

## OTIMIZAÇÃO DE MÉTODO EXTRATIVO PARA RAÍZES DE *ARCTIUM LAPPA* L.

Getulio Capello Tominc<sup>1</sup>  
Mariana Dalmagro<sup>2</sup>  
Natalia Kaspchak Scheneider<sup>3</sup>  
Anna Paula Maltauro<sup>4</sup>  
Gracieli Cristina Zanella<sup>5</sup>  
Andressa Piekarczyk Seren<sup>6</sup>  
Giuliana Zardeto<sup>7</sup>  
Jaqueline Hoscheid<sup>8</sup>

TOMINC, C. T.; DALMAGRO, M.; SCHENEIDER, N. K.; MALTAURO, A. P.; ZANELLA, G. C.; SEREN, A. P.; ZARDETO, G.; HOSCHEID, J. Otimização de método extrativo para raízes de *Arctium lappa* l. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. Umuarama. v. 26, n. 3, p. 1019-1032, set./dez. 2022.

**RESUMO:** *Arctium lappa* L. é indicada no Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira para o tratamento de distúrbios urinários leves. Estudos já demonstraram o potencial antioxidante, anti-inflamatório e antidiabético deste extrato, onde foram identificados fenóis, lignanas, taninos e flavonoides. O objetivo deste trabalho foi otimizar o método extrativo de raízes de *A. lappa*. Realizou-se o preparo de extratos por diferentes métodos: Ultrassom, Soxhlet, maceração e turbo extração. A otimização foi realizada por turbo extração seguindo um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, empregando como fatores: teor alcoólico, concentração da matéria prima e tempo de extração. Os extratos foram avaliados quanto ao resíduo seco, teores de fenóis e flavonoides, e atividade antioxidante. Com relação ao resíduo seco, e aos teores de fenóis e flavonoides, os métodos de ultrassom e turbo extração demonstraram melhor poder extrativo. Devido ao menor tempo e custo operacional, a otimização foi realizada por turbo extração, e o extrato otimizado foi obtido utilizando álcool 60%, em proporção matéria prima solvente 1:10 e tempo de extração de 15 minutos. Estas análises poderão nortear futuros testes de transposição de método para escala industrial, diminuindo mão de obra, tempo e custos, visando obter produtos fitoterápicos mais eficientes, com valor acessível à população.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bardana; Turbo extração; Planejamento fatorial; Fitoterápico.

### EXTRACTIVE METHOD OPTIMIZATION FOR *ARCTIUM LAPPA* L. ROOTS.

**ABSTRACT:** *Arctium lappa* L. is indicated in the Brazilian Pharmacopeia Herbal Medicines Form for the treatment of mild urinary disorders. Studies have already demonstrated the antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic potential of this extract, where phenols, lignans, tannins and flavonoids were identified. The objective of this work was to optimize the extractive method of *A. lappa* roots. Extracts were prepared by different methods: Ultrasound, Soxhlet, maceration and vortical extraction. The optimization was performed by vortical extraction following a 2<sup>3</sup> full factorial design, using as

DOI: [10.25110/arqsaude.v26i3.20228975](https://doi.org/10.25110/arqsaude.v26i3.20228975)

<sup>1</sup> Pós-graduando do Programa de Mestrado Profissional em Plantas Medicinais e Fitoterápicos na Atenção Básica. Universidade Paranaense. E-mail: [gctominc@gmail.com](mailto:gctominc@gmail.com)

<sup>2</sup> Pós-graduanda do Programa de Mestrado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura. Universidade Paranaense. E-mail: [mariana.dal@edu.unipar.br](mailto:mariana.dal@edu.unipar.br)

<sup>3</sup> Discente de Farmácia. Universidade Paranaense. E-mail: [natalia.schneider@edu.unipar.br](mailto:natalia.schneider@edu.unipar.br)

<sup>4</sup> Discente de Farmácia. Universidade Paranaense. E-mail: [anna.maltauro@edu.unipar.br](mailto:anna.maltauro@edu.unipar.br)

<sup>5</sup> Discente de Farmácia. Universidade Paranaense. E-mail: [gracieli.zanella@edu.unipar.br](mailto:gracieli.zanella@edu.unipar.br)

<sup>6</sup> Discente de Farmácia. Universidade Paranaense. E-mail: [andressa.seren@edu.unipar.br](mailto:andressa.seren@edu.unipar.br)

<sup>7</sup> Doutora em Biotecnologia Aplicada a Agricultura. Universidade Paranaense. E-mail: [giulianazardeto@prof.unipar.br](mailto:giulianazardeto@prof.unipar.br)

<sup>8</sup> Doutorado em Biotecnologia Aplicada à Agricultura, Universidade Paranaense.

E-mail: [jaqueline.hoscheid@gmail.com](mailto:jaqueline.hoscheid@gmail.com)

factors: alcohol content, drug concentration and extraction time. The extracts were evaluated for dry residue, phenols and flavonoids contents, and antioxidant activity. Regarding the dry residue, and the phenols and flavonoids contents, the ultrasound and vortical extraction methods showed better extractive power. Due to the lower operating time and cost, the optimization was performed by vortical extraction, and the optimized extract was obtained using 60% alcohol, in a 1:10 drug solvent ratio and extraction time of 15 minutes. These assessments guide the future tests of transposition of the method to an industrial scale, reducing manpower, time and costs, aiming to obtain more efficient phytotherapeutic products, with affordable value for the population.

**KEYWORDS:** Bardana; Vortical extraction; Full factorial design; Herbal.

## OPTIMIZACIÓN DE UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE RAÍCES DE *ARCTIUM LAPPA* L.

**RESUMEN:** *Arctium lappa* L. está indicado en la Formulacao de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira para el tratamiento de trastornos urinarios leves. Los estudios han demostrado el potencial antioxidante, antiinflamatorio y antidiabético de este extracto, donde se identificaron fenoles, lignanos, taninos y flavonoides. El objetivo de este trabajo fue optimizar el método extractivo de las raíces de *A. lappa*. Los extractos se prepararon por diferentes métodos: Ultrasonido, Soxhlet, maceración y turboextracción. La optimización se realizó mediante turboextracción siguiendo una planificación factorial de 2<sup>3</sup>, empleando como factores: tenor alcohólico, concentración de materia prima y tiempo de extracción. Se evaluaron los extractos para determinar el residuo seco, el contenido de fenoles y flavonoides y la actividad antioxidante. En cuanto al contenido de residuo seco, fenoles y flavonoides, los métodos de extracción por ultrasonidos y turbo demostraron un mejor poder de extracción. Debido al menor tiempo y coste operativo, la optimización se realizó mediante turboextracción, y el extracto optimizado se obtuvo utilizando alcohol 60%, en proporción disolvente-materia 1:10 y tiempo de extracción de 15 minutos. Estos análisis podrán orientar futuros ensayos de transposición del método para escala industrial, reduciendo mano de obra, tiempo y costes, con el objetivo de obtener productos fitoterapéuticos más eficientes, con valor accesible para la población.

**PALABRAS CLAVE:** Bardana; Turboextracción; Planificación factorial; Fitoterapia.

### 1. INTRODUÇÃO

*Arctium lappa* L. (Asteraceae) é uma planta de origem asiática amplamente usada na medicina popular, seja para problemas da pele, ou distúrbios inflamatórios (CERDAN; BRAVO; APAZA, 2020). Seu cultivo dá-se, principalmente, em países do Leste Asiático, como Taiwan, China e Japão, onde há seu uso na culinária e na medicina tradicional (HORNG *et al.*, 2017). No Brasil, conhecida popularmente como bardana, esta cultivar também pode ser denominada *Arctium chaorum* Klokov e/ou *Lappa major* Gaertn, sendo indicada, de acordo com o Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira, como antidiabético, diurético e anti-inflamatório; realizando o preparo por decocção das raízes para o uso interno (BRASIL, 2018).

Na literatura, muitos benefícios à saúde estão associados à ocorrência de diferentes classes de metabólitos secundários. Investigações fitoquímicas indicaram que raízes de *A. lappa* apresentam concentrações significativas de fenóis, saponinas, lignanas, taninos e flavonoides (AL-SHAMMAA; SAOUR; ABDUL-KHALIK, 2013) dentre os quais podem ser destacadas as substâncias: arctigenina, arctiina, ácido caféico, ácido clorogênico, inulina, lappaol e diartigenina (FRANCO *et al.*, 2019), cinarina, quercetina ramnosídeo, quercetina e luteolina (FERRACANE *et al.*, 2010).

Entre as propriedades biológicas atribuídas à bardana, podem ser citadas a atividade antioxidante (DE SOUZA *et al.*, 2018), anti-inflamatório (HUANG, 2010), antitumoral (LOU *et al.*, 2016), hipolipidêmico e hipoglicemante (AHANGARPOUR *et al.*, 2017). Segundo Cerdan, Bravo e Apaza (2020), ensaios farmacológicos e clínicos indicaram que as raízes de *A. lappa* possuem atividades hepatoprotetoras contra várias substâncias tóxicas ao fígado, como o tetracloreto de carbono. Essa ação baseia-se nas características antioxidante e anti-inflamatória que são atribuídas à presença dos derivados do ácido cafeoilquínico. Já as atividades antitumorais/quimiopreventivas estão atribuídas a presença das lignanas, como arctina e arctigenina (LOU *et al.*, 2016). Os efeitos antiproliferativo e apoptótico de lignanas da planta em questão foram descritos para células leucêmicas, bem como efeitos antitumorais da arctigenina frente a linhagens celulares de câncer pancreático (PREDES *et al.*, 2011). A atividade antioxidante de compostos fenólicos (ácidos clorogênicos e cafeicos isolados) deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras e a estrutura química. Essas características desempenham um papel importante na neutralização de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (ABRAHÃO *et al.*, 2010).

Ademais, o grande potencial no desenvolvimento de fitomedicamentos vem despertando preocupações quanto à eficácia dos extratos obtidos, já que o processamento inadequado de materiais vegetais pode causar degradação dos componentes ativos e, conseqüentemente, perda da atividade farmacológica (PINHO, 2019). Além disso, nem todos os extratos causam o efeito desejado, pois há variabilidade das condições extrativas utilizadas, comprometendo a eficácia terapêutica. Ou seja, a qualidade do produto está inevitavelmente associada à tecnologia empregada durante a produção do fitoterápico que se planeja obter (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

Visto que a qualidade dos extratos vegetais é muito influenciada pela metodologia de extração empregada, processos não otimizados podem limitar o potencial extrativo e, como consequência, interferir na atividade farmacológica, além de deixar o processo mais custoso. Extratos ricos em compostos fenólicos podem ser obtidos por diversas técnicas de extração por solventes (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010). Objetivando potencializar os métodos extrativos, o uso do planejamento fatorial faz-se importante nesse processo, ao passo que se constitui de um conjunto de ensaios estabelecidos com critérios científicos e estatísticos, a fim de avaliar a influência de diversas variáveis nos resultados de um dado processo. Com a sua utilização, há uma diminuição de tempo e custo operacional, além de uma melhora no rendimento de um processo a partir das respostas adquiridas pela análise estatística (BUTTON, 2005).

Portanto, a finalidade que este trabalho foi otimizar o método extrativo para raízes de *A. lappa*, com o intuito de obter altas concentrações de bioativos no extrato e, como resultado, potencializar os efeitos terapêuticos já observados.

## 2. MATERIAL E MÉTODO

### 2.1 Obtenção e determinação do teor de umidade do material vegetal

Raízes secas e trituradas, provenientes do Rio Grande do Sul, foram obtidas da empresa PhitoShop (São Paulo/SP).

Para determinação do teor de umidade foi utilizado o método gravimétrico, em triplicata (BRASIL, 2019). A amostra vegetal (5,0 g) foi acondicionada em placa de Petri devidamente tarada, e encaminhada a estufa a 105 °C, por 4 h. Transcorrido o período, o material foi transferido para dessecador contendo sílica gel, até atingir temperatura ambiente, e em seguida pesado novamente. Este processo se repetiu até obtenção de massa constante. O teor de umidade foi calculado pela diferença entre a massa antes e após dessecação.

### 2.2 Avaliação de diferentes métodos extrativos

Para evitar a influência do tamanho de partícula sobre o potencial extrativo, a amostra vegetal foi submetida à agitação, na série padrão de peneiras Tyler de 20, 28, 32, 48, 60, 80, 100 e 170 Mesh (Bertel, Caieiras, SP) com movimento vertical vibratória durante 15 min. Apenas as partículas retidas na peneira de 48 Mesh foram utilizadas para avaliação das diferentes metodologias extrativas. Como análise primária e referencial, os extratos preparados seguiram uma proporção Matéria prima:Solvente de 1:15 (p/v) e tiveram o Etanol 70% como veículo extrator. Todos os extratos foram preparados em triplicata e, ao final dos períodos de extração, todos os extratos foram filtrados em papel filtro e armazenado à 5 °C até as determinações físico-químicas.

Foram avaliados diferentes métodos de extração:

- *Maceração*: O material vegetal foi mantido em contato com o líquido extrator em um frasco de vidro âmbar, com três agitações diárias, durante cinco dias, em temperatura ambiente.
- *Turbo extração*: A matéria vegetal e o solvente foram mantidos em agitação, a 160 rpm, durante 10 min., em um liquidificador (Triton, ARNO).
- *Soxhlet*: A extração foi realizada mantendo-se o aparelho de Soxhlet à 60 °C, com auxílio de um termostato controlador de temperatura, durante 4 h.
- *Ultrassom*: A extração foi realizada utilizando um ultrassom do tipo sonda, à 50 °C e amplitude de 50%. Foi realizada uma cinética de extração, onde diferentes tempos de extração (1, 3, 5, 10, 15 e 20 min.) foram avaliados.

Ao final dos períodos de extração, todos os extratos foram filtrados em papel filtro e armazenado à 5 °C até as determinações físico-químicas.

## 2.3 Caracterização físico-química dos extratos

A caracterização foi realizada pela determinação do resíduo seco, teor de Flavonoides Totais e Compostos Fenólicos Totais (CFT), e o efeito antioxidante de todos os extratos frente as diferentes condições de preparo.

### 2.3.1. Determinação do resíduo seco

A determinação do resíduo seco foi realizada segundo metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2019). Foram pesadas alíquotas de 10 mL, de cada extrato, em triplicata, sobre placa de Petri previamente dessecada. As amostras foram mantidas à 110 °C, por 5 h, resfriadas e pesadas novamente. Realizou-se o cálculo de resíduo seco segundo equação (Eq. 1):

$$\text{Resíduo seco} = \frac{P3 - P1}{(P2 - P1)} \times 100 \text{ (Eq. 1)}$$

Onde:

P1: peso da placa de Petri vazia dessecada

P2: peso da placa de Petri + 10 mL de amostra antes de dessecar

P3: peso da placa de Petri + amostra depois de dessecar

### 2.3.2 Determinação do teor de flavonoides totais

Para a determinação de flavonoides totais foram pipetados 4 mL do extrato, na concentração de 1000 µg/mL em tubos de ensaio, individualmente. Posteriormente adicionou-se 1 mL de cloreto de alumínio 5% (p/v) em metanol. Preparou-se o branco utilizando-se 4 mL de metanol e 1 mL de cloreto de alumínio. As amostras foram incubadas por exatamente 30 min. e procedeu-se a leitura à 425 nm em espectrofotômetro U.V./Vis (Kasuaki). Para quantificação, uma curva de calibração padrão (de 5 à 32,5 µg/mL) de quercetina foi plotada e forneceu a equação da reta:  $y=81,561x-126,41$  com coeficiente de correlação  $R^2= 0,9966$ . Todas as análises foram realizadas independentemente e em triplicata. Os resultados foram expressos pela média das determinações, em µg equivalente de quercetina/miligrama de extrato ( $\mu\text{g}_{\text{EQ}} \text{mg}_{\text{ext}}^{-1}$ )

### 2.3.3 Determinação do teor de compostos fenólicos totais

A concentração de Compostos Fenólicos Totais (CFT) foi determinada utilizando o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Foram pipetados 200 µL do extrato diluído na concentração de 1000 µg/mL em um tubo de ensaio juntamente com 1000 µL de reagente de Folin-Ciocalteu a 10% (v/v). Em seguida, 800 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5%, p/v) foi adicionado. A solução foi incubada a 24 °C por 1 h e realizou-se a leitura da absorvância a 765 nm em espectrofotômetro

U.V./Vis. Uma curva de calibração (entre 250 e 3,90  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) foi plotada utilizando ácido gálico, e forneceu a equação da reta  $y=14,269x+65,544$  com coeficiente de correlação  $R^2= 0,9905$ . Todas as determinações foram realizadas em triplicata, e o total de compostos fenólicos foi expresso pela média, em  $\mu\text{g}$  equivalente de ácido gálico/milograma de extrato ( $\mu\text{g}_{\text{EAG}} \text{mg}_{\text{ext}}^{-1}$ ).

### **2.3.4 Avaliação da atividade antioxidante**

#### **2.3.4.1 Eliminação do radical DPPH**

A capacidade de eliminação do radical DPPH para cada extrato, na concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$ , foi estimada de acordo com o método de Da Silveira *et al.* (2018). Transferiu-se 150  $\mu\text{L}$  de cada extrato para tubos de ensaio e, adicionou-se 5,850 mL de solução etanólica de DPPH a 0,06 mM. A mistura foi homogeneizada e mantida em repouso à temperatura ambiente por 30 min. A leitura da absorvância foi realizada a 515 nm., em espectrofotômetro U.V./Vis. Álcool etílico foi utilizado como branco. Uma curva de calibração (entre 50 e 1000  $\mu\text{M}$ ) foi plotada utilizando Trolox, e forneceu a equação da reta  $y=-0,5771x+673,63$  com coeficiente de correlação  $R^2= 0,9968$ . Todas as determinações foram realizadas em triplicata, e a capacidade de eliminação do radical DPPH foi expressa pela média, em  $\mu\text{M}$  equivalente de Trolox.

#### **2.3.4.2 Ensaio de eliminação de radicais livre ABTS<sup>+</sup>**

Cada extrato foi preparado na concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$ , e o método foi conduzido de acordo com Hoscheid *et al.* (2020). Uma curva de calibração (entre 100 e 2000  $\mu\text{M}$ ) foi plotada utilizando Trolox, e forneceu a equação da reta  $y=-0,2465x+750,59$  com coeficiente de correlação  $R^2= 0,9914$ . Transferiu-se 10  $\mu\text{L}$  de cada extrato para tubos de ensaio e, adicionou-se 1,0 mL do radical ABTS<sup>+</sup>. A mistura foi homogeneizada e mantida em repouso à temperatura ambiente, no escuro, por 6 min. A leitura da absorvância foi realizada a 734 nm., em espectrofotômetro U.V./Vis. Todas as determinações foram realizadas em triplicata, e álcool etílico foi utilizado como branco. A capacidade de eliminação de radicais livre ABTS<sup>+</sup> foi apresentada pela média das determinações, em  $\mu\text{mol}$  de Trolox por grama de extrato ( $\mu\text{mol}_{\text{Trolox}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$ ).

#### **2.3.4.3 FRAP — Ensaio antioxidante do poder de redução do íon ferro**

O ensaio foi realizado utilizando a metodologia de Hoscheid *et al.* (2020) com modificações. Uma alíquota de 90  $\mu\text{L}$  do extrato na concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$  foi adicionada com 270  $\mu\text{L}$  de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP (25 mL de acetato de 0,3 M tampão pH 3,6; 2,5 mL de solução de TPTZ 10 mM em HCl 40 mM; e 2,5 mL de solução aquosa de cloreto férrico 20 mM). A mistura era incubada a 37 °C por 30 min. e sua absorvância foi determinada em 595 nm., em espectrofotômetro U.V./Vis. O reagente FRAP foi utilizado como branco. Para determinar a



capacidade antioxidante, uma curva de calibração para sulfato ferroso (100-2000  $\mu\text{M}$ ) foi plotada e forneceu a equação da reta  $y=0,6188x-96,833$  com coeficiente de correlação  $R^2= 0,9926$ , e os resultados apresentados pela média das determinações, em  $\mu\text{mol}$  de  $\text{Fe}^{2+}$  por g de extrato ( $\mu\text{mol}_{\text{Fe}^{2+}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$ ). As análises foram realizadas em triplicata.

## 2.4 Otimização dos extratos por turbo extração

A otimização dos extratos foi realizada por um planejamento fatorial  $2^3$ , empregando como fatores: teor alcoólico (60% e 90%), concentração da matéria prima:solvente (1:10 e 1:20, p/v) e tempo de extração (5 e 15 min.). As análises foram realizadas utilizando método de turbo extração. Ao final do período o extrato foi imediatamente filtrado em papel filtro e armazenado à 5 °C até a realização da caracterização físico-química supracitadas.

## 2.5 Análise estatística

Os resultados foram avaliados por meio de análise estatística utilizando o software Statistica® 13.0 (Statsoft, EUA). Diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de  $p \leq 0,05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo a umidade observada para as raízes que *A. lappa* foi de  $8,73 \pm 0,28\%$ , atendendo aos requisitos da Legislação vigente, que preconiza que o material vegetal não deve exceder a 14% de umidade (BRASIL, 2019).

O teor de umidade é um importante parâmetro a ser analisado, pois a correta a secagem da matriz antes de ser utilizada é primordial para maximizar a extração. A umidade diminui a eficiência da extração, principalmente quando se trata de solventes apolares, além disso, o processo de secagem retarda a deterioração do material vegetal pois, com a redução do nível de água, há retardamento da ação de enzimas, bactérias, leveduras e bolores, permitindo sua conservação por um período superior. Logo, esse referencial pode servir como um indicativo de qualidade do material (BELESSIOTIS; DELVANNIS, 2011).

É de conhecimento da comunidade científica a influência das técnicas extrativas sobre o potencial de extração de bioativos em materiais vegetais, contudo, além da metodologia e dos demais parâmetros específicos, o tamanho das partículas é considerado um dos fatores mais significativos para uma extração de qualidade, afetando diretamente o rendimento do extrato. É possível obter melhor eficiência utilizando partículas menores do material vegetal, ao passo que a redução do tamanho das partículas oferece maior área de superfície para transferência de massa, resultando em aumento da difusão dos princípios ativos no solvente (PĂTRĂUȚANU *et al.*, 2019). Logo, justifica-

se a necessidade de padronização do tamanho de partícula durante a otimização do método de extração.

Investigações fitoquímicas já identificaram a presença de diversos compostos de natureza fenólica em raízes de *A. lappa* (AL-SHAMMAA; SAOUR; ABDUL-KHALIK, 2013; FRANCO *et al.*, 2019). Assim sendo, foram realizadas análises do teor de extrativos expresso em resíduo seco (% p/p), e a determinação dos teores de Flavonoides Totais e CFT dos extratos da bardana preparados por diferentes métodos (Tabela 1).

Tabela 1: Teores médios de flavonoides e compostos fenólicos totais dos extratos de *A. lappa* preparados por diferentes métodos extrativos.

Método	TEMPO (min.)	Resíduo seco (%)	Flavonoides totais ( $\mu\text{g}_{\text{EQ}} \text{mg}_{\text{ext}}^{-1}$ )	CFT ( $\mu\text{g}_{\text{EAG}} \text{mg}_{\text{ext}}^{-1}$ )
<b>Maceração</b>	7.200	1,53 ± 0,07 <sup>a</sup>	14,45 ± 0,19 <sup>a</sup>	749,13 ± 11,43 <sup>a</sup>
<b>Turbo-extração</b>	10	1,70 ± 0,08 <sup>b</sup>	15,45 ± 0,31 <sup>b</sup>	825,17 ± 6,04 <sup>b</sup>
<b>Soxhlet</b>	240	1,23 ± 0,04 <sup>c</sup>	18,93 ± 0,29 <sup>c</sup>	753,70 ± 11,35 <sup>a</sup>
<b>Ultrassom</b>	1	1,17 ± 0,09 <sup>c</sup>	15,12 ± 0,41 <sup>b</sup>	695,52 ± 5,57 <sup>d</sup>
	3	1,26 ± 0,12 <sup>c</sup>	16,61 ± 0,32 <sup>d</sup>	765,60 ± 16,84 <sup>a</sup>
	5	1,50 ± 0,12 <sup>a</sup>	17,02 ± 0,26 <sup>d,e</sup>	804,85 ± 4,37 <sup>e</sup>
	10	1,69 ± 0,08 <sup>b</sup>	17,45 ± 0,35 <sup>e,f</sup>	812,21 ± 12,68 <sup>b,e</sup>
	15	1,79 ± 0,08 <sup>b,d</sup>	17,56 ± 0,14 <sup>f</sup>	830,78 ± 13,92 <sup>b</sup>
	20	1,84 ± 0,14 <sup>d</sup>	17,78 ± 0,06 <sup>f</sup>	830,66 ± 17,98 <sup>b</sup>

Legenda: Média (n=3) ± Desvio padrão. Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p<0,05) por ANOVA seguido de Teste de Tukey.

Os resultados apresentados para os teores de Resíduo Seco, CFT e Flavonoides Totais permitem observar a superioridade das técnicas de turbo-extração e ultrassom quanto à extração de bioativos. Devido a própria característica da técnica, torna-se possível com a turbo-extração a preparação de extratos altamente concentrados em um curto período, quando comparado à métodos tradicionais como a maceração (BERINGHS, 2015), corroborando com os dados observados no presente estudo.

Sabe-se que maceração não conduz ao esgotamento da matéria prima vegetal, sendo a extração encerrada pela saturação do líquido extrator e/ou pelo estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior das células (SONAGLIO *et al.*, 2007). Isso justifica os menores teores de CFT obtidos por este método.

Em paralelo, foi realizado a extração por Soxhlet, método que permite uma extração altamente eficiente, empregando quantidade reduzida de solvente. Contudo, a técnica envolve altas temperaturas que podem ocasionar degradação de compostos termossensíveis. Este fato pode justificar os teores inferiores de CFT obtidos por essa metodologia quando comparado a turbo-extração, o que demonstra a superioridade deste último método quando se transpõe para uma escala industrial, ao passo que há a pulverização das partículas da matéria prima durante o processo



extrativo, expondo o conteúdo interno das células, facilitando a ação do solvente, resultando em um aumentando o teor de compostos extraídos em menor tempo (SONAGLIO *et al.*, 2007).

Já a técnica de extração por ultrassom, por sua própria característica metodológica, tem a ação de facilitar a dilatação do material vegetal e causar aumento dos poros da parede celular da planta, melhorando a transferência de massa. As ondas produzidas pelo ultrassom facilitam a penetração do solvente nas paredes celulares dessa forma permitindo que o conteúdo intracelular seja liberado de forma eficiente. Dessa forma a extração por ultrassom tem como vantagem a redução do tempo de extração, do consumo de solventes e das temperaturas durante a extração (SILVA, 2013), mostrando-se uma forma extrativa alternativa às técnicas convencionais. A eficiência do ultrassom tem sido citada como igual ou melhor do que a obtida por Soxhlet (SONAGLIO *et al.*, 2007).

Na cinética de extração por ultrassom, é possível observar um aumento gradativo do resíduo seco, da concentração de CFT e Flavonoides Totais em função do tempo de extração. Contudo não há uma diferença significativa a partir do décimo minuto de extração. Durante os primeiros minutos de extração a maior parte dos compostos fenólicos presentes nas raízes já foram extraídos para o veículo extrator, sendo assim desnecessário continuar no processo de extração por maiores tempos. Com a continuidade, apenas aumentam-se os gastos com a extração de uma forma desproporcional ao rendimento esperado (VARDANEGA *et al.*, 2017).

Sendo que a concentração de CFT, principais bioativos presentes nas raízes de *A. lappa*, não apresentou diferença significativa entre a turbo extração e ultrassom, a técnica de menor tempo e custo operacional associado, a turbo-extração, foi escolhida para otimização de método extrativo, através de um fatorial 2<sup>3</sup> (Tabela 2).

Tabela 2: Caracterização dos extratos de *A. lappa* obtidos por turbo extração pelo planejamento fatorial 2<sup>3</sup>, avaliando diferentes fatores e níveis de extração.

Teor alcoólico (%)	Proporção MP*:Solvente (p/v)	Tempo (min.)	Resíduo seco (%)	Flavonoides totais (µgEQ mg <sub>ext</sub> <sup>-1</sup> )	CTF (µgEAG mg <sub>ext</sub> <sup>-1</sup> )
60%	1:10	5	1,38 ± 0,09 <sup>e</sup>	19,69 ± 0,69 <sup>e</sup>	1082,14 ± 22,64 <sup>c</sup>
	1:10	15	1,65 ± 0,10 <sup>c</sup>	22,90 ± 0,82 <sup>c</sup>	1149,18 ± 65,27 <sup>c</sup>
	1:20	5	0,80 ± 0,04 <sup>a,d</sup>	10,62 ± 0,31 <sup>f</sup>	670,52 ± 17,80 <sup>d</sup>
	1:20	15	0,94 ± 0,04 <sup>d</sup>	12,85 ± 0,59 <sup>d</sup>	737,80 ± 30,56 <sup>d</sup>
90%	1:10	5	0,32 ± 0,08 <sup>b</sup>	4,74 ± 0,35 <sup>b</sup>	151,87 ± 2,49 <sup>b</sup>
	1:10	15	0,68 ± 0,05 <sup>a</sup>	7,25 ± 0,51 <sup>a</sup>	393,23 ± 26,41 <sup>a</sup>
	1:20	5	0,33 ± 0,08 <sup>b</sup>	4,17 ± 0,36 <sup>b</sup>	119,24 ± 4,93 <sup>b</sup>
	1:20	15	0,31 ± 0,07 <sup>b</sup>	4,90 ± 0,36 <sup>b</sup>	143,25 ± 7,98 <sup>b</sup>

Legenda: \*MP = Matéria prima; Resultados expressos pela média (n=3) ± Desvio padrão. Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p<0,05) por ANOVA seguido de Teste de Tukey.

O efeito de três variáveis sobre a obtenção de bioativos foi avaliado. É possível notar a correlação negativa do teor alcoólico e potencial extrativo, visto que o incremento da concentração alcoólica do solvente mostrou efeito limitador sobre a extração de bioativos. Adicionalmente, o tempo

também foi um elemento importante, e demonstrou correlação positiva, sendo que maiores proporções de Flavonoides Totais e CFT foram obtidas com o aumento do tempo de extração. Tempos reduzidos de permanência do solvente no extrator, podem prejudicar a interação entre as fases, impedindo a saturação do solvente e retirada de bioativos da matriz (KAVOURA *et al.*, 2019). O terceiro fator avaliado foi a proporção entre matéria prima e solvente, onde constatou-se correlação negativa, visto que o aumento da proporção de solvente não incrementou a extração de bioativos, logo visando diminuir custos associados ao processo de obtenção de extratos, a proporção Matéria prima:Solvente de 1:10 se mostrou mais adequada.

Diante do exposto, é possível observar a superioridade do extrato obtido por turbo extração, na proporção Matéria prima:Solvente de 1:10, e teor alcoólico 60%, em comparação aos demais métodos e condições avaliadas. Esta superioridade também foi observada quanto a atividade antioxidante (Tabela 3).

Tabela 3: Atividade antioxidante dos extratos de *A. lappa* frente aos métodos de DPPH, ABTS<sup>++</sup> e FRAP.

Método	Teor alcoólico (%)	Proporção MP*:solvente (p/v)	Tempo (min)	DPPH ( $\mu\text{M}_{\text{Trolox}}$ )	ABTS ( $\mu\text{mol}_{\text{Trolox}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$ )	FRAP ( $\mu\text{mol}_{\text{Fe}^{2+}} \text{g}_{\text{ext}}^{-1}$ )
Turbo extração	70%	1:15	10	917,74 <sup>a</sup>	3001,71 <sup>a</sup>	3821,64 <sup>a</sup>
Ultrassom	70%	1:15	20	878,46 <sup>c</sup>	2992,25 <sup>a</sup>	3850,19 <sup>a</sup>
Soxhlet	70%	1:15	240	1037,30 <sup>b</sup>	3027,41 <sup>a</sup>	3811,40 <sup>a</sup>
Maceração	70%	1:15	7.200	905,61 <sup>a</sup>	3027,41 <sup>a</sup>	3844,80 <sup>a</sup>
Turbo extração	60%	1:10	5	874,42 <sup>c</sup>	2990,89 <sup>a</sup>	3837,80 <sup>a</sup>
		1:10	15	978,39 <sup>h</sup>	2997,66 <sup>a</sup>	3904,59 <sup>f</sup>
		1:20	5	797,02 <sup>d</sup>	3026,05 <sup>a</sup>	3721,44 <sup>a</sup>
		1:20	15	931,60 <sup>a,e</sup>	3015,24 <sup>a</sup>	3747,30 <sup>a</sup>
Turbo extração	90%	1:10	5	947,77 <sup>e</sup>	1799,55 <sup>b</sup>	2596,69 <sup>c</sup>
		1:10	15	1037,30 <sup>b</sup>	2976,02 <sup>a</sup>	3699,36 <sup>b</sup>
		1:20	5	742,73 <sup>g</sup>	2102,46 <sup>c</sup>	2125,88 <sup>e</sup>
		1:20	15	699,98 <sup>f</sup>	1742,75 <sup>b</sup>	2383,91 <sup>d</sup>

Legenda: \*MP = Matéria prima; Resultados expressos pela média (n=3). Letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças significativas (p<0,05) por ANOVA seguido de Teste de Tukey.

Os extratos naturais apresentam uma complexa gama de compostos, com ampla faixa de polaridade e efeito antioxidante, sendo difícil considerar apenas um único método capaz de caracterizar a atividade antioxidante total do extrato. Os métodos utilizados para avaliar a capacidade antioxidante podem ser baseados no poder de redução do metal (FRAP), captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), ou captura do radical hidroxila (método de desoxirribose). Sendo os métodos por FRAP, DPPH e ABTS mais utilizados na avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais, devido a fácil aplicação, baixo custo e rápida obtenção de resultados (LÓPEZ-ALARCÓN; DENICOLA, 2013).

Sabe-se que o potencial efeito anti-inflamatório, hipoglicêmico e hipolipêmico de plantas medicinais está correlacionado ao potencial antioxidante (NEMATALLA; ARAFA; KHALIL, 2019; VIRGEN-CARRILLO; MARTÍNEZ MORENO, 2020; OUBIHI *et al.*, 2020) e que os derivados de

fenóis possuem papel fundamental na proteção contra danos oxidativos celulares (OUBIHI *et al.*, 2020). Logo extratos de *A. lappa* com elevado potencial antioxidante podem apresentar efeitos terapêuticos potencializados.

A partir do conjunto de ensaios realizados, buscando diminuição de tempo e custo operacional, e elevados teores de bioativos, a partir das respostas adquiridas pela análise estatística, o extrato otimizado, preparado por turbo extração, durante 15 minutos, na proporção Matéria prima:Solvente 1:10, e teor alcoólico 60%, demonstrou superioridade frente aos métodos de avaliação da atividade antioxidante por DPPH e FRAP, bem como ausência de diferença significativa pelo método de ABTS, sendo considerado método otimizado para obtenção do extrato de raízes de *A. lappa*.

#### **4. CONCLUSÃO**

A turbo extração foi elencada como técnica ideal para a otimização dos extratos. O extrato otimizado foi obtido utilizando álcool 60%, em proporção Matéria prima:Solvente de 1:10, e tempo de extração de 15 minutos.

Estas análises são importantes para nortear futuros testes de extração e transposição de método otimizado para escala industrial, diminuindo mão de obra, tempo e custos. Portanto a otimização de métodos extrativos potencializa a extração dos bioativos e reduz gastos relacionados ao processo, auxiliando a academia e a população, pela obtenção de produtos fitoterápicos eficientes e de valor acessível.

A partir dos resultados apresentados, sugere-se a realização de uma análise química completa da solução extrativa otimizada, bem como a execução de ensaios pilotos destinados a coleta dos dados para descrição de processos, e desenho dos equipamentos em escala industrial.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de pesquisa e extensão da Universidade Paranaense – COPEX.

## REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, S. A.; PEREIRA, R. G.; DUARTE, S. M.; LIMA, A. R.; ALVARENGA, D. J.; FERREIRA, E. B. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 2, p. 414-420, 2010.

AHANGARPOUR, A.; HEIDARI, H.; OROOJAN, A. A.; MIRZAVANDI, F.; ESFEHANI, K. N.; MOHAMMADI, Z. D. Antidiabetic, hypolipidemic and hepatoprotective effects of *Arctium lappa* root's hydro-alcoholic extract on nicotinamide-streptozotocin induced type 2 model of diabetes in male mice. **Avicenna J. Phytomed.**, v. 7, n. 2, p. 169-179, 2017.

AL-SHAMMAA, D. A.; SAOUR, K. Y.; ABDUL-KHALIK, Z. M. Phytochemical Investigation for the Main Active Constituents in *Arctium lappa* L. Cultivated in Iraq. **Iraqi J. Pharm. Sci.**, v. 22, n. 1, p. 18-24, 2013.

BELESSIOTIS, V.; DELYANNIS, E. Solar drying. **Solar Energy**, v. 85, n. 8, p. 1665-1691, 2011.

BERINGHS, A. O. **Estratégias tecnológicas para incorporação de microesferas contendo extrato padronizado de *Cecropia glaziovii* Snethl. obtido por turboextração em sistemas carreadores multiparticulados.** 2015. 200 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC n° 225, de 11 de abril de 2018. Determina a publicação do “1° Suplemento do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 de abril de 2018.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, 6 ed., v. 1, 2019.

BUTTON, S. **Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados.** 2005. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CERDAN, R. A. B.; BRAVO, M. M. C.; APAZA, L. D. V. ***Arctium lappa* L.: Revisión fitoquímica y farmacológica de una Asteraceae peruana de interés científico.** 2020. 55 f. Monografía (Programa de graduação em Farmácia e Bioquímica) - Universidad María Auxiliadora, Lima, 2020.

DA SILVEIRA, A. C.; KASSUIA, Y. S.; DOMAHOVSKI, R. C.; LAZZAROTTO, M. Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível. **Embrapa**, n. 421, 2018. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/188244/1/CT-421-1642-final.pdf>

DE SOUZA, A. R.; GUEDES, A. R.; FOLADOR, J. M. R.; BOMBARDELLI, M. C.; CORAZZA, M. L. Extraction of *Arctium lappa* leaves using supercritical CO<sub>2</sub> + ethanol: Kinetics, chemical composition, and bioactivity assessments. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 140, p. 137-146, 2018.

FERRACANE, R.; GRAZIANI, G.; GALLO, M.; FOGLIANO, V.; RITIENI, A. Metabolic profile of the bioactive compounds of burdock (*Arctium lappa*) seeds, roots and leaves. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, n. 2, p. 399-404, 2010.

FRANCO, F. B.; SILVA, T. T.; BASTOS, R. G.; SANTOS, G. B. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Arctium lappa* Linne e *Myrcianthes pungens*. **Revista Científica da Unifenas**, v. 1, n. 1, p. 12-21, 2019.

HORNG, C. T.; WU, H. C.; CHIANG, N. N.; LEE, C. F.; HUANG, Y. S.; WANG, H. Y. Inhibitory effect of burdock leaves on elastase and tyrosinase activity. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 14, n. 4, p. 3247-3252, 2017.

HOSCHIED, J.; OTENIO, J. K.; LOURENÇO, E. L.; KLEIN, E. J.; DA SILVA, C.; DONADEL, G.; SANTOS, K. A.; DA SILVA, E. A. Extraction of *Cecropia Pachystachya* Leaves by Supercritical Carbon Dioxide: Kinetics, Phytochemical Characterization, Antibacterial and Antioxidant Activities. **Journal of Agricultural Studies**, v. 8, n. 4, p. 570, 2020.

HUANG, T. C. Effect of *Arctium lappa* L. in the dextran sulfate sodium colitis mouse model. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 33, p. 4193, 2010.

KAVOURA, D.; KYRIAKOPOULOU, K.; PAPAEFSTATHIOU, G.; SPANIDI, E.; GARDIKIS, K.; LOULI, V.; ALIGIANNIS, N.; KROKIDA, M.; MAGOULAS, K. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Salvia fruticosa*. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 146, p. 159-164, 2019.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, v. 763, p.1-10, 2013.

LOU, C.; ZHU, Z.; ZHAO, Y.; ZHU, R.; ZHAO, H. Arctigenin, a lignan from *Arctium lappa* L., inhibits metastasis of human breast cancer cells through the downregulation of MMP-2/-9 and heparanase in MDA-MB-231 cells. **Oncology Reports**, v. 37, n. 1, p. 179-184, 2016.

NEMATALLA, K.; ARAFA, S. A.; KHALIL, E. M. Effect of different plant parts, as hypolipidemic agents on weight management and their mechanisms of action: A review. **Current Research Web**, v. 8, n. 3, p. 595-603, 2019.

OUBIHI, A.; HOSNI, H.; NOUNAH, I.; ETOUIL, A.; HARHAR, H.; ALAOU, K.; OUHSSINE, M.; GUESSOUS, Z. Phenolic Content, Antioxidant Activity, Anti-Inflammatory Potential, and Acute Toxicity Study of *Thymus leptobotrys* Murb. Extracts. **Biochemistry Research**, v. 2020, p. 1-7, 2020.

PĂTRĂUȚANU, O. A.; LAZĂR, L.; POPA, V. I.; VOLF, I. Influence of particle size and size distribution on kinetic mechanism of *Spruce bark* polyphenols extraction. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 53, n. 1-2, p. 71-78, 2019.

PINHO, L. S. **Análise microbiológica de drogas vegetais utilizadas para elaboração de chás**. 2019. 19 f. Monografia (Programa de graduação em Farmácia) – Centro Universitário CESMAC, Maceió, 2019.

PREDES, F. S.; RUIZ, A. L.; CARVALHO, J. E.; FOGGIO, M. A.; DOLDER, H. Antioxidative and in vitro antiproliferative activity of *Arctium lappa* root extracts. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 1, 2011.

SILVA, D. T. **Análise comparativa de embalagens contendo *Ginkgo biloba* L.** 2013. 59 f. Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais) - Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G. G.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. Desenvolvimento Tecnológico e Produção de Fitoterápicos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 309-321.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SALGADO, H. R.; PIETRO, R. C. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 3, p. 435-440, 2010.

VARDANEGA, R.; CARVALHO, P. I.; ALBARELLI, J. Q.; SANTOS, D. T.; MEIRELES, M. A. Techno-economic evaluation of obtaining Brazilian ginseng extracts in potential production scenarios. **Food and Bioproducts Processing**, v. 101, p. 45-55, 2017.

VIRGEN-CARRILLO CA, MARTÍNEZ MORENO AG, VALDÉS MIRAMONTES EH. Potential Hypoglycemic Effect of Pomegranate Juice and Its Mechanism of Action: A Systematic Review. **Journal of Medicinal Food**, v. 23, n. 1, p. 1-11, 2020.

Recebido em: 11/10/2022

Aceito em: 14/11/2022