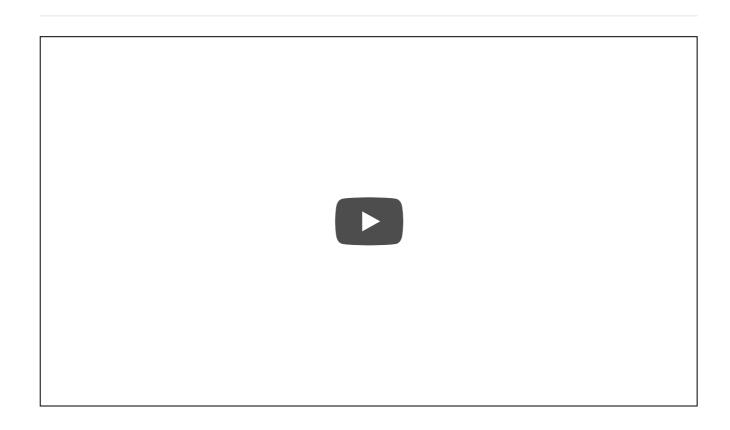
1º Encontro Nacional de Química e Sustentabilidade

14 a 15 de Julho de 2021

Avaliação de extratos hidroalcoólicos padronizados de Crotalaria juncea em função da granulometria da biomassa e da resposta do perfil cromatográfico obtido por UHPLC-PDA



Produção de produtos químicos de alto valor agregado a partir de fontes renováveis

Autores

Feitosa, J.G. (EMBRAPA AGROENERGIA); Melo, R.W.N. (EMBRAPA AGROENERGIA); Andreani, L. (EMBRAPA AGROENERGIA); Ribeiro, J.A.A. (EMBRAPA AGROENERGIA); Rodrigues, C.M. (EMBRAPA AGROENERGIA)

Resumo

A Crotalaria juncea é uma espécie originária da Ásia Tropical e apresenta diversas aplicações, destacando-se sua utilização como fertilizante natural. Tanto efeitos tóxicos quanto efeitos benéficos desta planta podem estar relacionados à presença de compostos químicos com atividade antioxidante, fitotóxica ou antifúngica. Portanto, a investigação da presença metabólitos bioativos em extratos de C. juncea é relevante. Este trabalho avaliou extratos hidroalcoólicos de C. juncea verificando se o tamanho de partícula apresenta influência no rendimento do extrato e no seu perfil cromatográfico. A granulometria não afetou o rendimento de extrato bruto, porém análises de UHPLC-PDA indicaram ligeira diferença na composição do extrato preparado com partículas de 250 µm.

Palayras chaves

Crotalaria juncea; granulometria da biomassa; perfil cromatográfico

Introdução

A Crotalaria juncea é originária da Ásia Tropical, mas também é encontrada na África, da costa do Oceano Atlântico ao Oceano Índico, com ampla adaptação às regiões tropicais (Al-SNAFI, p.77, 2016). Essa planta leguminosa apresenta diversas aplicações, destacando-se sua utilização como adubo verde. Sua eficiência na agricultura como fertilizante natural e os benefícios que ela traz ao solo tem sido alvo de variados estudos científicos (PACHECO, p.43, 2010). A C. juncea é muito eficiente na cobertura de solo, sendo observado que a disponibilidade de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K) aumentam no solo após seu plantio, além da excelente fixação do nitrogênio (SILVA, p.51, 2007). Outros benefícios relacionados à espécie incluem suas propriedades antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas, entre outras. Em suas folhas foram encontrados (Al-SNAFI, p.77, 2016) constituintes químicos como esteroides, flavonoides, aminoácidos e glicosídeos. No entanto, estudos também apontam problemas ocasionados pelos efeitos tóxicos que a planta traz a médio e longo prazo para animais (NOBRE, p.445, 1994). A C. juncea apresenta em sua composição alcaloides pirrolizidínicos (APs), destacando-se a monocrotalina, tornando a planta tóxica para vertebrados (MELO, p.2, 2020). Como os efeitos benéficos à agricultura e os efeitos tóxicos à saúde humana e animal podem estar relacionados à presença dos grupos químicos já citados, a investigação da presença de classes de metabólitos bioativos em extratos de C. juncea é fundamental para ampliar o conhecimento a respeito desta espécie e buscar novas aplicações. Tendo isso em vista, este trabalho destinou-se a avaliar a influência do tamanho de partícula no rendimento e perfil cromatográfico de extratos hidroalcoólicos de sementes de C. juncea.

Material e métodos

Sementes de C. juncea (Sementes Piraí Ltda) foram secas (40°C), moídas em moinho analítico portátil e tamisadas em agitador eletromagnético. As partículas foram selecionadas por faixas de tamanhos (>850, 849-425, 424-300 e 299-250 µm) e foram, em seguida, extraídas com solução hidroalcoólica (etanol/água/ácido acético 70/29,5/0,5%). Processo de extração - 15 g de biomassa foram transferidas para um recipiente com tampa e 5 mL da solução hidroalcoólica foi adicionada ao sólido e misturada. Após 4 horas, o sólido foi transferido para um percolador, a biomassa foi coberta com 70 mL de solução hidroalcoólica e deixada em repouso por 20 h a 30°C. Em seguida, mais 575 mL de solução hidroalcoólica foi adicionada ao percolador e sua torneira foi aberta (10 gotas/min). A percolação ocorreu até acabar a solução hidroalcoólica. Ao final da extração, as amostras foram rotaevaporadas, congeladas e liofilizadas. A massa resultante do processo de liofilização foi utilizada para a determinação do rendimento da extração. Este procedimento foi realizado em triplicata para cada tamanho de partícula estudado. Cromatografia de ultra-alta eficiência (UHPLC) - foi utilizado o sistema UPLC Acquity H-Class acoplado ao detector de arranjo de fotodiodos (PDA) com varredura na faixa espectral de 200-400 nm. O extrato seco de cada uma das amostras foi preparado na concentração de 30 mg/mL em água:acetonitrila (1:1). As amostras ficaram em banho ultrassônico por 10 min e foram, em seguida, centrifugadas (5 min, 13.200 rpm). Alíquotas de 1 µL das amostras foram injetadas nas seguintes condições: Coluna de fase reversa Acquity UPLC HSST3 1,8 μm, 2,1 x 150 mm; Temperatura da coluna: 40°C; Modo de eluição: gradiente (Tabela 1); Fase móvel - Solvente A: H2O/0,1% TFA; Solvente B: Acetonitrila/0,1% TFA.

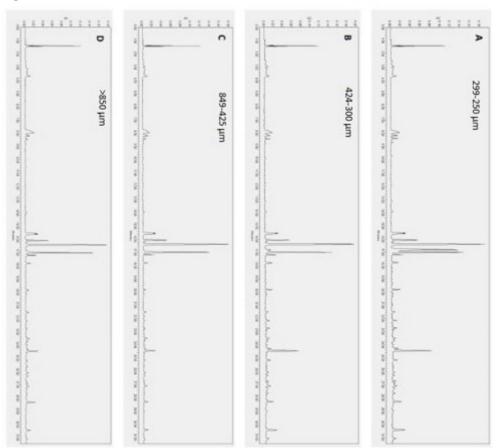
Resultado e discussão

Os rendimentos de extrato hidroalcoólico de C. Juncea ficaram entre 14,55±1,96% (partículas >850µm) e 18,27±3,02%, (partículas de 424-300µm). As partículas de 299-250 e 849-425µm apresentaram rendimentos de 17,75±1,83% e 17,71±4,06%, respectivamente. Observa-se um ligeiro aumento no rendimento para as 3 menores granulometrias em comparação com as partículas >850µm. No entanto, o teste de Tukey (α=0,05) indica que não há diferença estatística entre os rendimentos obtidos para as 4 granulometrias avaliadas. A Figura 1 apresenta os cromatogramas para os extratos brutos estudados. Observa-se similaridade entre os perfis para as 4 granulometrias avaliadas, com a eluição de picos e intensidades equivalentes. Os picos eluídos em tR=1,384 min possuem absorção UV compatível com a presença de aminoácidos. Em tR=1,432 min observa-se espectro de UV típico de substâncias contendo fenilalanina e há a indicação do nucleotídeo guanosina em tR=8,180 min. Absorção UV indicativa de alcalóides, que podem apresentar efeitos tóxicos a vertebrados, foi observada em tR=3,681 min. Observou-se a presença expressiva de picos relacionados à flavonóides, compostos de atividade antioxidante, em tR 15,556, 16,074, 16,396, 17,001 e 17,196 min para todas as granulometrias avaliadas. Por fim, identificou-se 3 picos indicativos de derivados do ácido hidroxicinâmico em 22,173, 28,306 e 30,444 min, compostos com ação antioxidante. Destaca-se que houve apenas uma diferença entre os perfis cromatográficos avaliados: o extrato bruto preparado a partir de partículas de 299-250µm apresentou um pico (tR=16,810 min) com banda de absorção UV intensa em 240,9 nm e ombro em 287,2 nm. Avaliação adicional deve ser feita visando identificar o composto responsável por este espectro de absorção UV em trabalhos futuros.

Tempo (min)	Fluxo (mL/min)	%A	%В
Inicial	400	100	0
5.00	400	100	0
30.00	400	75	25
32.00	400	50	50
33.00	400	0	100
35.00	400	0	100

Gradiente de eluição empregado na análise por UHPLC-PDA dos compostos químicos presentes nos extratos obtidos.

Figura 1



Perfis cromatográficos (254 nm) dos extratos brutos hidroalcoólicos de C. juncea

Conclusões

A influência do tamanho de partícula no rendimento de extrativos e na constituição química dos extratos foi avaliada. Não houve diferença estatística no rendimento de extratos para as diferentes granulometrias. Os perfis cromatográficos indicaram a presença de aminoácidos, fenilalanina, alcalóides, flavonóides, derivados do ácido hidroxicinâmico e provável derivado de guanosina. O

extrato preparado a partir de partículas de 299-250µm apresentou uma diferença significativa em relação aos demais: um composto com absorção UV em 240,9 nm que deverá ser identificado em trabalho futuro.

Agradecimentos

Referências

Al-Snafi, Ali Esmail. The contents and pharmacology of Crotalaria juncea. IOSR Journal Of Pharmacy - Volume 6, Issue 6 Version. 2, PP. 77-86, 2016.

Silva, Tácio Oliveira; Menezes, Rômulo Simões Cezar. Adubação orgânica da batata com esterco e, ou, Crotalaria Juncea. II - disponibilidade de N, P e K no solo ao longo do ciclo de cultivo. R.Bras. Ci. Solo, 31:51-61, 2007.

Melo, Rodrigo Wesley Nascimento de; Carvalho, Larissa Andreani; Ribeiro, José Antônio de Aquino; Rodrigues, Clenilson Martins. Avaliação do perfil metabólico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de sementes de Crotalaria spp, 2020.

Nobre D, Dagli ML, Haraguchi M. Crotalaria Juncea intoxication in horses. Veterinary and Human Toxicology, 01 Oct 1994

Pacheco, J. S, * Silva-López, R. E. S. Genus Crotalaria L. (Leguminoseae). Revista Fitos – vol. 5, N° 03, 2010.

PATROCINADORES



(http://crq3.org.br/)

APOIO









- https://www.abq.org.br (https://www.abq.org.br)