

QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS E FLAVONÓIDES NA CULTURA FORRAGEIRA CUNHÃ

Amanda Lima Cunha (1); Anderson Soares de Almeida (2); Aldenir Feitosa dos Santos (3)

- (1) *Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL*, email: amandalima2012.quimica@gmail.com. (2) *Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL*, email: mirellalouise_alves@hotmail.com. (3) *Universidade Estadual de Alagoas – UNEAL e Centro Universitário – CESMAC*, email: aldenirfeitosa@gmail.com.

Introdução

A região Nordeste tem 60% do seu território ocupada pelo bioma da Caatinga, que é uma vegetação exclusivamente brasileira com extensão de 826.411 Km². Dentre as características da Caatinga está a baixa disponibilidade de água no solo, baixo índice de chuvas (maior parte do ano a estação seca é predominante) e a flora nativa apresenta características morfológicas e funcionais específicas para o desenvolvimento dos vegetais nas condições de clima e solo citadas (SILVA, 2013).

As espécies vegetais presente na Caatinga se destacam pelo seu uso como forrageira, uso medicinal e econômico, dentre estas espécies estar a *Clitoria ternatea* L., pertencente à família Fabaceae, que é considerada a terceira maior família de angiosperma com três subfamílias: Faboideae, Mimosoideae e Caesalpinoideae. A *C. ternatea* é conhecida popularmente como forrageira cunhã, destacando-se na alimentação de animais e pela sua capacidade de desenvolver-se em clima quente (SILVA, 2013).

As plantas presente no Nordeste têm ganhado ênfase por terem propensão em atuar na indústria farmacológica, cosmética entre outras aplicações; e isso deve-se a presença de metabólitos secundários nas espécies vegetais, que são substâncias que são produzidas em pequenas quantidades e que possuem diversos benefícios, como potencial antioxidante, antimicrobiano, redução do colesterol, inibição do envelhecimento precoce, expectorante, redução de doenças cardiovasculares, dentre outros (PEREIRA; CARDOSO, 2012).

As principais classes de metabólitos secundários são os compostos fenólicos, que possuem estrutura química formada com um anel benzênico ligado a um radical hidroxila, nesta classe ainda destaca-se os flavonoides pelo alto potencial antioxidante (OLIVEIRA, 2011), os terpenos que são derivados do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto) e os alcaloides que são produzidos a partir dos aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina) (SILVA, 2013).

Diante disto, vale ressaltar a importância da análise do teor de compostos fenólicos e flavonoides em espécies pertencentes ao bioma da Caatinga, através de análises espectrofotométricas. Por meio do método de Folin-Ciocalteu quantifica-se o teor de fenóis totais presentes em extratos vegetais, que consiste na reação dos ácidos constituintes do reagente Folin-Ciocalteu e compostos fenólicos ou não fenólicos. E através técnica espectrofotométrica com cloreto de alumínio, determina-se o teor de flavonoides (SIQUEIRA, 2011).

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo determinar o teor de fenóis e flavonoides, por meio de testes químicos, da espécie *Clitoria ternatea* L., para que assim novas propriedades químicas e biológicas venham a ser empregadas a esta planta.

Metodologia

- Níveis de adubação na cultura forrageira cunhã

(83) 3322.3222
contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

A forrageira cunhã foi plantada em saco plástico em substrato formado por solo e esterco com os diferentes tratamentos:

1. (B₁) 200g de esterco misto de caprinos e ovinos;
1. (B₂) 400g de esterco misto de caprinos e ovinos;
2. (B₃) 200g de esterco bovino;
3. (B₄) 400g de esterco bovino.

- Preparo dos extratos vegetais

A extração dos constituintes fixos dos vegetais foi realizada por maceração em etanol, com posterior remoção do solvente por rota-evaporação. A troca de solvente foi realizada a cada 48h durante uma semana.

- Quantificação do teor de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi quantificado pelo método descrito por Freitas et al. (2014) com algumas adaptações.

Para a realização da curva de calibração do ácido gálico pesou-se 0,04 g de ácido gálico em 8 mL de MeOH (solução estoque). Em seguida preparou-se diluições (soluções testes) nas concentrações de 0,15; 0,1; 0,05; 0,025; 0,01 e 0,005 mg/mL.

Inicialmente pesou-se 0,005 g da amostra vegetal e diluiu em 5 mL de MeOH. Em seguida retirou-se uma alíquota de 0,075 mL desta solução e adicionou-se 0,425 mL de MeOH (solução estoque).

Para a realização da leitura, foi adicionado em vidro âmbar (em triplicata – para cada amostra) 100µL da solução estoque, 500µL do reagente Folin – Ciocalteau e 6 mL de H₂O destilada. Posteriormente foi agitada no vórtex por 1 minuto, em seguida adicionou-se 2 mL de carbonato de sódio 15% e agitou-se novamente no vórtex por 30 segundos no vórtex. O último procedimento para o preparo das soluções foi transferido a solução para um balão volumétrico de 10 mL e completou-se o volume com H₂O destilada; e posteriormente incubou-se as soluções no escuro durante 2 horas.

Para obtenção do branco foi preparado uma solução de 100µL de MeOH, 500µL do reagente Folin-Ciocalteau e 1 mL de H₂O destilada. E em seguida agitou-se no vórtex durante 1 minuto. Logo após, adicionou-se 2 mL de carbonato de sódio 15% e depois agitou-se por 30 segundos no vórtex. Posteriormente completou o volume da solução em um balão volumétrico de 10 mL. A solução foi incubada no escuro durante 2 horas. Antes de qualquer leitura, utilizou-se o branco para zerar o espectrofotômetro.

Para a leitura das soluções utilizou-se um espectrofotômetro UV-VIS com comprimento de onda de 750 nm.

- Quantificação do teor de flavonoides

O teste foi realizado segundo a metodologia de Souza et al. (2011), com algumas adaptações para a realização em microplacas.

Inicialmente pesou-se 1mg de quercetina e diluiu em 1ml de MeOH. Em seguida realizou-se as diluições nas concentrações de 0,03; 0,025; 0,020; 0,015; 0,01; 0,005; 0,0025 e 0,00125mg/ml.

Pesou-se 1mg dos extratos e diluiu em 1ml de MeOH. Após o preparo da solução teste realizou-se as soluções (em poços – em triplicata) para leitura que continham 200µl da solução teste da amostra vegetal e 100µl de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2%.

Preparou-se a solução para o branco (em triplicata) com 200µl de MeOH e 100µl de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2%.

Em seguida a placa de poços foi mantida no escuro durante 30 minutos. Decorrido o tempo, a leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS a 420nm.

O teor de flavonoides foi determinado por interpolação da média das absorvâncias das amostras contra a curva de calibração da quercetina (substituição da equação da reta) e expressos em mg de EQ (equivalente de quercetina) por g do extrato.

Resultados e discussão

Através do método Folin–Ciocalteu foi determinado pelo método espectrofotométrico o teor de fenóis totais extratos estudados. O teor de fenóis totais (tabela 1) foi identificado por interpolação da absorvância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (gráfico 1).

Gráfico 1- Curva de calibração de ácido gálico

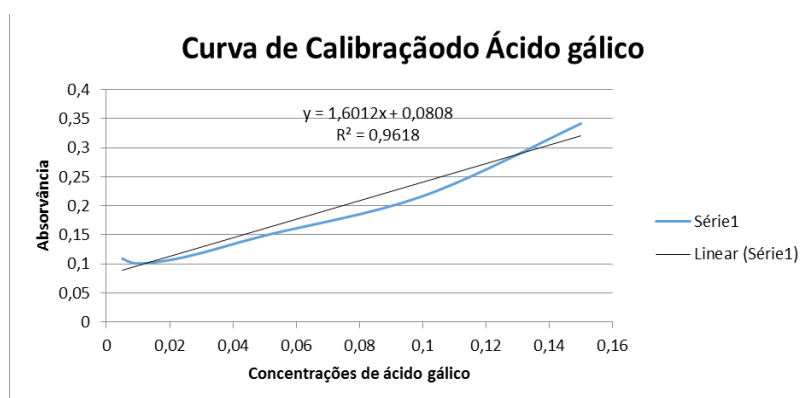


Tabela 1- Teor de fenóis totais da *Clitoria ternatea* L.

Tratamento	Repetições	Teor de fenóis totais em mg EAG/ g de extrato	Fonte
B₁	T1	154,39	Dados da pesquisa.
	T2	162,18	
	T3	179,93	
	T4	176,47	
	T5	169,11	
	T1	157,42	

B₂	T2	161,32	Dados da pesquisa.
	T3	161,75	
	T4	148,76	
	T5	153,09	
B₃	T1	158,29	Dados da pesquisa.
	T2	165,21	
	T3	176,90	
	T4	185,56	
	T5	123,23	
B₄	T1	191,62	Dados da pesquisa.
	T2	179,06	
	T3	180,79	
	T4	193,78	
	T5	198,54	

Diante dos resultados apresentados, observou-se que os extratos do tratamento B₄ (adubada com 400g de esterco bovino) obtiveram um maior teor de fenóis totais. Sendo evidente que a adição de nutrientes à solo influência na produção das substâncias bioativas (NETO; LOPES, 2007).

O teor de fenóis totais variou de 123,23 a 198,54 mg EAG/ g de extrato para a *C. ternatea*, dados superiores ao encontrado por Andrade et al. (2009) nas folhas da *Pyrostegia venusta* (pertencente à mesma família da espécie analisada) que foram de 10,79 mg EAG/ g de extrato.

Através do método de cloreto de alumínio foi quantificado o teor de flavonóides (tabela 2), sendo obtidos por meio da interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de quercetina.

Tabela 2- Teor de flavonoides da espécie *Clitoria ternatea* L.

Tratamento	Repetições	Teor de flavonoides em mg EQ/ g de extrato	Fonte
B₁	T1	104,17	Dados da pesquisa.
	T2	150,04	
	T3	127,15	
	T4	158,05	

	T5	143,60	
	T1	133,73	
	T2	138,32	
B₂	T3	150,80	Dados da pesquisa.
	T4	148,94	
	T5	130,87	
	T1	152,69	
	T2	145,05	
	T3	145,22	Dados da pesquisa.
	T4	150,85	
	T5	151,89	
	T1	126,47	
	T2	145,76	
B₄	T3	146,10	Dados da pesquisa.
	T4	150,10	
	T5	152,15	

Conclusão

Diante dos resultados expostos, verificou-se que a forrageira cunhã apresenta teores de fenóis e flavonóides significativos, concluindo-se que a espécie possui propriedades farmacológicas advindas da presença destas substâncias bioativas e assim demonstrando a relevância do estudo das propriedades químicas e farmacológicas da espécie *Clitoria ternatea* L.

Referências

ANDRADE, G. R.; et al. **Teor de fenóis totais e taninos em folhas de acerola (*Malpighia emarginata* DC) submetidas a estresse hídrico.** 2009. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0122-2.pdf>>. Acessado em: 23 de out. 2016.

FREITAS, R. C.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante das espécies *Plectranthus amboinicus* (Lour.) e *Mentha x villosa* (Huds.). **Revista Ciênc. Farm. Básica Apl.**, vol. 55, nº1, p. 113-118, jan. – jun. 2014.

NETO, L. G.; LOPES, N. P. Plantas medicinais fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Revista Química Nova**, vol. 30, nº 2, p. 374-381, 2007.

OLIVEIRA, J. R.; et al.. Fenóis totais e atividade antioxidante das folhas de *Mimosa caesalpiniaefolia* Benth. In: 51º Congresso Brasileiro de Química – Meio Ambiente e energia, nº 51,

2011, São Luís – MA, 2011. **Anais do 51º Congresso Brasileiro de Química**. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2011/trabalhos/7/7-417-11380.htm>>. Acessado em: 12 de out. de 2015.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Vol. 3, nº 4: p. 146-152, 2012.

SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos**. Mestrado em Bioquímica e fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Bioquímica e fisiologia, Recife-PE, 2013.

SIQUEIRA, C. F. Q.. **Teores de taninos e flavonoides em plantas medicinais da caatinga: Avaliando estratégias de bioprospecção**. Mestrado de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2011.

SOUZA, L. B.; et al.. Quantificação de flavonóides nas raízes de *urera baccifera* gaudich (URTICACEAE). **Revista Contexto & Saúde**, Ijuí, vol. 10 nº 20, Jan. - Jun. 2011.