

PERFIL QUÍMICO DE COMPOSTOS FENÓLICOS OBTIDOS DE CALOS DE *Cereus peruvianus* Mill. CULTIVADOS EM MEIO DE CULTURA ALTERNATIVO

Aline Savam¹ (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Arildo José Braz de Oliveira², Éverton da Silva Santos³ (Coorientador) Regina Aparecida Correia Gonçalves⁴ (Orientadora) e-mail: ra104001@uem.br¹, ajboliveira@uem.br², everton.ds.santos@hotmail.com³, racgoncalves@uem.br⁴

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Química – Química de produtos naturais

Palavras-chave: *Cereus peruvianus* - Antioxidante - Cultura *in vitro*

Resumo:

O *Cereus peruvianus* é utilizado na medicina popular e na indústria, porém o extrativismo ameaça a espécie. Este trabalho pesquisou o estabelecimento de uma cultura alternativa de calos (sem o uso de ágar) de *C. peruvianus*, a presença de compostos fenólicos, bem como o potencial antioxidante e a utilização de metanol e etanol como extratores, visando a extração dos metabólitos de interesse. A cultura alternativa, bem como o etanol, apresentaram resultados promissores, o que permite considerar a substituição dos métodos convencionais de culturas e extrações.

Introdução

O *Cereus hildmannianus* (K.) Schum. (sin. *C. peruvianus* (L.) Mill.) é uma planta ereta, colunar, com até 15 metros de altura, cuja floração ocorre de outubro a janeiro e apresenta frutos carnosos e alaranjados (Bruxel e Jasper, 2005). Tradicionalmente, é utilizado na prevenção de doenças cardiovasculares, apresentando potencial anticarcinogênico, e de acordo com Souza et al. (2016) apresenta aplicações como agente floculante e no tratamento de efluentes. O extrativismo desordenado das plantas *in natura* pode ameaçá-las de extinção, e a biotecnologia vegetal é uma ferramenta viável não só para obtenção de compostos bioativos, mas também para a preservação do meio ambiente. O presente trabalho visou avaliar o potencial antioxidante dos extratos brutos obtidos da cultura de calos de *C. hildmannianus* cultivados em cultura convencional (presença de ágar), meio Murashige e Skoog, 1962 (MS), comparada a cultura alternativa (ausência de ágar) em MS, por meio de espectrofotometria de UV/Vis, utilizando os extratos da planta *in natura* como controle.

Materiais e métodos

Extrações

Foram realizadas pelo método de maceração exaustiva, à temperatura ambiente utilizando etanol (EtOH) e metanol (MeOH), os extratos posteriormente foram rota-evaporados e liofilizados, gerando as seguintes amostras: Extrato bruto etanólico da planta (EBE-P); Extrato bruto etanólico de calos com ágar (EBE-CC); Extrato bruto etanólico de calos sem ágar (EBE-CS); Extrato bruto metanólico da planta (EBM-P); Extrato bruto metanólico de calos com ágar (EBM-CC); Extrato bruto de calos sem ágar (EBM-CS).

Cultivo dos calos

Os tecidos calosos foram obtidos por culturas mantidas em meio MS, com 3% de ágar (convencional). Estes calos foram sub-cultivados em placas de Petri, contendo uma fina camada de algodão recoberta com papel filtro embebido em meio MS líquido (alternativo). As culturas foram incubadas a 30 ± 1 °C por 90 dias com fotoperíodo de 16 h claro/8 h escuro.

Análises espectrofotométricas

Para análise de compostos fenólicos totais (CFT) foram adicionados 40 µL das amostras, reagidas com 3,16 mL de H₂O, 600 µL de carbonato de sódio e 200 µL do reagente de Folin Ciocalteu, incubados por 30 min e lidas a 760 nm, os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (µg EAG mg⁻¹ PS - peso seco). Para análise de flavonoides totais (FT) foram adicionados 1,5 mL das amostras, reagidas com 3,4 mL de ácido acético 5% e 100 µL de cloreto de alumínio (5%). Os tubos foram incubados por 30 min e a leitura feita em 425 nm, os resultados foram expressos em equivalentes de quercetina (µg EQ mg⁻¹ PS). Para as análises da atividade antioxidante (AA), utilizou-se dois métodos: por DPPH, no qual foram adicionados 25 µL das amostras e 2,0 mL da solução de DPPH ($6,25 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹) e incubados por 30 min e a leitura feita em 517 nm, os resultados foram expressos em µmol de Trolox mg⁻¹ PS. E pelo método do FRAP, no qual foram adicionados 100 µL das amostras, 300 µL de H₂O e 3,0 mL da solução de FRAP, e após incubados por 30 min a 37 °C e a leitura feita em 593 nm, os resultados foram expressos em µmol de Trolox mg⁻¹ PS. Todas as análises foram realizadas em triplicatas, as leituras foram realizadas em espectrofotômetro Varian (Cary-1E) e os resultados obtidos através da interpolação das absorvâncias nas curvas analíticas.

Resultados e Discussão

A Química Verde se traduz no esforço de minimizar o uso ou a produção de substâncias nocivas à saúde humana e ambiental. Um de seus princípios

elementares se volta aos solventes e preconiza que, se não for possível eliminar o seu uso, deve-se optar pelo solvente mais inócuo possível. A escolha do etanol, portanto, está sustentada nesse princípio. Ponderando então a razão custo/benefício o etanol é uma alternativa ao metanol, porque seu impacto e risco a saúde são menores (Lenardão, 2003).

Os resultados mostraram que os extratos das culturas *in vitro* apresentaram um maior rendimento extrativo em biomassa (Tabela 1). Os resultados também mostraram que o EBE-CS apresentou uma maior produção de CFT (extraído com EtOH), em comparação as culturas convencionais (extraídas com EtOH e MeOH) (Figura 1A). Nos resultados dos FT, as extrações foram mais eficientes com EtOH nas culturas convencionais, e com MeOH nas culturas alternativas (Figura 1B), resultados estes que oferecem um direcionamento para quais grupos de substâncias de interesse bioproduzir com estas culturas, visando atividades biológicas. Em relação as AA por DPPH, o EBE-CC extraído com MeOH apresentou os melhores resultados, pela maior presença de FT (Figura 2A), enquanto frente ao método FRAP (Figura 2B), o EBE-CS extraído com EtOH, se mostrou mais ativo, relacionado a maior presença de CFT. A planta *in natura* foi utilizada como controle, para avaliar se as culturas *in vitro* apresentam capacidade metabólica de produzirem os metabólitos de interesse. O EtOH, se mostrou um bom substituinte ao MeOH, buscando a economia e a sustentabilidade.

Tabela 1. Rendimento extrativo da planta e das culturas de calos de *C. hildmannianus*.

Amostras	Etanólico (%)	Metanólico (%)
Extratos brutos da planta	10,58	10,82
Extratos brutos dos calos convencionais	18,36	23,05
Extratos brutos dos calos alternativos	21,96	34,67

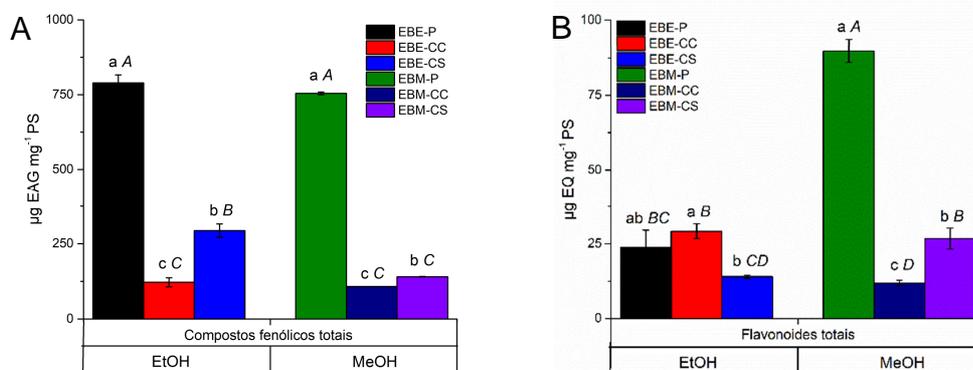


Figura 1. Doseamentos colorimétricos: A) Compostos fenólicos totais; B) Flavonoides totais.

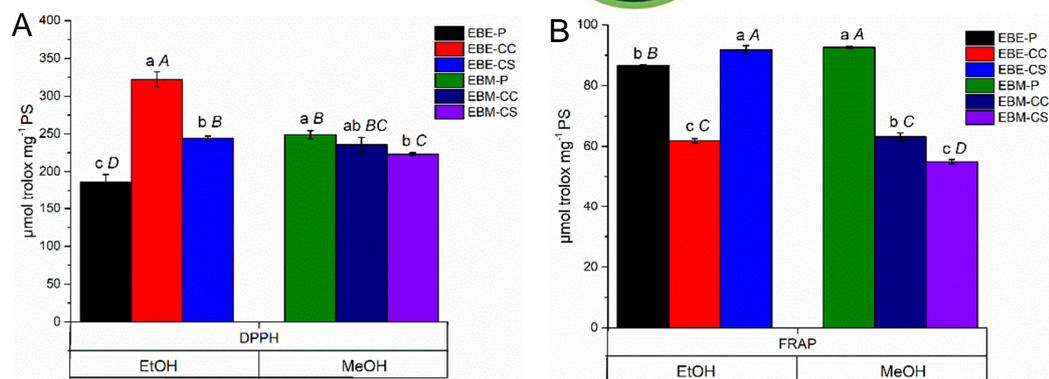


Figura 2. Atividades antioxidantes: A) Método DPPH; B) Método FRAP.

O interesse por substâncias antioxidantes tem aumentado devido à sua participação na prevenção de doenças cardiovasculares e disfunções cerebrais. Nas plantas, essa atividade está relacionada à presença de compostos fenólicos, cujas estruturas químicas são eficientes para captura e inativação de radicais livres devido sua capacidade redutora, a ressonância do anel aromático e a capacidade de quelação de metais (Sousa, 2007).

Conclusões

A utilização de etanol como solvente extrator e as culturas alternativas de *C. hildmannianus*, se mostraram promissoras, buscando reduzir o impacto ambiental nos processos de obtenção de compostos fenólicos com potencial antioxidante.

Agradecimentos

Aos grupos Labipros, Labiotec e LBV da UEM, à Universidade Estadual de Maringá e, em especial, à Capes/Cnpq.

Referências

SOUZA, M.T.F. et al. Extraction and use of *Cereus peruvianus* cactus mucilage in the treatment of textile effluents. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 67, p. 174-183, 2016.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

BRUXEL, J.; JASPER, A. A família Cactaceae na Bacia Hidrográfica do Rio Taquari, RS, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 19, n. 1, p. 71-79, 2005.

LENARDÃO, E. J. et al. "Green chemistry": os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.