

EXTRAÇÃO DE SEMENTES DE *EUGENIA INVOLUCRATA* DC COM DIFERENTES MÉTODOS E SOLVENTES

Seed extraction of *Eugenia involucrata* DC with different methods and solvents

Bruna Maria Saorin Puton^{1*}; Julia Lisboa Bernardi²; Laís Thomazoni³; Guilherme Henrique Mazetto³; Jaqueline Smaniotto⁴; Ilizandra Aparecida Fernandes⁵; Rogério Marcos Dallago⁶; Natalia Paroul⁷; Rogério Luis Cansian⁸

¹ Doutoranda do Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim, Erechim, RS - Brasil. *E-mail*: *brunnamariasrn3@gmail.com

² Mestranda do Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

³ Graduandos do Curso de Engenharia Química da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

⁴ Bolsista de Iniciação Científica CNPq - Ensino Médio da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

⁵ Doutora em Engenharia de Alimentos, Pós-Doutoranda da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

⁶ Doutor em Química (UFRGS), professor da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

⁷ Doutora em Biotecnologia (UCS), professora da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

⁸ Doutor em Ecologia e Recursos Naturais (UFSCar), professor da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - URI Erechim.

Data do recebimento: 09/03/2022 - Data do aceite: 21/07/2022

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antioxidante, o teor de compostos fenólicos e flavonoides e a atividade antibacteriana de diferentes extratos de semente de *Eugenia involucrata* obtidos por extrações sucessivas em Soxhlet e por maceração, utilizando os solventes hexano e álcool etílico. A atividade antioxidante foi fundamentada na medida da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH^{*}) em 515 nm. O teor de compostos fenó-

licos totais foi avaliado pelo método de Folin Ciocalteu e, os flavonoides, pelo método com nitrato de alumínio e acetato de potássio. A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição seriada em meio de cultura. A atividade antioxidante foi maior para os extratos obtidos com álcool etílico, sendo de 0,1390 mg/mL para o extrato macerado e 0,1704 mg/mL para o obtido por soxhlet. Em relação aos compostos fenólicos e flavonoides, o extrato etanólico, obtido por soxhlet, apresentou maior valor, 41,18 mg.EAG/g e 2,76 mg.EQ/g, respectivamente. Quanto à faixa de inibição da CIM, os valores situaram-se entre 25 a 200 mg/mL. A extração das sementes de *E. involucrata* com a utilização de solventes polares pode gerar extratos com potencial antioxidantes, que podem ser utilizados pela indústria de alimentos e de cosméticos.

Palavras-chave: Cerejeira. Extrato etanólico. Extrato hexanólico. Métodos de extração.

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the antioxidant activity, the content of phenolic and flavonoid compounds and the antibacterial activity of different *E. involucrata* seed extracts obtained through successive extractions in Soxhlet and through maceration, using the solvents hexane and ethyl alcohol. The antioxidant activity was based on the measurement of the absorption of the 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH[•]) radical at 515 nm. The content of total phenolic compounds was evaluated through Folin Ciocalteu method and the flavonoids by the aluminum nitrate and potassium acetate method. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by the serial microdilution method in culture medium. The antioxidant activity was higher for the extracts obtained with ethyl alcohol, being 0.1390 mg/mL for the macerated extract and 0.1704 mg/mL for the soxhlet extract. In relation to phenolic compounds and flavonoids, the ethanol extract obtained by soxhlet showed the highest value, 41.18 mg.EAG/g and 2.76 mg.EQ/g, respectively. As for the MIC inhibition range, the values ranged from 25 to 200 mg/mL. The extraction of *E. involucrata* seeds using polar solvents can generate extracts with antioxidant potential, which can be used by the food and cosmetics industry.

Keywords: Cherry tree. Ethanol extract. Hexanol extract. Extraction methods.

Introdução

O metabolismo celular produz moléculas reativas e instáveis, como as Espécies Reativas de Oxigênio ou as Espécies Reativas de Nitrogênio, que devido à sua alta reatividade atacam e causam danos a diversas moléculas

no organismo, podendo gerar doenças degenerativas, cardíacas, oculares, disfunções cerebrais, comprometimento do sistema imune e envelhecimento precoce (MELO et al., 2011). Como forma de proteção, as células contam com o sistema antioxidante, que pode ser enzimático ou não enzimático (BELINSKAIA et al., 2020).

O sistema enzimático é formado principalmente pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx). Seu funcionamento ocorre através de reações que transformam espécies reativas em moléculas inertes (BARBOSA et al., 2010). Já o sistema não enzimático neutraliza as espécies reativas através de substâncias capazes de doar elétrons, as quais se tornam radicais inertes ou com menor efeito nocivo (SOARES, 2002).

Os antioxidantes não enzimáticos são divididos em endógenos, quando produzidos pelo próprio organismo humano, como proteínas de ligação a metais, ácido úrico, melatonina, bilirrubina e poliaminas e os exógenos, obtidos através da alimentação, entre eles as vitaminas, minerais (Zn, Mn, Cu, Se), carotenoides e compostos bioativos, como compostos fenólicos, flavonoides, entre outros (MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA; WITKOWSKA; ZUJKO, 2018).

A grande biodiversidade vegetal brasileira pode representar uma solução sustentável para diversificar as fontes de compostos bioativos e estimular estudos com espécies nativas pouco exploradas. O gênero *Eugenia* (Myrtaceae) é um exemplo da biodiversidade da Mata Atlântica e grande parte de suas espécies são relatadas como potenciais antioxidantes naturais (ARAÚJO et al., 2019).

A espécie *Eugenia involucrata* é nativa da região Sul do Brasil, conhecida popularmente como cereja do mato ou cereja-do-rio-grande seu consumo é realizado *in natura* ou em produtos artesanais como doces, geleias e licores (SATO et al., 2018). Os estudos realizados com sementes e frutos de *E. involucrata* observaram a presença de ácido gálico e epicatequina nas sementes e ácido cumárico nos frutos (INFANTE et al., 2016).

Segundo Girardelo (2020), os extratos das sementes de *E. involucrata* apresentaram maior potencial antioxidante que os extratos das frutas, o que corrobora com o estudo de

Nicácio et al. (2017), que encontraram maior atividade antioxidante nas sementes do que nos frutos, apesar da maior quantidade de compostos fenólicos no fruto.

Entretanto, diferentes métodos e solventes de extração podem resultar em diferenças quantitativas e qualitativas de composição química dos extratos, bem como, diferenças nas suas atividades biológicas. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi determinar o teor de compostos fenólicos totais e flavonoides e avaliar o potencial de atividade antioxidante e antimicrobiano dos diferentes extratos de semente de *E. involucrata* obtidos por extrações sucessivas em aparelho extrator tipo Soxhlet e por maceração, utilizando os solventes hexano e álcool etílico.

Material e Métodos

Obtenção das Sementes

As sementes dos frutos maduros de *E. involucrata* foram coletadas na cidade de Erechim-RS no mês de Outubro de 2021 pelo período da manhã, sob as coordenadas de latitude Sul 27°37'29,5 e de longitude Oeste 52°14'24,3.

A exsicata foi identificada como *Eugenia involucrata* DC. (MYRTACEAE) e depositada no Herbário Padre Balduino Rambo da URI Erechim (HPBR), sob o número de tombo HPBR 12.648.

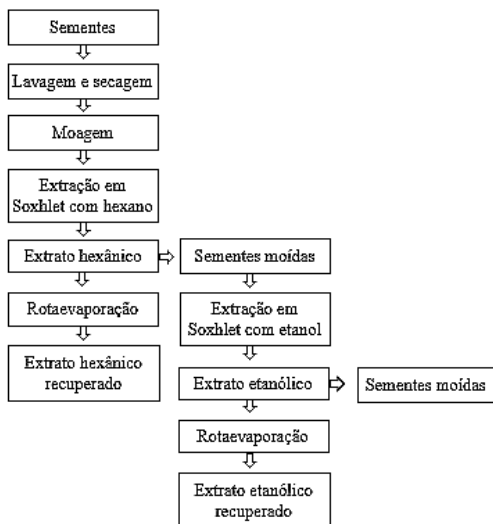
As sementes foram selecionadas e secas em estufa com circulação de ar (Fanem 320-SE) à temperatura aproximada de 40 °C, até atingir peso constante, sendo após armazenadas. Antes da extração as sementes, foram trituradas em liquidificador.

Obtenção dos Extratos por Soxhlet

A extração das sementes de *E. involucrata* foi conduzida em aparelho extrator tipo Soxh-

let pesando-se 50 g de amostra e adicionando-se em 200 ml de solvente, n-hexano (99%; Vetec) ou álcool etílico (99,3%; Química Moderna). A troca de solvente foi realizada com o critério de limpidez do solvente extrator. O tempo total de extração foi de 6 h, sendo utilizada a mesma amostra para a extração com os solventes de diferentes polaridades, iniciando com o solvente hexano e após o álcool etílico (BALLEN et al., 2019), conforme a Figura 1.

Figura 1 - Fluxograma das etapas de extração de sementes de *E. involucrata* por Soxhlet



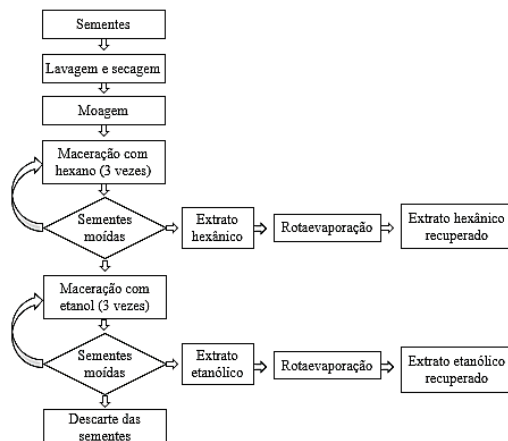
Após, os extratos brutos foram concentrados em evaporador rotativo (Marconi, MA 120) a vácuo na temperatura de 40 °C e armazenados a 4 °C até posterior ressuspensão no solvente e concentração desejados.

Obtenção dos Extratos por Maceração Dinâmica

A maceração das sementes de *E. involucrata* foi realizada de acordo com a metodologia descrita pela Farmacopéia Brasileira IV Ed. (1998 e 2002), com algumas modificações. A extração foi conduzida

com 10 g de semente moída e 120 mL de solvente, n-hexano (99%; Vetec) ou álcool etílico (99,3%; Química Moderna), sendo cada solvente adicionado em frações de 3 partes de 40 mL, visando minimizar a sua saturação (Figura 2).

Figura 2 - Fluxograma das etapas de extração de sementes de *E. involucrata* por maceração dinâmica



As amostras foram depositadas em uma câmara incubadora com agitação orbital (Ethiktechnology, Incubadora 430) a 150 rpm e 25°C. A fração de solvente foi trocada a cada 24 h, quando a cada troca as amostras foram filtradas com papel filtro (Whatman nº 1) e o filtrado (extrato) foi transferido para um balão de fundo redondo, previamente pesado, sendo utilizado um único balão para o mesmo solvente. A mesma amostra foi colocada em contato com o solvente hexano e após com álcool etílico, totalizando 72 h de contato com cada solvente. Após, os extratos brutos foram concentrados em evaporador rotativo (Marconi, MA 120) a vácuo na temperatura de 40 °C e armazenados a 4 °C até posterior ressuspensão no solvente e concentração desejados.

Ensaio de Eliminação de Radicais DPPH[•]

A metodologia da atividade antioxidante foi fundamentada na medida da extinção da

absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH[•]) (Sigma-aldrich) em 515 nm (SILVESTRI et al., 2010). A atividade antioxidante dos extratos de *E. involucrata* foi realizada em triplicata, em equipamento espectrofotômetro UV-Visível (Pró-Análise[®], UV-1600).

A técnica constituiu na incubação por 30 minutos de 0,5 mL de uma solução etanólica de DPPH[•] 0,1 mM com 0,5 mL de soluções contendo concentrações crescentes de amostra diluídas em álcool etílico (99,5%; Dinâmica). A solução controle foi obtida com 0,5 mL da solução de DPPH[•] e 0,5 mL de álcool etílico. Para o “branco” foi utilizado somente álcool etílico. A atividade de captura de radicais pelas amostras foi expressa como percentual de inibição de DPPH[•] e calculada a partir da Equação 1.

$$AA\% = \frac{100 - [(Abs.amostra - Abs.branco) * 100]}{Abs.controle} \quad (1)$$

Com os resultados da concentração e a porcentagem de atividade antioxidante, calculou-se a concentração de amostra necessária para capturar 50% do radical livre DPPH[•] (IC₅₀) por análise de regressão linear (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009).

Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, utilizando como padrão o ácido gálico. A amostra foi diluída na concentração de 1 mg/mL, após 0,5 mL foram colocados em um tubo de ensaio com 2,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 1:10, v/v) e 2 mL de Na₂CO₃ 4% (m/v). Em seguida, os tubos foram fechados e deixados no escuro por 2 h à temperatura

ambiente. Após o período de incubação, mediu-se a absorbância da amostra em aparelho espectrofotômetro UV-Visível (Pró-Análise[®], UV-1600), no comprimento de onda de 760 nm. Como “branco” utilizou-se álcool etílico. A presença de fenóis é caracterizada pela alteração da cor amarela para azul (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999).

O cálculo do teor de compostos fenólicos totais foi determinado através da curva padrão com ácido gálico ($y = 0,0068x + 0,028$; $R^2 = 0,9966$), sendo os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico (mg AG/g de extrato seco).

Determinação de Flavonoides

A determinação do teor de flavonóides seguiu a metodologia descrita por Garrido, Ortiz e Pozo (2013) com adaptações, utilizando como padrão a quercetina. O extrato de *E. involucrata* foi diluído na concentração de 1 mg/mL e adicionou-se 0,5 mL de amostra, 4,3 mL de etanol 70% (v/v), 0,1 mL de alumínio 10% (m/v) nitrato e 0,1 mL de acetato de potássio a 10% (m/v). As amostras foram incubadas por 40 minutos na ausência de luz. As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro (UV-1600, Pro-análise) a 415 nm e o conteúdo de flavonóides foi calculado usando uma curva padrão ($y = 0,0049x - 0,016$; $R^2 = 0,9970$) e expresso em equivalentes de quercetina (mg QE/g de extrato seco).

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada sobre as bactérias *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella enterica* sorovar Choleraesuis (ATCC 10708), obtidas da American Type Culture Collection.

As cepas foram crescidas previamente em meio Luria Bertani (LB) (10 g/L de triptona (Acumedia), 5 g/L de extrato de levedura (Himedia) e 5 g/L de NaCl (Dinâmica) durante 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica (J.PROLAB, JP 101). Após esse período, a suspensão bacteriana correspondia a aproximadamente 10^8 células/mL.

O teste consistiu em micro diluições seriadas dos extratos com caldo LB em microplacas de 96 poços. Em seguida, inoculou-se 10 µL de cultura bacteriana e efetuou-se a leitura (0 h) em leitor de microplaca (Bio Tek Instruments, EL 800), no comprimento de onda de 490 nm. Após, incubou-se a placa por 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica. Transcorrido esse período, realizou-se a leitura (24 h) da microplaca e averiguou-se a diferença da densidade da turbidez provocada pelo crescimento microbiano após 24 h (GAIO et al., 2015). A CIM foi definida como a menor concentração do extrato, em mg/mL, capaz de inibir o crescimento microbiano.

Análise Estatística

Os dados de rendimento de extração, atividade antioxidante e teor de fenólicos totais e flavonoides dos extratos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey com 95% de confiança, utilizando o software Past versão 2.17c.

Resultados e Discussão

Rendimento dos Extratos

O rendimento dos extratos hexânicos e etanólicos de *E. involucrata* estão apresentados na Tabela I. A extração por soxhlet com hexano e álcool etílico gerou um rendimento de 1,06 e 6,36% (m/m), respectivamente. Na extração por maceração, o extrato de hexano obteve o rendimento de 0,42% e o de álcool etílico de 0,81%.

Tabela I - Rendimento dos extratos obtidos por soxhlet e maceração com hexano e álcool etílico

| Solvente | Rendimento (%) | |
|----------------|--------------------------|--------------------------|
| | Soxhlet | Maceração |
| Hexano | 1,06 ^b ± 0,08 | 0,42 ^d ± 0,02 |
| Álcool etílico | 6,36 ^a ± 0,47 | 0,81 ^c ± 0,01 |

Médias ± desvios padrão seguidos de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

O rendimento dos extratos obtidos por soxhlet foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que os obtidos por maceração e, entre os solventes, o álcool etílico extraiu mais compostos do que o hexano. Segundo Nawaz et al. (2020), a extração de substâncias bioativas de plantas, geralmente, é afetada por vários fatores, incluindo tipo da extração, tempo, temperatura, concentração do solvente e polaridade do solvente.

Atividade Antioxidante

A determinação da IC_{50} foi realizada após a identificação da faixa de concentração com aumento linear em relação à atividade antioxidante e os gráficos com a equação da reta para os extratos de *E. involucrata* estão apresentados na Figura 3.

A correlação entre a porcentagem de atividade antioxidante (AA%) e a concentração dos diferentes extratos de *E. involucrata* permitiu a obtenção dos valores de IC_{50} , apresentados na Tabela II.

O extrato etanólico de *E. involucrata* obtido por maceração apresentou o menor valor de IC_{50} (0,1390 mg/mL) não diferindo, estatisticamente, do extrato etanólico obtido por soxhlet ($p > 0,05$) e, portanto, maior atividade antioxidante, pois quanto menor o valor de IC_{50} maior a atividade antioxidante da amostra (ROBY et al., 2013). Os extratos hexânicos, independente do método de extração, foram inferiores, com valores de

Figura 3 - Regressão linear para determinação da atividade antioxidante do extrato de *E. involucrata* obtido em soxhlet com solvente hexano (a) e álcool etílico (b) e extrato de *E. involucrata* obtido por maceração com hexano (c) e álcool etílico (d)

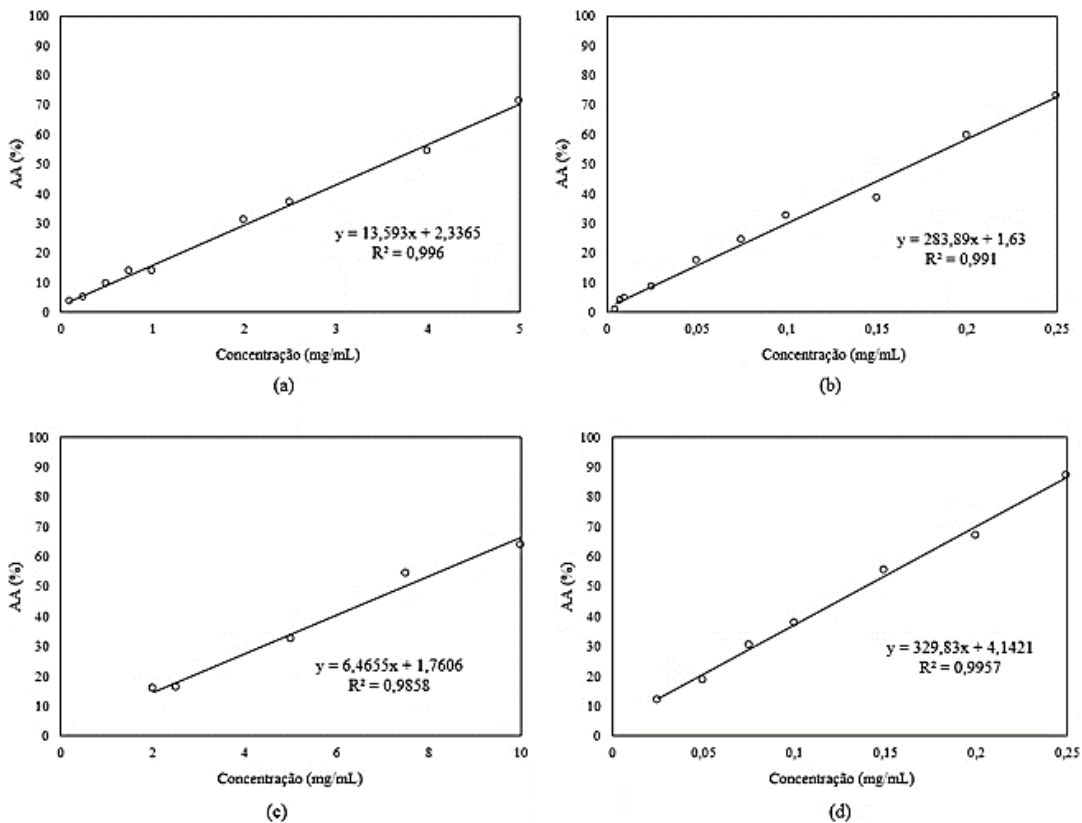


Tabela II - Valores de IC₅₀ para os extratos de *E. involucrata* obtidos por diferentes solventes e métodos de extração

| Método/solvente | Equação da reta | R ² | IC ₅₀ (mg/mL) |
|--------------------------|--------------------|----------------|----------------------------|
| Soxhlet/Hexano | $y=13,593x+2,3365$ | 0,996 | 3,5065 ^b ± 0,27 |
| Soxhlet/Álcool etílico | $y=283,89x+1,63$ | 0,991 | 0,1704 ^c ± 0,03 |
| Maceração/Hexano | $y=6,4655x+1,7606$ | 0,9858 | 7,4610 ^a ± 0,41 |
| Maceração/Álcool etílico | $y=329,83x+4,1421$ | 0,9957 | 0,1390 ^c ± 0,02 |

Médias ± desvios padrão seguidos de letras diferentes diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

IC₅₀ entre 25 e 53 vezes maiores em relação ao extrato etanólico obtido por maceração.

Como já esperado, a polaridade dos solventes influenciou a atividade antioxidante dos extratos de *E. involucrata*. Já o método de extração apresentou menor influência.

Segundo Toledo et al. (2023), o solvente extrator e sua polaridade desempenham um fator importante na obtenção de compostos bioativos, pois solventes polares, como água, misturas hidroalcoólicas, etanol, metanol e acetona são mais eficazes para a extração de

compostos antioxidantes devido à boa solubilidade de compostos fenólicos.

O potencial antioxidante do extrato etanólico das sementes de *E. involucrata*, obtido neste trabalho é superior ao encontrado por Infante et al (2016), que obteve o valor de EC₅₀ de 0,34 mg/mL para o extrato etanólico obtido por ultrassom.

Compostos fenólicos e flavonoides

O teor de compostos fenólicos totais e flavonoides dos extratos etanólicos e hexânicos de sementes de *E. involucrata* estão apresentados na Tabela III.

Os teores de compostos fenólicos totais e flavonoides para os extratos etanólicos de semente de *E. involucrata* foram maiores do que para os extratos de hexano ($p < 0,05$), indicando que a atividade antioxidante dos extratos deve-se à presença de compostos fenólicos. O extrato etanólico obtido por soxhlet apresentou o maior teor de compostos fenólicos e flavonoides, com valores de 41,18 mg.EAG/g e 2,76 mg.EQ/g em relação aos teores obtidos por maceração (20,78 mg.EAG/g e 1,70 mg.EQ/g), respectivamente.

Infante et al. (2016) encontraram um valor de compostos fenólicos de 22,75 mg.EAG/g de extrato seco, para os extratos etanólicos de semente de *E. involucrata*, obtidos por contato com ultrassom, valor semelhante ao deste trabalho, somente pelo contato por maceração com álcool etílico (20,78 mg.EAG/g).

A composição dos compostos fenólicos e flavonoides do extrato etanólico de semente de *E. involucrata* foi realizada por Girardelo et al. (2020), a qual apresentou ácido gálico, epicatequina, catequina, rutina, ácido elágico. No entanto, não foi encontrado quercetina e miricetina, o que pode explicar os valores inferiores de flavonoides nos extratos das sementes de *E. involucrata*.

Concentração Inibitória Mínima

A Tabela IV apresenta os valores da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de sementes de *E. involucrata* sobre diferentes bactérias.

Os extratos obtidos das sementes de *E. involucrata* apresentaram uma faixa de inibição entre 25 e 200 mg/mL. O extrato de hexano obtido por soxhlet mostrou uma CIM de 25 e 50 mg/mL. Já para o obtido por álcool etílico, o valor foi de 25 mg/mL para todas as bactérias, valores no geral mais baixos em relação aos obtidos por maceração. Em relação ao extrato obtido por maceração, o hexânico inibiu as bactérias na concentração de 50 mg/mL, enquanto que o etanólico somente nas concentrações de 100 a 200 mg/mL.

A atividade antimicrobiana dos extratos de semente de *E. involucrata* pode ser considerada fraca, em relação à classificação estabelecida por Duarte et al. (2005), em que a CIM é considerada forte até 0,5 mg/mL, moderada de 0,6 a 1,5 mg/mL e fraca acima de 1,6 mg/mL.

Tabela III - Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides para os extratos de *E. involucrata* obtidos por diferentes solventes e métodos de extração

| Método de extração/ solvente | Compostos fenólicos (mg.EAG/g) | | Flavonoides (mg.EQ/g) | |
|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Soxhlet | Maceração | Soxhlet | Maceração |
| <i>Hexano</i> | 4,12 ^c ± 0,21 | 2,28 ^d ± 0,10 | 1,11 ^c ± 0,01 | 0,50 ^d ± 0,03 |
| <i>Álcool etílico</i> | 41,18 ^a ± 0,92 | 20,78 ^b ± 0,59 | 2,76 ^a ± 0,16 | 1,70 ^b ± 0,04 |

Médias ± desvios padrão seguidos de letras diferentes para compostos fenólicos e flavonoides separadamente, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey com 95% de confiança.

Tabela IV - Avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos de semente de *E. involucrata*

| | | Hexano/ soxhlet | Etanol/ soxhlet | Hexano/ maceração | Etanol/ maceração |
|-------------------------|-------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|
| Gram positivas | ATCC* | (mg/mL) | (mg/mL) | (mg/mL) | (mg/mL) |
| <i>S. aureus</i> | 25923 | 25,0 | 25,0 | 50,0 | 200,0 |
| <i>L. monocytogenes</i> | 7644 | 50,0 | 25,0 | 50,0 | 100,0 |
| Gram negativas | ATCC | (mg/mL) | (mg/mL) | (mg/mL) | (mg/mL) |
| <i>S. enterica</i> | 10708 | 50,0 | 25,0 | 50,0 | 100,0 |
| <i>E. coli</i> | 25922 | 25,0 | 25,0 | 50,0 | 100,0 |

*ATCC: American Type Culture Collection (USA).

Considerações Finais

Os extratos etanólicos apresentaram maior teor de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante que os extratos hexânicos, o que indica que a separação das frações dos extratos, por solventes, com diferentes polaridades, foi eficiente na purificação parcial dos compostos presentes nas sementes de *E. involucrata*, isolando os compostos fenólicos, responsáveis pela atividade antioxidante na fração do álcool etílico. O extrato etanólico de semente de *E. involucrata* obtido por

maceração apresentou o menor valor de IC₅₀ (0,1390 mg/mL). Já os valores mais elevados de compostos fenólicos (41,18 mg.EAG/g) e flavonoides (2,76 mg.EQ/g) foram encontrados para o extrato etanólico obtido por soxhlet. O extrato etanólico obtido por soxhlet apresentou os melhores valores de CIM em todas as bactérias (25 mg/mL), assim como o extrato hexânico sobre *S. aureus* e *E. coli*. Diante dos resultados obtidos, as sementes de *E. involucrata*, geralmente descartadas como resíduo, apresentam um elevado potencial antioxidante quando submetidas à extração com o solvente álcool etílico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES, FAPERGS, CNPq e URI Erechim.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. F.de; NERI-NUMA, I. A.; FARIAS, D. P.; CUNHA, G. R. M. C. da; PASTORE, G. M. Wild Brazilian species of *Eugenia* genera (Myrtaceae) as an innovation hotspot for food and pharmacological purposes. **Food Research International**, v. 121, p. 57-72, 2019.

- BALLEN, S. C.; RIGO, D.; PALIGA, M.; PUTON, B. M. S.; CANSIAN, R. L.; PAROUL, N. Determinação do potencial antioxidante (DPPH) e antimicrobiano de extratos vegetais e óleo essencial de louro (*Laurus nobilis*). **Perspectiva**, v. 43, n. 163, p. 61-70, 2019.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O. de; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BELINSKAIA, D. A.; VORONINA, P. A.; SHMURAK, V. I.; VOVK, M. A.; BATALOVA, A. A.; JENKINS, R. O.; GONCHAROV, N. V. The universal soldier: Enzymatic and non-enzymatic antioxidant functions of serum albumin. **Antioxidants**, v. 9, p. 966-994, 2020.
- DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELENA, C. ANTI-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 305-311, 2005.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. São Paulo: Atheneu Editora LTDA. 1988;4(1).
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA. São Paulo: Atheneu Editora LTDA. 2002;4(2).
- GAIO, I.; SAGGIORATO, A. G.; TREICHEL, H.; CICHOSKI, A. J.; ASTOLFI, V.; CARDOSO, R. I.; TONIAZZO, G.; VALDUGA, E.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L. Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**, v. 10, p. 323-329, 2015.
- GARRIDO, G.; ORTIZ, M.; POZO, P. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil. **Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research**, v. 1, n. 1, p. 30-38, 2013.
- GIRARDELO, J. R. MUNARI, E. L.; DALLORSOLETA, J. C. S.; CECHINEL, G.; GOETTEN, A. L. F.; SALES, L. R.; REGINATTO, F. H.; CHAVES, V. C.; SMANIOTTO, F. A.; SOMACAL, S.; EMANUELLI, T.; BENECH, J. C.; SOLDI, C.; WINTER, E.; CONTERATO, G. M. M. Bioactive compounds, antioxidant capacity and antitumoral activity of ethanolic extracts from fruits and seeds of *Eugenia involucrata* DC. **Food Research International**, v. 137, p. 109615, 2020.
- INFANTE, J. ROSALEN, P. L.; LAZARINI, J. G.; FRANCHIN, M.; ALENCAR, S. M. de. Antioxidant and anti-inflammatory activities of unexplored brazilian native fruits. **PLoS One**, v. 11, n. 4, 2016.
- MIROŃCZUK-CHODAKOWSKA, I.; WITKOWSKA, A. M.; ZUJKO, M. E. Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. **Advances in Medical Sciences**, v. 63, n. 1, p. 68-78, 2018.
- MELO, C. M. T.; COSTA, L. A. DA; BONNAS, D. S.; CHANG, R. Compostos Fenólicos e Capacidade Antioxidante de Pimenta *Capsicum chinense* (bode), *Capsicum baccatum* Variedade *praetermissum* (cumari) e *Capsicum frutescens* (malagueta). **Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 12, p. 1, 2011.
- NAWAZ, H.; SHAD, M. A.; REHMAN, N.; ANDALEEB, H.; ULLAH, N. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 56, p. e17129, 2020.
- NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, P. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2B, p. 553-556, 2009.
- NICÁCIO, A. E. ROTTA, E. M.; BOEING, J. S.; BARIZÃO, E. O.; KIMURA, E.; VISENTAINER, J. V.; MALDANER, L. Antioxidant activity and determination of phenolic compounds from *Eugenia involucrata* DC. fruits by UHPLCMS/MS. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 8, p. 2718-2728, 2017.

ROBY, M. H. H. SARHAN, M. A.; SELIM, K. A.- H.; KHALEL, K. I. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 43, n. 1. p. 827-831, 2013.

SATO, T. S.; MEDEIROS, T. M.; HOSCHEID, J.; PROCHNAU, I. S. Proposta de formulação contendo extratos de folhas de *Eugenia involucrata* e análise da atividade antimicrobiana. **Revista Fitos**, v. 12, n. 1, p. 68-82, 2018.

SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I. CANSIAN, R. L.; MOSSI, A.; TONIAZZO, G. OLIVEIRA, D. DE; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-india (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, n. 5, p. 589-594, 2010.

SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 229, p. 152-178, 1999.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

TOLEDO, A. G.; SOUZA, J. G. de L. de; SANTANA, C. B.; MALLMANN, A. P.; SANTOS, C. V. dos; CORRÊA, J. M.; PINTO F. G. DA S. Antimicrobial, antioxidant activity and phytochemical prospection of *Eugenia involucrata* DC. leaf extracts. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e245753, 2021.

