

INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE SOBRE RENDIMENTO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEO ESSENCIAL FOLIAR DE *Croton argyrophyllus* KUNTH. (EUPHORBIACEAE)

Maíra Honorato de Moura Silva (1); Rayza Helen Graciano dos Santos (2); Elys Karine Carvalho da Silva (3); Antônio Fernando Morais Oliveira (4)

(1) *Universidade Federal de Pernambuco*. Email: mairamhms@hotmail.com; (2) *Universidade Federal de Pernambuco*. Email: rayzahelen@hotmail.com; (3) *Universidade Federal de Pernambuco*. Email: elyskarinec@gmail.com (4) *Universidade Federal de Pernambuco*. Email: afmoliveira@gmail.com

Resumo: Um dos fatores que pode influenciar a produção de óleos essenciais é sazonalidade climática presente na Caatinga. Com isso, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito sazonal sobre o rendimento e o potencial antioxidante dos OE's foliares de *Croton argyrophyllus* Kunth. Folhas foram coletadas de uma mesma população no Vale do Catimbau, Buíque-PE entre as estações seca e chuvosa do ano de 2016. Os OE's foliares de *Croton argyrophullus* foram obtidos por hidrodestilação por um período de três horas. O óleo foi seco em sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e testado quanto a sua capacidade em estabilizar o radical livre DPPH e sua Capacidade Antioxidante Total (CAT%). O teor de óleo essencial analisado não apresentou diferença estatística significativa dos rendimentos do OE's entre as estações, indicando não haver variabilidade sazonal quantitativa na produção de OE em folhas desta população. Quanto à habilidade do OE foliar de *C. argyrophyllus* em estabilizar o radical livre DPPH, o mesmo apresentou IC50 de 3,99 µg/ml na estação seca. Já quanto a capacidade antioxidante total, houve efeito da sazonalidade sobre o OE de *Croton argyrophyllus*, pois foi capaz de captar cerca de 68%± 0,07 do fosfomolibdênio na estação chuvosa, enquanto que na estação seca, cerca de 64%± 0,20. Devido à importância dos antioxidantes, por serem substâncias capazes de neutralizar os danos provocados pelo processo natural de oxidação nos organismos vivos, que se faz necessária investigação da caracterização química do OE de *Croton argyrophyllus* para identificação dos compostos majoritários responsáveis pela ação antioxidante apresentada.

Palavras-chave: Caatinga, DPPH, Fosfomolibdênio, Óleo volátil, Teor de óleo.

Introdução

Os óleos essenciais (OE's) são frações voláteis naturais que conferem os aromas percebidos em algumas espécies vegetais e têm despertado um interesse considerável para utilização médica por todo mundo. Em virtude de sua complexa composição e seus efeitos farmacológicos, os tornam potenciais fontes para o desenvolvimento de novas drogas (SANTOS, 1997).

A Caatinga apontada como rica em espécies endêmicas e bastante heterogênea corresponde a um habitat tipicamente ocupado pelas Euphorbiaceae. Dentre os gêneros dessa família destaca-se *Croton* L. por ser o segundo maior e mais diverso, com cerca de 1.200

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

www.conadis.com.br

espécies. No Brasil ocorrem cerca de 316 espécies e 6 variedades, sendo 252 endêmicas (CORDEIRO et al., 2016), levando o país à categoria de mais diverso do gênero.

Este ecossistema, exclusivamente brasileiro, possui clima tipicamente semi-árido, apresentando elevadas temperaturas com grande incidência de radiação solar, e uma sazonalidade climática típica da região com chuvas escassas, irregulares e mal distribuídas durante o ano, que influencia vários aspectos neste ecossistema.

Um dos fatores influenciados pela sazonalidade climática presente na Caatinga é a produção de óleos essenciais, que por estarem presentes em diversas partes das plantas, por serem de fácil extração, economicamente viáveis e possuírem o seu potencial bioativo comprovado em várias espécies, têm assumido papel de destaque nas pesquisas em produtos naturais.

Com isso, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito sazonal sobre o rendimento e o potencial antioxidante do OE foliar de *Croton argyrophyllus* Kunth.

Metodologia

*** Área de coleta**

As coletas foram realizadas exclusivamente no perímetro da Caatinga (Vale do Catimbau, Buíque, PE) nos períodos de estação seca e chuvosa de 2016.

*** Coleta do material botânico**

Folhas foram coletadas de uma mesma população, sendo voucher depositado no Herbário UFP da Universidade Federal de Pernambuco sob o número 82.882.

*** Extração de óleos essenciais**

Os óleos essenciais de folhas de *Croton argyrophullus* foram obtidos por hidrodestilação com água destilada, utilizando aparelho tipo Clevenger, por um período de três horas (PEREIRA et al., 2011). Em seguida, o óleo foi coletado e seco com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) e mantido em refrigerador (-5 °C) num frasco de vidro âmbar para os ensaios biológicos.

O rendimento do óleo essencial foi definido como o quociente do peso do óleo recolhido e o peso seco do material vegetal extraído (SANTOS et al., 2014) e os dados foram submetidos à Análise de Variância- ANOVA (one way) utilizando o teste a posteriori de Tukey no Minitab 2016, adotando o nível de significância de 0,05 de probabilidade.

- Atividade antioxidante

*DPPH

A atividade antioxidante dos óleos essenciais foi avaliada pelo método de monitoramento da habilidade em estabilizar o radical livre DPPH (BLOIS, 1958).

Foi realizada uma diluição seriada a partir da solução metanólica mãe (1mg/ml) de óleos essenciais (500, 250, 125, 62,5, 31,25 e 15,625 µg/ml), onde foram misturados a 250µl de solução DPPH em solução metanólica. Após 30 minutos, sob abrigo de luz e a temperatura ambiente, foram realizadas leituras das absorvências em espectrofotômetro a 517 nm. As análises foram realizadas em triplicata e a atividade antioxidante com DPPH foi expressa como IC50 (a concentração de óleo necessária para reduzir 50% do DPPH, em µg/ml), determinadas usando o programa Prisma de software IC50, com base no método de análise probit de Finney (FINNEY, 1971).

*Capacidade Antioxidante Total (Fosfomolibdênio) – CAT

A capacidade antioxidante total (CAT) foi baseada no método de Prieto et al. (1999). 0,1ml de óleo essencial foi combinado com 1 ml da solução reagente (ácido sulfúrico 0,6 M, Fosfato de sódio 28 mM e molibdato de amônio 4 mM). Os tubos com as soluções foram colocados em banho maria a 95° C durante 90 minutos, depois foram arrefecidas até à temperatura ambiente e a absorvência de cada amostra medida a 695 nm contra um branco (1 ml de reagente e 0,1 ml de metanol). A curva padrão foi construída utilizando soluções de ácido ascórbico nas concentrações 100, 200, 300, 400, 500 e 600 µg/mL. Todas as análises foram realizadas em triplicata (PRIETO et al., 1999).

A capacidade antioxidante das amostras foi expressa em relação ao Ácido Ascórbico (AA), considerando sua absorvência correspondente a 100% de atividade antioxidante, de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ TAC: } \frac{\text{Absorbance (sample)} - \text{absorbance (control)}}{\text{absorbance (ascorbic acid)} - \text{absorbance (control)}} \times 100$$

Resultados e Discussão

- **Rendimento**

O teor de óleo essencial pode sofrer alterações durante as estações do ano, por isso foi analisado o teor de óleo essencial foliar de *Croton argyrophyllus* coletado no Vale do Catimbau, Buíque-PE entre as estações seca e chuvosa do ano de 2016.

Não foi observada diferença estatística significativa dos rendimentos do OE's entre as estações, indicando não haver variabilidade sazonal quantitativa na produção de OE em folhas desta população. Portanto, a coleta de OE neste órgão vegetal pode ser realizada em qualquer época do ano visando à obtenção deste extrativo (Tabela 1).

TABELA 1: Rendimento (%) de óleo essencial de folha de *Croton argyrophyllus* Kunth. nas estações seca e chuvosa de 2016 no Vale do Catimbau, Buíque-PE.

	Estação seca	Estação chuvosa
<i>Croton argyrophyllus</i>	0,95 ± 0,18 A	0,76 ± 0,38 A

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si com $p \leq 0,05$ de probabilidade pelo teste de Tukey.

- **Atividade antioxidante**

Antioxidantes são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes (MORAIS et al., 2009). Por isso, foi testado o efeito da sazonalidade sobre o potencial antioxidante do OE de *Croton argyrophyllus* quanto à sua habilidade em estabilizar o radical livre DPPH e sua capacidade antioxidante total pelo fosfomolibdênio.

A atividade antioxidante foi testada quanto à habilidade do OE foliar de *C. argyrophyllus* em estabilizar o radical livre DPPH e apresentou IC₅₀ de 3,99 µg/ml na estação seca. Diferentemente do apresentado por Brito (2014) para OE foliar de *C. linearifolius* que obteve IC₅₀ acima de 81,50 µg/ml. O que demonstra sua alta capacidade antioxidante, já que

(83) 3322.3222

contato@conadis.com.br

www.conadis.com.br

esse valor pode ser comparado ao IC50 apresentado pela quercetina (3,192 µg/ml) em teste realizado com DPPH, utilizando a mesma como controle positivo (BRITO, 2014). Difere também, segundo Bastos (2014), do IC50 de OE de *C. nummularius* (62.52 mg/ml) (Tabela 2).

TABELA 2: Quadro comparativo das atividades antioxidantes dos óleos essenciais foliares quanto sua capacidade em estabilizar o radical livre DPPH entre espécies de *Croton* L. (Euphorbiaceae).

	DPPH IC50 ([]µg/ml)	REFERÊNCIA
<i>Croton argyrophyllus</i>	3,99 ES2016	
Quercitina	3,192	Brito (2014)
<i>Croton linearifolius</i>	81,50	Brito (2014)
<i>Croton nummularius</i>	62,52	Bastos (2014)

Já quanto a capacidade antioxidante total, houve efeito da sazonalidade sobre o OE de *Croton argyrophyllus*, pois foi capaz de captar cerca de 68% do fosfomolibdênio na estação chuvosa, enquanto que na estação seca, cerca de 64% (Tabela 3).

TABELA 3: Avaliação da capacidade antioxidante total pelo fosfomolibdênio (CAT%) de óleo essencial foliar de *Croton argyrophyllus* Kunth. (Euphorbiaceae).

CAT(%)	ES2016	EC2016
<i>Croton argyrophyllus</i>	64,35± 0,20 b	68,03 ± 0,07 a

Médias seguidas por letra diferentes diferem estatisticamente entre si com $p \leq 0,05$ de probabilidade pelo teste de Tukey.

Devido à importância dos antioxidantes, por serem substâncias capazes de neutralizar os danos provocados pelo processo natural de oxidação nos organismos vivos, que se faz necessária investigação da caracterização química do OE de *Croton argyrophyllus* para identificação dos compostos majoritários responsáveis pela ação antioxidante apresentada.

Conclusões

Foi possível concluir que o óleo essencial foliar de *Croton argyrophyllus* apresenta um rendimento compatível com a média de teor de rendimento apresentado pelo gênero *Croton* L., mas que não sofre influência da sazonalidade, podendo ser coletado e extraído em qualquer época do ano.

Apresentou uma boa capacidade antioxidante total, sendo a estação chuvosa mais eficiente quanto ao poder antioxidante, captando 68,03% de fosfomolibdênio; e uma excelente atividade antioxidante quanto à sua capacidade em estabilizar o radical livre DPPH (IC50 = 4,99 µg/mL).

Com isso, é possível destacar a importância dos efeitos sazonais para os potenciais terapêuticos do óleo essencial foliar de *Croton argyrophyllus*, sendo este um bom candidato a estudos mais aprofundados devido seu potencial bioativo.

REFERÊNCIAS

- BASTOS, S. Chemical characterization, biological activity, antioxidant and preliminary toxicity of essential oil of *Croton nummularius* Baill. from Pernambuco. Dissertação. Mestrado em Bioquímica e Fisiologia. Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE, 2014.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200, 1958.
- BRACCO, U.; LOLIGER, J.; VIRET, J. I.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1981, 58, 686.
- BRITO, A. V. R. Determinação da composição química e avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial das folhas de *Croton linearifolius* (Euphorbiaceae). Dissertação. Mestrado em meio ambiente e desenvolvimento. Itapetinga, 2014.
- CATUNDA JR., F. E. A.; LUCIANO, J. H. S.; MORAIS, S. M.; *REV. CIÊNCIA E TECNOL. DA UECE* 2002, 4, 23.
- CORDEIRO, I., SECCO, R., CARDIEL, J.M., STEINMANN, V., CARUZO, M.B.R., RIINA, R., LIMA, L.R. DE, MAYA-L., C.A., BERRY, P., CARNEIRO-TORRES, D.S., O.L.M. SILVA, SALES, M.F.D., SILVA, M.J.DA, SODRÉ, R.C., MARTINS, M.L.L. PSCHIEDT, A.C., ATHIÊ-SOUZA, S.M., MELO, A.L.D., OLIVEIRA, L.S.D., PAULA-SOUZA, J., SILVA, R.A.P. *Euphorbiaceae in lista de espécies da flora do Brasil*. Jardim Botânico do

rio de janeiro. 2016.

Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/fb113>>. acesso em: 18 Jan. 2016

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; PEREIRA, C. K. B.; DE SOUZA, E. O.; CALDAS, G. F. R.; SILVA, M. R.; SANTOS, N. K. A.; MOTA, M. L.; DOS SANTOS, P. F. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade Estragol). *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* 18(4): 583-586, Out./Dez. 2008

FINNEY, D. 1971. *Em probit analysis*; 3a ed., Cambridge University Press: Cambridge.

LIN, J.; DOU, J.; XU, J.; AISA, H. A. Chemical Composition, Antimicrobial and Antitumor Activities of the Essential Oils and Crude Extracts of *Euphorbia macrorrhiza*. *Molecules* 2012, 17, 5030-5039; doi:10.3390/molecules17055030

LOLIGER, J. *Em Free radicals in food additives*; Auroma, I. O.; Halliwell, B., eds.; Taylor & Francis: London, 1991.

MANTLE, D.; ANDERTON, J. G.; FALKOUS, G.; BARNES, M.; JONES, P.; PERRY, E. K.; *COMP. BIOCHEM. PHYSIOL., PART B: BIOCHEM. MOL. BIOL.* 1998, 121, 385.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S. B.; COSTA, S. MARIA O.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 19(1B): 315-320, Jan./Mar. 2009

PEREIRA, A.Q.; CHAVES, F.C.M.; PINTO, S.C.; LEITÃO, S.G.; BIZZO, H.R. Isolation and Identification of *cis*-7-Hydroxycalamenene from the Essential Oil of *Croton cajucara* Benth. *J. Essent. Oil Res.*, 23, 20–23. 2011.

PRIETO P, PINEDA M, AGUILAR M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem.* 1999;269:337–41.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T.; *Food Chem.* 2000, 69, 167.

SANTOS, F. A. Atividade antibacteriana, antinoceptiva e anticonvulsivante dos óleos essenciais *Psidium guyanenses* PERS. e *Psidium pohlianum* BERG. Dissertação de mestrado, UFC, Fortaleza, 1997.

SANTOS, G. K. N.; DUTRA, K. A.; LIRA, C. S.; LIMA, B. N.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G.; MARANHÃO, C. A.; BRANDÃO, S. S. F.; NAVARRO, D. M. A. F. Effects of *Croton rhamnifolioides* Essential Oil on *Aedes aegypti* Oviposition, Larval Toxicity and Trypsin Activity. *Molecules*, 19, 16573-16587; doi:10.3390/molecules191016573, 2014.

XIMENES RM1, DE MORAIS NOGUEIRA L, CASSUNDÉ NM, JORGE RJ, DOS SANTOS SM, MAGALHÃES LP, SILVA MR, DE BARROS VIANA GS, ARAÚJO RM, DE SENA KX, DE ALBUQUERQUE JF, MARTINS RD. Antinociceptive and wound healing activities of *Croton adamantinus* Müll. Arg. essential oil. *J. Nat Med.* 2013 Oct; 67(4):758-64. doi: 10.1007/s11418-012-0740-1. Epub 2013 Jan 22.