



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2025

Extração verde assistida por enzimas de *Lippia insignis* Moldenke (Verbenaceae): avaliação da atividade antioxidante

Bianca Lima Bezerra Souza¹; Ingrid Estefania Mancia de Gutierrez²

1. Bianca Lima Bezerra Souza, PIBIC/FAPESB, FARMACIA, e-mail: blbsouza13@gmail.com

2. Ingrid Estefania Mancia de Gutierrez, DEPARTAMENTO DE SAÚDE, e-mail: far_gutierrez@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: *Lippia insignis*; antioxidantes; extração enzimática.

INTRODUÇÃO

Métodos sustentáveis para a obtenção de bioativos impulsionam o desenvolvimento de técnicas de extração alinhadas aos princípios da química verde. Nesse cenário, a extração assistida por enzimas (EAE) leva à obtenção de extratos ricos em metabólitos ativos, com menor impacto ambiental (Naik *et al.*, 2021).

A espécie *Lippia insignis* Moldenke (Verbenaceae), nativa e endêmica do Brasil, ocorre principalmente na Bahia. Embora relatos de extração com solventes orgânicos e a análise de atividade antioxidante possam ser encontrados (Freitas *et al.*, 2016; Lima *et al.*, 2018; Reis, 2016), estudos com abordagens mais verdes são incipientes.

Parte-se, portanto, da hipótese de que a EAE pode potencializar a liberação de bioativos da parte aérea de *L. insignis*, resultando em extratos com teor de fenólicos, atividade antioxidante e fotoprotetora mais destacados. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar a extração assistida por enzimas, em meio aquoso, avaliando a influência de variáveis como pH, temperatura, quantidade de planta, concentração de enzima, agitação, temperatura e tempo no Teor Total de Fenólicos (TPC).

MATERIAL E MÉTODOS

As partes aéreas de *L. insignis* foram coletadas no Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS), situado no município de Feira de Santana, Bahia, Brasil, em julho de 2023. Após secagem e moagem o material vegetal passou por extração com Viscozyme® L, previamente diluída em água Milli-Q® (1:10). As extrações foram realizadas com pH ajustado pela solução a 0,1M de ácido cítrico P.A, conforme AAT Bioquest (2025), em banho metabólico Dubnoff. O planejamento

experimental foi realizado pela matriz Plackett-Burman (PB) (Tabela 2), pelo software Minitab®, em baixo (-1) e alto (+1) nível, conforme os parâmetros apresentados na Tabela 1, de acordo com Polo-Castellano *et al.* (2023) e Heemann *et al.* (2019), e a ficha técnica da enzima.

Tabela 1. Valores reais e codificados dos níveis -1 e 1 utilizados na matriz.

Níveis	Temperatura (°C)	pH	Massa de planta (g/10 mL)	Concentração de enzima (FBGU/g de planta)	Agitação (rpm ¹)	Tempo (minuto)
-1	40	3,5	0,4	68	100	60
1	50	5,5	0,6	268	250	120

Legenda: 1. Rotação por minuto.

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu e expresso em equivalentes a ácido gálico (EAG)/g de planta (Adusei *et al.*, 2019). A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico), conforme Adusei *et al.* (2016) e Rufino *et al.* (2007), respectivamente, sendo expressa em Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC). Já a capacidade fotoprotetora foi avaliada pelo Fator de Proteção Solar (FPS), segundo Farias *et al.* (2017).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A matriz experimental e os respectivos valores fenólicos estão presentes na Tabela 2, os quais oscilaram entre $8,130 \pm 0,440$ e $23,500 \pm 0,220$ mg EAG/g de planta.

A análise da influência de variáveis no TPC, através de ANOVA, indicou que apenas a massa de planta [X_3] ($p = 0,009$) e a concentração enzimática [X_4] ($p = 0,017$) apresentaram efeitos positivos e estatisticamente significativos, demonstrando que o aumento nos valores desses parâmetros resultou em maior rendimento de fenólicos.

O modelo ajustado, considerando apenas os fatores significativos, foi representado pela equação de regressão linear de primeira ordem $Y = 1,3671 + 0,2903 X_3 + 0,2469 X_4$. O coeficiente de determinação ($R^2 = 86,6\%$) indicou que grande parte da variação é explicada pelos fatores avaliados no delineamento. Além disso, a ANOVA ($p = 0,042$; $F = 5,39$) confirmou que os efeitos principais foram estatisticamente significativos para fenólicos. A análise das derivadas parciais ($\partial y / \partial x$) do modelo revelou que os valores máximos previstos são obtidos quando as variáveis codificadas X_3 e X_4 são mantidas em seus níveis superiores (+1). Dessa forma, a condição experimental que

obteve o maior teor de fenólicos foi a execução 11, com $23,50 \pm 0,22$ mg EAG/g, com valores de 0,6 g de planta e 268 FBGU/g de concentração enzimática.

Tabela 2. Planejamento Plackett–Burman com os valores de TPC da extração.

Ordem de Execução	Temperatura (°C)	pH	Massa de planta (g)	Concentração enzimática (FBGU/g)	Agitação (rpm)	Tempo (minuto)	TPC ¹ (mg EAG/g) + DP ²
1	1	-1	1	-1	1	1	13,030 $\pm$ 0,150
2	-1	1	-1	-1	1	1	9,040 $\pm$ 0,640
3	1	1	-1	1	-1	-1	16,390 $\pm$ 0,140
4	-1	1	-1	1	1	1	11,870 $\pm$ 0,200
5	-1	-1	1	1	-1	1	16,870 $\pm$ 0,300
6	1	-1	-1	1	-1	1	10,350 $\pm$ 0,160
7	1	1	1	1	1	-1	17,860 $\pm$ 0,690
8	-1	-1	-1	-1	-1	-1	8,130 $\pm$ 0,440
9	-1	1	1	-1	-1	-1	14,140 $\pm$ 0,650
10	1	-1	-1	-1	1	-1	8,830 $\pm$ 0,920
11	-1	-1	1	1	1	-1	23,500 $\pm$ 0,220
12	1	1	1	-1	-1	1	14,040 $\pm$ 0,200

Legenda: 1. Teor total de fenólicos 2. Desvio padrão.

As atividades antioxidantes e fotoprotetoras do extrato obtido no experimento 11, com o maior teor de fenólicos, foram avaliadas e estão apresentadas na Tabela 3.

O extrato produzido através do uso de enzima apresentou melhores resultados para a atividade antioxidante que o controle, com valores significativamente superior para ABTS^{•+} ($34,035 \pm 1,049$ μ mol TEAC/g de planta) e DPPH ($30,043 \pm 0,565$ μ mol TEAC/g), mostrando a eficiência do processo enzimático na liberação de compostos antioxidantes. No ensaio de fotoproteção não houve diferença estatística entre o controle e a extração de bioativos assistida por enzima.

Tabela 3. Resultados dos ensaios antioxidantes e de fotoproteção.

Ensaio	ABTS ^{•+} (μ mol TEAC/g) $\pm$ DP	DPPH (μ mol TEAC/g) $\pm$ DP	FPS $\pm$ DP ²
Extrato enzimático	34,035 $\pm$ 1,049 ^a	30,043 $\pm$ 0,565 ^a	13,23 $\pm$ 0,73 ^a
Controle ¹	32,299 $\pm$ 0,636 ^b	27,407 $\pm$ 1,054 ^b	12,58 $\pm$ 0,58 ^a

Legenda: Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não possuem diferença significativa, segundo teste de Tukey ($p < 0,05$). 1. Extrato obtido sem o uso de enzima; 2. Concentração de 3,0 g de planta/L.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta, pela primeira vez, dados sobre o potencial obtenção de compostos bioativos de *Lippia insignis*, a partir da extração enzimática assistida por

Viscozyme®. A extração mostrou-se eficiente para a recuperação de fenólicos, sendo a massa de planta e a concentração enzimática os fatores mais influentes. Os extratos obtidos apresentaram atividade antioxidante e capacidade fotoprotetora, confirmando o potencial biológico da espécie. Assim, a metodologia aplicada se mostra sustentável e promissora para melhorar a base de conhecimento para futuras otimizações, assim como averiguações dos bioativos responsáveis pelas ações antioxidantes e fotoprotetoras.

REFERÊNCIAS

- NAIK, M. *et al.* Cinética de extração e avaliação da qualidade do óleo extraído de sementes de melão amargo (*Momordica charantia* L.) utilizando tecnologias emergentes. **LWT – Food Sci. Technol.** 140: 110714.
- FREITAS, M. M.; LUCCESE, A. M.; ROCHA, M. L.; BOMFIM, H. F. 2016. Composição química e atividade biológica de *Lippia insignis* Moldenke. In: **XX Seminário de Iniciação Científica**, Feira de Santana, n. 20.
- REIS, F. A. A. dos. 2016. **Prospecção química de *Lippia insignis* Moldenke (Verbenaceae)**. Univ. Fed. do Ceará, MSc diss.
- ADUSEI, S. *et al.* 2019. Phytochemical analysis, antioxidant and metal chelating capacity of *Tetrapleura tetraptera*. **Heliyon** 5(11): e02762. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02762. Adaptado.
- RUFINO, M. do S. M. *et al.* **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺**. Fortaleza: [s.n.], jul. Adaptado.
- FONSECA JÚNIOR, E. Q. *et al.* 2016. **Estudo fitoquímico e análise de fotoproteção dos extratos e óleos essenciais de *Aniba canelilla* (H.B.K) Mez.** Adaptado.
- AAT BIOQUEST, Inc. **Preparação e receita do tampão citrato Quest Calculate™ (pH 3,0 a 6,2)**. AAT Bioquest, 29 set. 2025. DOI: <https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/citrate-buffer-ph-3-to-6-2>. Adaptado.
- POLO-CASTELLANO, M. *et al.* Optimizing an Enzymatic Extraction Method for the Flavonoids in Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves Based on Experimental Designs Methodologies. **Antioxidants**, Basel, v. 12, n. 2, p. 369, fev. 2023. DOI: 10.3390/antiox12020369.
- HEEMANN, A. C. W. *et al.* Enzyme-assisted extraction of polyphenols from green yerba mate. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, e2017222, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.22217>.
- FARIAS, A. V. *et al.* Estudo fitoquímico e análise de fotoproteção dos extratos e óleos essenciais de *Aniba canelilla* (H.B.K) Mez. **The Journal of Engineering and Exact Sciences - JCEES**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 614-620, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18540/24469416030420170614>. Adaptado.