

# CAPÍTULO 17

## QUANTIFICAÇÃO DO ÁCIDO URSÓLICO PRESENTE EM EXTRATOS HIDROETANÓLICOS DE DIFERENTES PARTES DA NÊSPERA

Data de aceite: 23/09/2020

Data de submissão: 30/06/2020

### Amanda Neris dos Santos

Universidade Federal de Minas Gerais  
Belo Horizonte – Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/1413393271728078>

### Viviane Dias Medeiros Silva

Universidade Federal de Minas Gerais  
Belo Horizonte – Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/7185084760096182>

### Camila Argenta Fante

Universidade Federal de Minas Gerais  
Belo Horizonte – Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/0342621968094479>

**RESUMO:** Nêspera (*Eriobotrya japonica* Lindl.) é uma fruta com potencial antimicrobiano que provém principalmente do ácido ursólico. O objetivo deste estudo foi quantificar o ácido ursólico presente em extratos de diferentes partes da nêspera. As nêsperas foram coletadas em janeiro de 2017 e separadas em ‘polpa’, ‘polpa e semente’ e ‘semente’. Essas partes foram liofilizadas por 24 horas e trituradas em um processador de alimentos para aumentar a área de contato para extração. As amostras trituradas foram diluídas com solução de etanol-água (1: 1 v / v). Os compostos bioativos do extrato foram identificados por análise UPLC. Para a identificação do pico do ácido ursólico, foi utilizado um detector UV-vis de fotodiodo em uma faixa de 200 a 400 nanômetros, uma coluna C18

com temperatura de trabalho de  $23 \pm 3$  °C e uma fase móvel dividida em duas soluções. O padrão de ácido ursólico foi injetado sob condições predeterminadas. Os respectivos valores de absorvância das concentrações, que variaram de 10 a 150 ppm, foram calculados pela equação ( $Y = 8209,4 x$ ) e o coeficiente de determinação encontrado foi  $R^2 = 0,9595$ . Os extratos foram injetados nas mesmas condições do padrão. Os resultados da análise UPLC demonstraram que a concentração de ácido úrsólico presente no extrato de “semente” de nêspera ( $0,65 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ) foi maior que nos extratos de “polpa e semente” ( $0,23 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ) e “polpa” ( $0,08 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ). Saber as concentrações do composto antimicrobiano nas partes da nêspera é um primeiro passo para isolar o ácido ursólico da fruta e usá-lo com um conservante orgânico nos alimentos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Nêspera; Potencial antimicrobiano; Ácido ursólico.

### QUANTIFICATION OF URSOLIC ACID PRESENT IN HYDROETHANOLIC EXTRACTS FROM DIFFERENT PARTS OF LOQUAT FRUIT

**ABSTRACT:** Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) is a fruit with antimicrobial potential that comes mainly from ursolic acid. The aim of this study was to quantify the ursolic acid present in extracts from different parts of loquat fruit. Loquats were collected in January 2017, and separated into ‘pulp’, ‘pulp and seed’ and ‘seed’. These parts were lyophilized for 24 hours and ground in a food processor to increase the contact area for extraction. The crushed samples were diluted by

ethanol-water solution (1:1 v/v). The bioactive compounds of the extract were identified by UPLC analysis. For the identification of the ursolic acid peak, a photodiode array UV-vis detector was used in a range of 200 to 400 nanometers, a C18 column with a working temperature of 23 °C ± 3 and a mobile phase divided into two solutions. The ursolic acid standard was injected under the predetermined conditions. The respective absorbance values of the concentrations, which ranged from 10 - 150 ppm, were calculated by the equation ( $Y = 8209,4 x$ ) and the determination coefficient found was  $R^2 = 0.9595$ . The extracts were injected under the same conditions as the standard. The results from UPLC analysis demonstrated that the ursolic acid concentration presented in the “seed” extract of loquat (0.65 mg.100mL<sup>-1</sup>) was higher than the extracts from the “pulp and seed” (0.23 mg.100mL<sup>-1</sup>) and “pulp” (0.08 mg.100mL<sup>-1</sup>). Know the concentrations of antimicrobial compound in the loquat parts has is a first step to isoled ursolic acid of the fruit and use it with a organic preservative in foods.

**KEYWORDS:** Loquat; Antimicrobial potential; Ursolic acid.

## INTRODUÇÃO

Nêspera (*Eriobotrya japonica* Lindl.) é uma fruta, ilustrada na Figura 1 com potencial antimicrobiano alcançado principalmente pelo ácido ursólico (Rashed e Butnariu, 2014; Bobis *et al.*, 2015; Wozniak *et al.*, 2015).



Figura 1 - Nêspera.

Fonte: do autor

Ácidos extraídos de plantas atuam por seus metabólitos secundários neutralizando espécies reativas de oxigênio – ROS (Ercisli *et al.*, 2012). Desta forma, é necessária a presença de hidroxilas livres e grupos carboxilas, mas a hidrofobicidade deste composto atrapalha a miscibilidade em água (Sultana, 2011; Eloy *et al.*, 2012). No entanto, este ácido é um composto bioativo presente na composição natural da nêspera e é preservado em seu extrato hidroetanólico (López-Hortas *et al.*, 2018).

## OBJETIVO

Quantificar o ácido ursólico presente em extratos de diferentes partes da nêspera.

## MATERIAIS

As nêsperas utilizadas foram coletadas no mês de janeiro de 2017, no talude da reitoria da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. O Álcool etílico utilizado foi da marca Synth® e o padrão analítico de ácido ursólico foi adquirido na Sigma Aldrich® com grau de pureza estabelecido como maior ou igual a 98,5 %.

## MÉTODOS

A nêspera foi separada em ‘polpa’, ‘polpa e semente’ e ‘semente’, essas partes foram liofilizadas por 24 horas e trituradas em um processador de alimentos para aumentar a área de contato para extração. As amostras trituradas foram diluídas com solução de etanol-água (1: 1 v / v). Para cada vinte gramas de “polpa”, “polpa e semente” e “semente” foram utilizados 100 mL da solução de extração.

A mistura foi agitada, protegida da luz e armazenada à temperatura ambiente ( $23 \pm 3$  °C) durante 48 horas. Os extratos foram filtrados em papel de filtro e o solvente foi evaporado rotativamente até todo o etanol ser coletado no balão de destilação e o extrato ainda permanecer líquido.

## DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO URSÓLICO NOS EXTRATOS

Os compostos bioativos do extrato foram identificados por análise de Cromatografia Líquida de Ultra Performance - UPLC. Para a identificação do pico do ácido ursólico, foi utilizado um cromatógrafo líquido (Waters, Acquity UPLC® Class, Milford, USA) equipado com detector UV-vis de fotodiodo em uma faixa de 200 a 400 nanômetros, uma coluna C18 (Acquity UPLC® BEH C18, 2,1 x 100 mm, 1,7 µm, Waters, Milford, USA) com temperatura de trabalho de  $23 \pm 3$  °C e uma fase móvel dividida em duas soluções: solução A composta por acetonitrila / água (10:90, v / v) e solução B por ácido acético / acetonitrila / água (5:80:15, v / v). Na análise, o gradiente de solvente foi programado de 0 a 50% de B em A por cinquenta minutos a uma vazão de 1 mL.min<sup>-1</sup>. O padrão de ácido ursólico foi injetado sob condições predeterminadas.

Os respectivos valores de absorbância das concentrações, que variaram de 10 a 150 ppm, foram calculados pela equação ( $Y = 8209,4 x$ ) e o coeficiente de determinação encontrado foi  $R^2 = 0,9595$ . Os extratos foram injetados nas mesmas condições do padrão.

## RESULTADOS

Os resultados da análise UPLC demonstraram que a concentração de ácido ursólico presente no extrato da “semente” da nêspera ( $0,65 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ) foi maior que nos extratos de “polpa e semente” ( $0,23 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ) e “polpa” ( $0,08 \text{ mg} \cdot 100\text{mL}^{-1}$ ), conforme Apresentado no Gráfico 1.

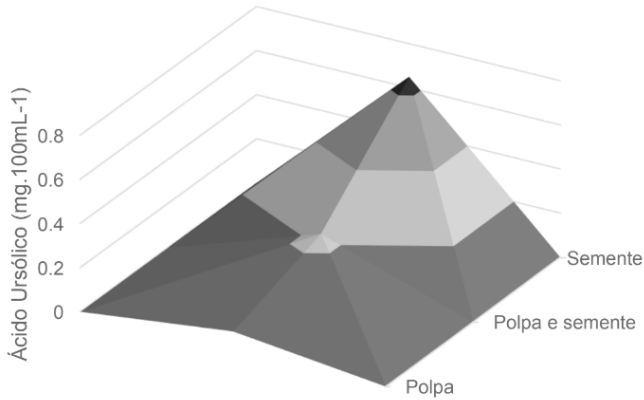


Gráfico 1 - Concentração de ácido ursólico nos extratos das partes da nêspera.

Marques, *et al.*, 2020, constataram que o ácido lactobiônico apresentou ação conservadora no suco de yacom nas concentrações de 0,5 e 1,0%. Já Hernández-Cánovas, *et al.*, 2020 estudaram uma mistura de antimicrobianos naturais extraídos de cítricos e endro, e foi observado ação antifúngica nas concentrações entre 0,7 e 3,2% ao utilizá-la como conservador em molhos.

Desta forma, o extrato da semente da nêspera, é um extrato proveniente de uma das partes da fruta e apresenta concentração de ácido ursólico equivalente ao necessário para ser avaliado como uma possibilidade de utilização na conservação de alimentos.

## CONCLUSÃO

O ácido ursólico é um dos principais compostos antimicrobianos da nêspera e determinar as concentrações deste ácido nas diferentes partes deste fruto, é de fundamental importância para isolá-lo e usá-lo como conservante orgânico nos alimentos. Com os resultados apresentados neste trabalho, a semente da nêspera é uma possibilidade de fonte de ácido ursólico.

## REFERÊNCIAS

BOBIS, O. *et al.* **Influence of phytochemical profile on antibacterial activity of different medicinal plants against gram-positive and gram-negative bacteria.** Applied Biochemistry and Microbiology, Moscow, v. 51, n. 1, p. 113-118, 2015. ISSN 0003-6838.

ELOY, J. D. O. *et al.* **Desenvolvimento e validação de um método analítico por clae para quantificação de ácido ursólico em dispersões sólidas.** Química Nova, v. 35, p. 1036-1040, 2012.

ERCISLI, S. *et al.* **Some physicochemical characteristics, bioactive content and antioxidant capacity of loquat (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) fruits from Turkey.** Scientia Horticulturae, v. 148, p. 185-189; 2012. ISSN 0304-4238.

HERNANDEZ-CA'NOVAS, J. de D. *et al.* **Antimicrobial activity of Citrus spp. and Anethum graveolens components against Candida metapsilosis in ranch sauce;** Journal of Food Science and Technology; v. 57, p. 2713–2721; 2020. ISSN 0975-8402.

LÓPEZ-HORTAS, L. *et al.* **Recent developments on the extraction and application of ursolic acid. A review.** Food Research International, v. 103, p. 130-149; 2018. ISSN 0963-9969.

MARQUES, C. *et al.* **Lactobionic acid as a suitable food preservative for yacon juice;** Innovative Food Science and Emerging Technologies; V. 64; 2020. ISSN 1466-8564.

RASHED, K. N.; BUTNARIU, M. **Isolation and antimicrobial and antioxidant evaluation of bio-active compounds from Eriobotrya japonica stems.** Advanced Pharmaceutical Bulletin, v. 4, n. 1, p. 75-81, 2014. ISSN 2228-5881.

SULTANA, N. **Clinically useful anticancer, antitumor, and antiwrinkle agent, ursolic acid and related derivatives as medicinally important natural product.** J. Enzym. Inhib. Med. Chem. V. 26; p. 616-642; 2011.

WOZNIAK, L.; SKAPSKA, S.; MARSZALEK, K. **Ursolic Acid-A Pentacyclic Triterpenoid with a Wide Spectrum of Pharmacological Activities.** Basel: MDPI AG. 20; 2015. ISSN 20614-20641.