

OTIMIZAÇÃO DA ANÁLISE DE POLIFENÓIS TOTAIS EM EXTRATO DE *Stryphnodendron adstringens*: INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE CARBONATO DE SÓDIO

Giovanna Rafaela Benate Zanatto (PIC/UEM), Bárbara Longhini Gonzalez (Coorientadora), João Carlos Palazzo de Mello (Orientador). E-mail: ra130471@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Farmácia/Farmacognosia

Palavras-chave: Barbatimão; Folin-Ciocalteu; Validação analítica;

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo otimizar a análise de polifenóis totais no extrato bruto de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (barbatimão) pelo método de Folin-Ciocalteu em leitora de microplacas, avaliando a influência de diferentes concentrações de carbonato de sódio anidro. As cascas da espécie foram coletadas, processadas e submetidas à preparação de extrato bruto liofilizado. Para a análise, o extrato foi diluído e submetido à reação com o reagente de Folin-Ciocalteu, em presença de soluções de carbonato de sódio a 10,75%, 14,6% e 20% (p/v). As amostras foram distribuídas em microplaca de 96 poços, em triplicata, e as leituras de absorvância foram realizadas no intervalo de 400 a 900 nm. Os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações testadas, sendo que a solução a 10,75% apresentou valores de absorvância mais elevados em praticamente todos os comprimentos de onda. Verificou-se, ainda, que a região próxima a 760 nm foi a mais sensível para a quantificação. Conclui-se que a condição mais eficiente para a determinação de polifenóis totais corresponde ao uso da concentração de 10,75% de carbonato de sódio anidro associada à leitura em 760 nm, assegurando maior precisão e confiabilidade ao método.

INTRODUÇÃO

A validação analítica é fundamental para assegurar a confiabilidade e a reprodutibilidade de métodos em análises químicas e farmacêuticas, garantindo sua adequação ao propósito definido e o atendimento às exigências regulatórias (Blainski, 2010; 2013). Nesse processo, a otimização metodológica permite ajustar condições analíticas para obter maior eficiência e menor variabilidade dos resultados, aumentando a confiabilidade do método.

O *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville, conhecido como Barbatimão, é uma espécie nativa do Cerrado amplamente utilizada como cicatrizante, anti-inflamatório, antibacteriano e adstringente, devido ao elevado teor de taninos. Esses

compostos fenólicos apresentam ampla diversidade de atividades biológicas e estão diretamente associados à qualidade e à eficácia de extratos e produtos derivados. Nesse contexto, a quantificação de polifenóis totais configura-se como parâmetro essencial de controle de qualidade, permitindo a padronização do extrato para aplicação em medicamentos fitoterápicos e tradicionais (Gonzalez, 2024).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo otimizar a análise de polifenóis totais do extrato bruto de Barbatimão por espectrofotometria em leitora de microplacas, avaliando a influência da concentração de carbonato de sódio anidro como etapa preliminar à validação completa da metodologia.

MATERIAIS E MÉTODOS

As cascas de *S. adstringens* foram coletadas em São Jerônimo da Serra (PR) em março de 2008 e registradas no herbário da Universidade Estadual de Maringá (HUEM-14321). O material foi seco à temperatura ambiente, triturado em moinho de martelos e encontra-se cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen, sob o número A06ADCB (Gonzalez, 2024).

O extrato bruto (EB) foi preparado a partir das cascas pulverizadas, utilizando acetona e água na proporção 7:3 (v/v), e submetido à turbólise com Ultra-turrax® (UTC115KT) durante 20 min de agitação total. Em seguida, o extrato foi filtrado e submetido à rotaevaporação a 45 °C sob pressão reduzida, para remoção do solvente orgânico. Após esse processo, o extrato livre de solvente foi congelado em nitrogênio líquido e liofilizado (Gonzalez, 2024).

A otimização da análise de polifenóis totais avaliou diferentes concentrações de carbonato de sódio anidro e o comprimento de onda de absorção máxima, com análises realizadas em triplicata para garantir confiabilidade. Inicialmente, 1,0 mg do EB foi dissolvido em 1 mL de água destilada, e 600 µL dessa solução foram diluídos em balões de 2,0 mL, completando-se o volume com água destilada.

Para a determinação de polifenóis, em balões de 1,0 mL foram adicionados 400 µL de água, 80 µL da solução diluída de EB e 40 µL do reagente de Folin-Ciocalteu, completando-se o volume com carbonato de sódio anidro em três concentrações (10,75%, 14,6% e 20% p/v). As amostras foram transferidas para microplacas de 96 poços em triplicata, e as absorvâncias foram registradas em leitora de microplacas para comparação entre as concentrações testadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da influência de diferentes concentrações de carbonato de sódio anidro na determinação de polifenóis totais evidenciou diferenças estatisticamente significativas na absorvância entre as soluções testadas. A análise espectrofotométrica das amostras, realizada entre 400 e 900 nm, permitiu identificar variações no perfil de absorvância em função da concentração do reagente, conforme apresentado na Figura 1.

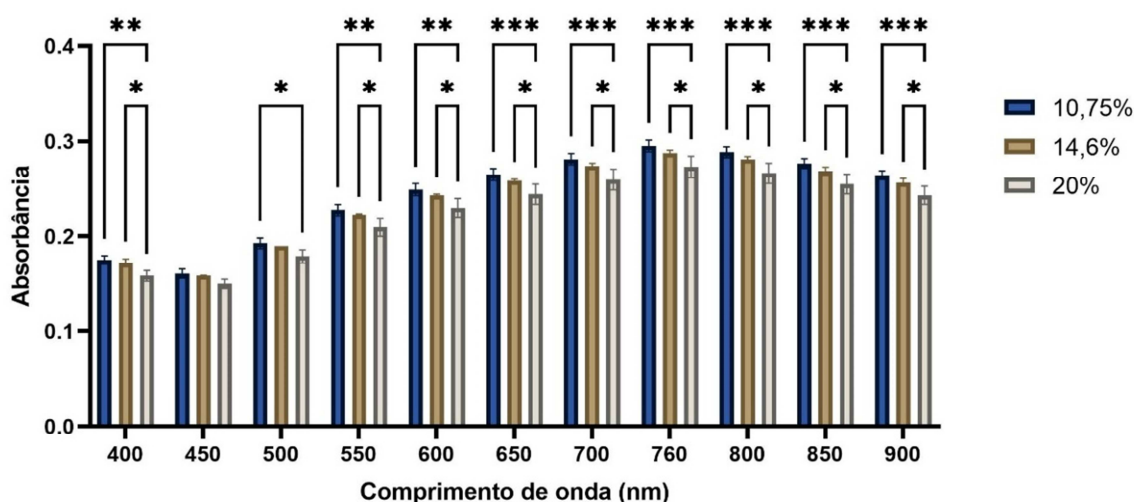


Figura 1 – Influência das diferentes concentrações de carbonato de sódio anidro na absorvância de polifenóis totais entre 400 e 900 nm.

Conforme ilustrado na Figura 1, a solução de 10,75% apresentou valores de absorvância consistentemente superiores em relação às concentrações de 14,6% e 20% ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$) em praticamente todos os comprimentos de onda avaliados. Esses resultados indicam que a menor concentração testada promoveu maior eficiência da reação colorimétrica e, consequentemente, maior sensibilidade do método.

Esse comportamento pode ser explicado pelo papel do carbonato de sódio no meio reacional. Por se tratar de um sal que alcaliniza o meio, ele favorece a ionização dos polifenóis, aumentando a capacidade redutora destes compostos, o que facilita a oxidação dos polifenóis pelo reagente de Folin-Ciocalteu, formando o complexo azul de tungstênio e molibdênio, cuja intensidade é diretamente proporcional à concentração de polifenóis presentes (Pérez, Dominguez-López e Lamuela-Raventós, 2023).

Concentrações mais elevadas de carbonato de sódio (14,6% e 20%) podem, entretanto, causar excesso de alcalinidade, promovendo instabilidade ou interferência no equilíbrio da reação, o que justifica os menores valores de absorvância. Além disso, observou-se que a faixa de 760 nm concentrou os maiores níveis de absorvância, sugerindo que essa região corresponde ao comprimento de onda de máxima sensibilidade para a quantificação.

Esse achado é consistente com a literatura, que destaca que a escolha adequada da concentração do reagente e do comprimento de onda é determinante para otimizar a quantificação de polifenóis totais, garantindo maior confiabilidade e eficiência analítica.

CONCLUSÕES

A análise demonstrou que a concentração de 10,75% de carbonato de sódio anidro foi a condição amostral mais eficiente para o método de determinação de poli-

fenóis totais, expondo maiores valores de absorvância em relação às outras concentrações de 14,6% e 20%. Ademais, o comprimento de onda de 760 nm destacou-se como o mais sensível para a quantificação. Esses resultados evidenciam a importância da padronização e, conseqüentemente, da otimização dos parâmetros experimentais, garantindo maior precisão, confiabilidade e qualidade analítica no método de Folin-Ciocalteu.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Biologia Farmacêutica – Palafito e à Universidade Estadual de Maringá (PIC/UEM) pelo apoio ao desenvolvimento científico.

REFERÊNCIAS

BLAINSKI, A. **Estudos farmacognóstico, desenvolvimento de metodologia analítica, atividade hormonal, toxicidade aguda e mutagenicidade *in vivo* de *Limonium brasiliense* (Boiss.) Kuntze (Plumbaginaceae) – Baicuru**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

GONZALEZ, B. L. **Análise do perfil fitoquímico da casca caulinar de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville e avaliação da atividade cicatrizante em células L-929**. 2024. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2024.

PÉREZ, M.; DOMINGUEZ-LOPEZ, I.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. The Chemistry Behind the Folin–Ciocalteu Method for the Estimation of (Poly)phenol Content in Food: Total Phenolic Intake in a Mediterranean Dietary Pattern. **Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington**, v. 71, n. 47, p. 17543-17553, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c04022>. Acesso em: 28 ago. 2025.