Atividade Antioxidante de Extratos de *Aloysia gratissima*

Vitória dos Santos Cezar[1], Letiere Cabreira Soares[2], Fernanda Oliveira lima[3] ,Dennicley da silva Araujo[4] , Josiane de Almeida Freire [5], Gabriel Felipe Rohling[6]

[1]Universidade Federal da Fronteira sul, Realeza, Brasil (vitoria.cezar@estudante.edu.uffs.br)[2]Universidade Federal da Fronteira sul, Realeza, Brasil.

Resumo: O estudo avaliou a atividade antioxidante de extratos de Aloysia gratissima obtidos com diferentes solventes e tempos de extração para uso em biodiesel. Este biocombustível sofre oprocesso de oxidação devido a fatores. Os extratos foram produzidos por infusão com água, etanol e metanol com as concentrações de 30 g/L 40 g/L 60g/L . A atividade antioxidante foi medida via captura do radical DPPH. Os extratos metanólico e aquoso tiveram maior valores de captura do radical, atingindo 99,6% e 99,3%respectivamente. Esses resultados indicam que os extratos podem atuar como antioxidantes naturais promissores para aumentar a estabilidade oxidativa do biodiesel, .

Palavras-chave: antioxidante; biodiesel; DPPH; *Aloysia gratissima*; extratos vegetais.

INTRODUÇÃO

O biodiesel é considerado uma alternativa renovável aos combustíveis fósseis, porém apresenta suscetibilidade à degradação oxidativa devido à presença de ácidos graxos insaturados em sua composição. Esse processo reduz a estabilidade do combustível e compromete suas propriedades físico-químicas, tornando necessária a utilização de aditivos antioxidantes para aumentar sua vida útil.(Ramos, 2017; Almeida, 2023). .

Nesse contexto, compostos naturais provenientes de plantas vêm sendo estudados como alternativa aos antioxidantes sintéticos. A espécie *Aloysia gratissima* destaca-se pela presença de compostos fenólicos, flavonoides e óleos essenciais com potencial atividade antioxidante. A eficiência antioxidante desses compostos depende diretamente do método de extração, do solvente empregado e das condições experimentais utilizadas. (Viana e Arenari, 2019).

Assim, este trabalho teve como objetivo produzir extratos de *Aloysia gratissima* utilizando diferentes solventes e tempos de extração e o óleo essencial, avaliando sua atividade antioxidante pelo método da captura do radical DPPH, visando futura aplicação como aditivo antioxidante em biodiesel.(Souza et al., 2022)

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal de *Aloysia gratissima* foi coletado no município de Quaraí, Rio Grande do Sul, Brasil. Após a coleta, as folhas foram secas à sombra e armazenadas sob refrigeração.

Os extratos foram obtidos pelo método de infusão utilizando os solventes água, etanol e metanol, nas concentrações de 20, 40 e 60 g/L, com tempos de extração de 15, 30 e 45 minutos. Já o óleo essencial foi obtido por extração em soxhlet.

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo método de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), monitorando-se a redução da absorbância em 515 nm. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA e Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), adotando-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

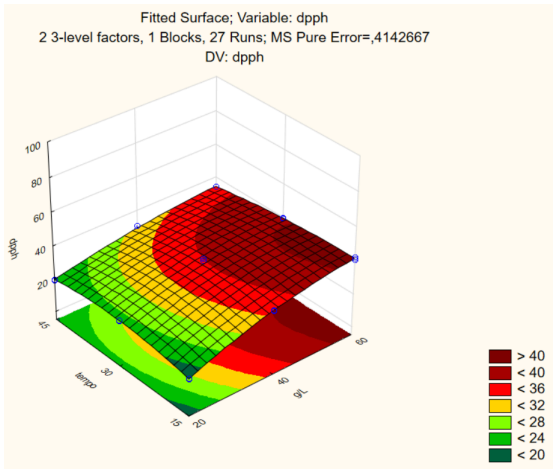
A atividade antioxidante do extrato etanólico aumentou conforme a concentração, confirmando o padrão observado anteriormente: o melhor desempenho ocorreu em 60 g/L aos 15 minutos, com 41,3% de sequestro do radical DPPH. Em concentrações menores, a atividade foi proporcionalmente reduzida, reforçando a relação direta entre concentração e capacidade antioxidante. Quanto ao tempo de reação, os intervalos iniciais (15 e 30 minutos) foram mais eficientes, enquanto em 45 minutos observou-se leve queda, possivelmente associada à estabilização da reação ou ao início da degradação de compostos fenólicos, conforme descrito na literatura. (Shahidi; Ambigaipalan, 2015).

A análise estatística demonstrou excelente ajuste do modelo experimental (R^2 = 0,99596 e R^2 ajustado = 0,99416), além de baixo erro puro, indicando alta confiabilidade dos resultados. Os fatores concentração e tempo apresentaram efeitos altamente significativos ($p < 0,0001$), sendo a concentração o principal fator responsável pelo aumento da atividade antioxidante, enquanto o tempo exerceu efeito inverso. A interação entre os fatores também foi significativa, confirmando dependência entre concentração e tempo.

Os elevados valores de F obtidos na ANOVA confirmaram forte influência das variáveis sobre a captura do radical DPPH. O etanol, por possuir polaridade intermediária, favorece a extração de compostos fenólicos e flavonoides antioxidantes (Sultana; Anwar; Ashraf, 2009). Contudo, o extrato etanólico apresentou desempenho inferior aos extratos metanólico e aquoso, corroborando estudos de Gobbo-Neto e Lopes (2007), Lima et al. (2012), Santos et al. (2023) e Simões et al. (2017), que destacam a influência do solvente e das condições de extração na obtenção de metabólitos antioxidantes.

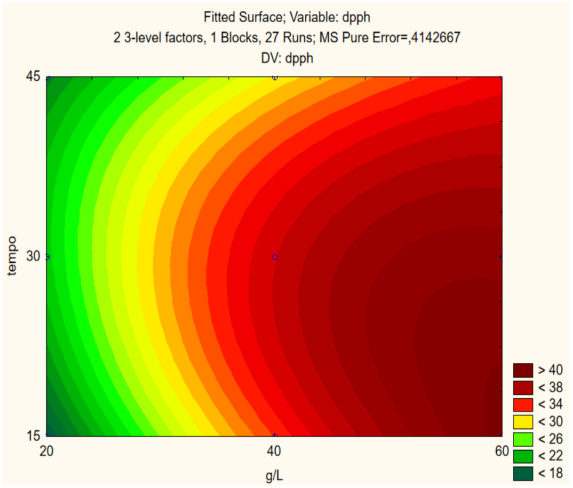
Figura 1 - Superfície de resposta (1A) e linhas de contorno (1B) da análise estatística para captura do radical DPPH empregando o extrato etanólico.

Superfície de resposta



(1A)

linhas de contorno



(1B)

O extrato aquoso apresentou elevada atividade antioxidante pelo método DPPH, com aumento da captura do radical conforme a elevação da concentração. O melhor resultado foi obtido em 60 g/L e 45 minutos, alcançando 99,3 ± 0,3% de inibição. Esse comportamento pode estar relacionado à elevada extração de compostos fenólicos hidrossolúveis, reconhecidos por sua capacidade sequestrante de radicais livres (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Simões et al., 2017). Resultados semelhantes foram relatados por Lima et al. (2012) e Santos et al. (2023), que observaram elevada atividade antioxidante em espécies do gênero *Aloysia*, associada à presença de compostos fenólicos extraídos em solventes polares. Estudos anteriores também relatam elevada atividade antioxidante para a espécie, como observado no *(Da silva et al., 2023)*.

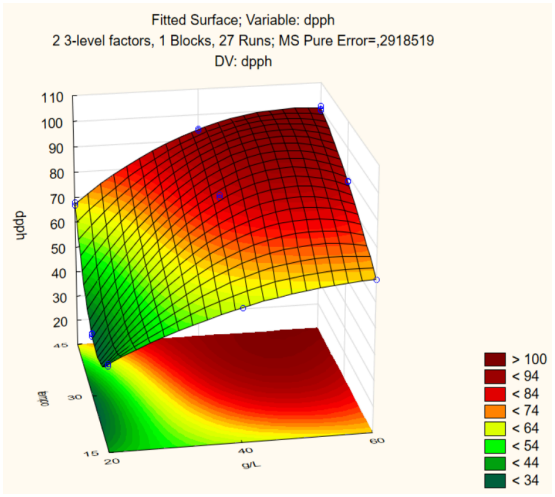
A ANOVA demonstrou que concentração, tempo e a interação entre os fatores apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$), com elevados valores de F e baixo erro puro, indicando alta confiabilidade experimental. O modelo apresentou excelente ajuste estatístico (R^2 = 0,99957 e R^2 ajustado = 0,99938), evidenciando elevada capacidade preditiva da superfície de resposta.

A superfície de resposta e o gráfico de contorno confirmaram um ponto ótimo em 60 g/L e 45 minutos, região em que ocorreu máxima atividade antioxidante. Esses resultados corroboram Gobbo-Neto e Lopes (2007), Lima et al. (2012), Santos et al. (2023) e Simões et al. (2017), que destacam a influência da polaridade do solvente, concentração e tempo de extração na obtenção de

compostos antioxidantes em espécies do gênero *Aloysia*.

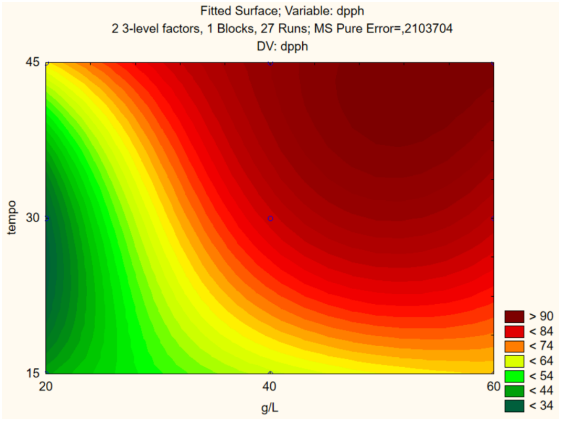
Figura 2 - Superfície de resposta (2A) e linhas de contorno (2B) da análise estatística para captura do radical DPPH empregando o extrato aquoso.

Superfície de resposta



(2A)

linhas de contorno



(2B)

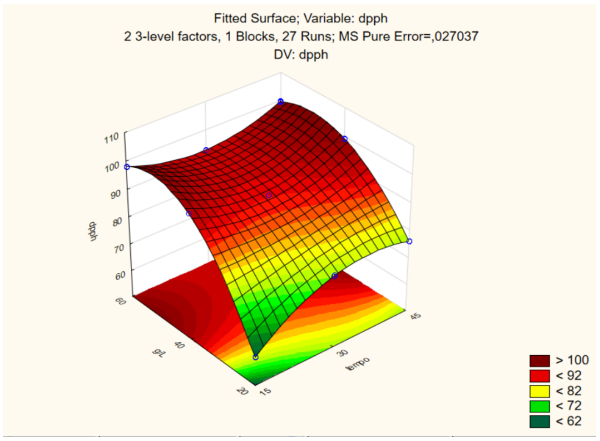
O extrato metanólico apresentou a maior atividade antioxidante entre os solventes avaliados, atingindo 99,6 ± 0,2% de captura do radical DPPH em 60 g/L e 45 minutos. O aumento da concentração promoveu elevação significativa da atividade antioxidante, resultado associado à alta polaridade do metanol, que favorece a extração de compostos fenólicos antioxidantes (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Simões et al., 2017). Resultados semelhantes foram relatados por Lima et al. (2012) e Santos et al. (2023) em espécies do gênero *Aloysia*.

A ANOVA demonstrou que concentração, tempo e a interação entre os fatores apresentaram efeito altamente significativo ($p<0,05$). O modelo apresentou excelente ajuste estatístico ($R^2 = 0,99989$; R^2 ajustado = 0,99984) e baixo erro puro (MS = 0,027), indicando elevada confiabilidade experimental.

A superfície de resposta e as linhas de contorno confirmaram que a máxima atividade antioxidante ocorreu nas maiores concentrações e tempos de extração, evidenciando efeito combinado entre os fatores e proximidade de um ponto ótimo dentro da região experimental avaliada.

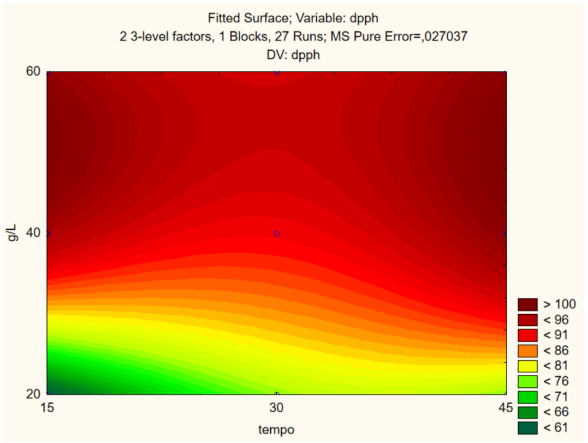
Figura 3 - Superfície de resposta (3A) e linhas de contorno (3B) da análise estatística para captura do radical DPPH empregando o extrato metanólico.

Superfície de resposta



(3A)

linhas de contorno



(3B)

A atividade antioxidante do óleo essencial foi avaliada pelo método de sequestro do radical DPPH em diferentes concentrações, evidenciando comportamento não linear em função do aumento da concentração.
Observou-se que a maior porcentagem de inibição ocorreu na concentração de 3,15% (32,3 ± 4,1%), seguida pelas concentrações de 12,25% (30,2 ± 0,0%) e 25% (30,0 ± 0,3%). Em contrapartida, concentrações mais elevadas, como 100% (25,6 ± 4,0%) e 50% (19,8 ± 0,3%), apresentaram menores percentuais de captura do radical, indicando que o aumento da concentração não resultou em incremento proporcional da atividade antioxidante.

Esse comportamento está de acordo com o descrito por Bakkali et al. no capítulo Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils, no qual os autores discutem que a atividade antioxidante de óleos essenciais pode apresentar dependência da concentração de forma não linear. Segundo os autores, essa resposta pode ser atribuída a limitações físico-químicas inerentes à natureza lipofílica dos óleos essenciais, especialmente quando avaliados em sistemas reacionais predominantemente polares, como aqueles empregados no ensaio de DPPH, entre os fatores apontados destacam-se a baixa solubilidade dos constituintes do óleo em meio metanólico ou etanólico, que pode comprometer a homogeneização do sistema; a possível formação de agregados moleculares em concentrações mais elevadas, reduzindo a área efetiva de contato com o radical livre; e ainda a interferência na leitura espectrofotométrica decorrente de turbidez ou espalhamento de luz. Tais fatores podem resultar na redução aparente da eficiência do sequestro radical em concentrações mais altas.(Bakkali, Averbeck s, Averbeck d, Idaomar, 2008)

Dessa forma, os resultados obtidos indicam que diluições intermediárias favoreceram a interação entre os compostos bioativos do óleo e o radical DPPH, promovendo maior eficiência antioxidante. Conclui-se, portanto, que a atividade antioxidante do óleo essencial avaliado é dependente da concentração de maneira não linear, corroborando as discussões apresentadas na literatura especializada

.Os resultados confirmam que *Aloysia gratissima* apresenta elevado potencial antioxidante, especialmente nos extratos obtidos com solventes polares.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos confirmam que Aloysia gratissima apresenta elevado potencial antioxidante, especialmente nos extratos obtidos com solventes polares, com destaque para os extratos aquoso e metanólico, que apresentaram percentuais superiores a 99% de captura do radical DPPH nas condições avaliadas. Os testes realizados demonstraram que a concentração do extrato e o tempo de extração influenciam significativamente a atividade antioxidante, evidenciando a importância da otimização das condições experimentais para maximizar a obtenção de compostos bioativos.

Dessa forma, os resultados indicam que os extratos de Aloysia gratissima possuem potencial para futura aplicação como aditivos antioxidantes naturais em biodiesel, contribuindo para o aumento da estabilidade oxidativa do biocombustível e para o desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis aos antioxidantes sintéticos. Além disso, os dados obtidos fornecem base para estudos futuros envolvendo testes diretamente em biodiesel, avaliação da estabilidade oxidativa em condições reais de armazenamento e identificação dos compostos responsáveis pela atividade antioxidante observada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), ao grupo de pesquisa e ao programa de iniciação científica e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte e fomento ao desenvolvimento do projeto.

REFERÊNCIAS

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Antioxidant and antimicrobial

activities of essential oils. In: _____. *Biological effects of essential oils*. Food and Chemical Toxicology, v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.

CHABARIBERI, R. D. A., Pozzi, A., Zeraik, M. L. & Yariwake, J. H. Determinação espectrométrica dos flavonóides das folhas de Maytenus (Celastraceae) e de Passiflora (Passifloraceae) e comparação com método CLAE-UV. Rev. Bras 19(4), 860–864. https:// doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600011 (2009).

DA SILVA, Francisco Laerte Lopes et al. Toxicological potential of Aloysia gratissima: insights from chemical analysis and in vitro studies. Journal of Ethnopharmacology, v. 314, p. 116614, 2023. DOI: 10.1016/j.jep.2023.116614.

DUARTE-ALMEIDA, J. M., et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 26(2), p. 446-452, 2006.

GOBBO-NETO, Leonardo; LOPES, Norberto Peporine. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 374–381, 2007.

LIMA, R. K. et al. Composição química e atividade antioxidante de extratos de *Aloysia citriodora*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 14, n. 2, p. 310-315, 2012.

SANTOS, A. C. et al. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Aloysia citrodora*. *Journal of Essential Oil Research*, 2023.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, v. 18, p. 820–897, 2015.

SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2017.

SULTANA, B.; ANWAR, F.; ASHRAF, M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, v. 14, n. 6, p. 2167–2180, 2009.