUIAR. **Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil**. Revista Brasileira de Farmacologia. Vol. 19. N.1b. João Pessoa, Março de 2009.
- [2] SANTOS, D. Y. A. C. **Botânica aplicada: metabólitos secundários na interação planta-ambiente**. 2015. 124f. Título de livre-docente. Instituto de Biociências, Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- [3] BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. **Metabólitos secundários de plantas**. Revista Agrotecnologia, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; jaquel_rosa@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; jascari@utfpr.edu.br



- [4] FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. **Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais.** Ciência e Tecnologia Alimentar. Campinas, 30(2): 501-506, abr.-jun. 2010.
- [5] *Baccharis punctulata*. **Reflora.** Disponível em < <http://reflora.jbrj.gov.br> > Acesso em 09 de julho de 2019.
- [6] MORAES, M. D.; MONTEIRO, R. A. **Família Asteraceae na Planície Litorânea de Picinguaba, Ubatuba, São Paulo.** 2006.
- [7] ASCARI, J.; DE OLIVEIRA, M.S.; NUNESB, D.S.; GRANATO, D.; SCHARF, D. R.; SIMIONATTOC, E.; OTUKID, M.; SOLEYD, B.; HEIDENE, G. **Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of the essential oils from male and female specimens of *Baccharis punctulata* (Asteraceae).** Journal of Ethnopharmacology. V. 234. p. 1-7. 24 de Abril de 2019.
- [8] SANTO, H. E.; DANIEL, F. **Calcular e apresentar tamanhos do efeito em trabalhos científicos (2): Guia para reportar a força das relações.** Revista Portuguesa de Investigação Comportamental e Social. Vol. 3 (1): 53-64. 2017. Disponível em: < DOI: 10.7342/ismt.rpics.2017.3.1.48 >. Acesso em 29 de julho de 2021.
- [9] BOROSKI, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; DE MORAIS, D. R.; **Antioxidantes princípios e métodos analíticos.** 1ª edição. Appris, 2015. Curitiba – PR.
- [10] FILHO, D. B. F.; JÚNIOR, J. A. S. **Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r).** Revista Política Hoje, Vol. 18, n. 1, 2009.
- [11] DIAS, L. F. T.; MELO, E. S.; HERNANDES, L. S.; BACCHI, E. M. **Atividades antiúlcera e antioxidante *Baccharis trimera* (Less) DC (Asteraceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy 19(1B): 309-314, Jan./Mar. 2009.
- [12] PÁDUA, B. C.; SILVA, L. D.; ROSSONI, J. V.; HUMBERTO, J. L.; CHAVES, M. M.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.; COSTA, D. C. **Antioxidant properties of *Baccharis trimera* in the neutrophils of Fisher rats.** Journal of Ethnopharmacology, Volume 129, Issue 3, 2010, Pages 381-386, ISSN 0378-8741.
- [13] MOREIRA, C. P. S. **Produtos Naturais Bioativos de *Baccharis platypoda* DC. (ASTERACEAE).** (Título de Doutor em Ciências na área de concentração Biologia Celular e Molecular). Ministério da Saúde Fundação Oswaldo Cruz Centro de Pesquisas René Rachou Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde.
- [14] SANTO, H. E.; DANIEL, F. **Calcular e apresentar tamanhos do efeito em trabalhos científicos (2): Guia para reportar a força das relações.** Revista Portuguesa de Investigação Comportamental e Social. Vol. 3 (1): 53-64. 2017. Disponível em: < DOI: 10.7342/ismt.rpics.2017.3.1.48 >. Acesso em 29 de julho de 2021.
- [15] MOREIRA, V. E.; GASPARETTO, C. M.; CHIBLI, L. A.; VIERIE, G. D.; DE SOUSA, O. V. **Teores de fenóis totais e flavonoides e avaliação da atividade antioxidante de *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae).** HU Revista. Juiz de Fora, v. 38, n. 3 e 4, p. 223-229, jul./dez. 2012.
- [16] GRANATO, D; NUNES, D. S. **Análises químicas, propriedades funcionais e controle da qualidade de alimentos e bebidas – Uma Abordagem Teórico-Prática.** Edição 01. Ano: 2016
- [17] CLAUDINO, J. C. ***Baccharis trimera* (Less) DC.: estudo fitoquímico e avaliação da citotoxicidade.** (Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP.
- [18] ZUCCOLOTTI, T.; **Identificação de constituintes químicos de *Baccharis organensis baker* e avaliação das atividades biológicas dos extratos e frações das partes aéreas de *Baccharis aracatubaensis malag.* e *Baccharis organensis baker* (asteraceae).** 2017. 190f. Tese (Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2017.
- [19] ZANELA, J., CASAGRANDE, M., RADAELLI, JC et al. **Embalagem ativa biodegradável para alimentos contendo folha de *Baccharis dracunculifolia* como antioxidante natural.** Food Bioprocess Technol 14, 1301–1310 (2021).

* Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Toledo, Paraná, Brasil; jaquel_rosa@hotmail.com

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Santa Helena; jascari@utfpr.edu.br