

Perfil Químico e de Homogeneidade dos Polissacarídeos Extraídos de Raízes de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen

Edilainy Rizzieri Caleffi¹, Milena de Oliveira Jayme¹, Cristina Sayuri Yamaguchi¹, Sheila Mara Sanches Lopes¹, Débora Jacomini¹, Guilherme Ianzi Sasaki², Regina Aparecida Correia Gonçalves¹, Arildo José Braz de Oliveira¹.

¹ Universidade Estadual de Maringá – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas
Av. Colombo, 5.790 bloco K80 CEP 87020-900 Maringá – Paraná - E-mail: edilainy@gmail.com

² Universidade Federal do Paraná– Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular
Caixa-postal: 19046 CEP 81531-990 - Curitiba – Paraná

RESUMO

A *Pfaffia sp* (Amaranthaceae), conhecida como ginseng brasileiro é comercializada como substituta do ginseng asiático, o *Panax ginseng*. O Brasil é considerado o maior centro produtor de *Pfaffia* na América. No entanto, enquanto o *Panax ginseng* é provavelmente a mais popular e bem conhecida planta medicinal documentada até hoje, os estudos com *Pfaffia sp* são ainda bastante escassos principalmente em relação aos polissacarídeos. O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil químico e de homogeneidade dos polissacarídeos extraídos dessas raízes. Através das análises espectrofotométricas e por cromatografia em camada delgada (CCD) foi possível identificar carboidratos do tipo frutano o que sugere a presença de fruto-oligosacarídeos. A amostra se apresentou homogênea indicando a presença de moléculas de tamanhos aproximados, possivelmente um único tipo de polissacarídeo.

Palavras-chave: *Pfaffia glomerata*, polissacarídeos, frutanos.

INTRODUÇÃO

A *Pfaffia sp* é utilizada há séculos pelos índios brasileiros na cura e prevenção de doenças e estudos recentes têm confirmado a sua eficácia¹. O gênero *Pfaffia* pertence à família Amaranthaceae e várias espécies são comercializadas no Brasil como substitutas do Ginseng asiático (*Panax spp*)². Estas espécies, conhecidas popularmente como ginseng-brasileiro despertaram a atenção e vem sendo exportadas em quantidades cada vez maiores³. As raízes de espécies de *Pfaffia* são usadas na medicina popular no Brasil como tônicas, afrodisíacas, antidiabéticas, no tratamento de distúrbios gástricos e como cicatrizantes^{2,3}.

No entanto, enquanto a espécie *Panax ginseng* é provavelmente a mais popular e bem conhecida planta medicinal documentada até hoje, os estudos sobre o gênero *Pfaffia sp* são ainda bastante escassos, se considerarmos a extensão de seu uso, principalmente quanto aos seus metabólitos primários como os polissacarídeos. Os polissacarídeos são atualmente, considerados de grande interesse por serem de fácil obtenção, custo reduzido, biodegradáveis e pela diversidade de aplicações⁴. Estudos revelam que em espécies da família Amaranthaceae como a *Gomphrena macrocephala*, 50% do peso seco da raiz é composta por carboidratos solúveis caracterizados como frutanos⁵.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi determinar o perfil químico e de homogeneidade dos polissacarídeos extraídos das raízes da *Pfaffia glomerata*.

MATERIAL E MÉTODOS

As raízes secas e rasuradas da *P. glomerata* foram submetidas à extração com água (1:15 p/v) a 100° C por 2 horas. Após filtração, os polissacarídeos foram precipitados com três volumes de álcool etílico 95° GL, filtrados e liofilizados⁶. O material seco foi pesado para cálculo de rendimento da extração.

Foram realizadas análises por CCD das frações hidrolisada (c/HID) e não hidrolisada (s/HID) comparadas com padrões de frutose, glicose, sacarose e inulina. Para a CCD foram utilizadas placas de gel de sílica 60 F₂₅₄ Macherey-Nagel[®] utilizando dois sistemas de solvente como fase móvel (FM) acetato de etila: propanol:ácido acético:água (4:2:2:1 v/v), e propanol:água (7:3 v/v)⁷ e reveladas com reagente de Orcinol-Sulfúrico⁸. A hidrólise da amostra foi realizada com ácido trifluoroacético conforme a literatura⁹.

Os principais componentes bioquímicos foram quantificados a partir de reações colorimétricas com leitura em espectrofotômetro Varian[®] modelo Cary 1E e analisados em triplicata na concentração de 50 µg mL⁻¹. Foram preparadas curvas analíticas com diferentes concentrações de padrões para cada método de análise. As técnicas utilizadas foram: açúcares totais pelo método do Fenol-Sulfúrico¹⁰, proteínas método Lowry modificado¹¹ e frutose método do Resorcinol¹².

Para o teste de homogeneidade, a amostra (1mg mL⁻¹) foi solubilizada em solução de NaNO₂ 0,2 mol L⁻¹ contendo NaN₃ 0,02% (m/v)¹³. A amostra foi filtrada em membrana de acetato de celulose 0,22 µm (Millipore[®]) e aplicada em cromatógrafo de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC) Waters[®] equipado com detector de índice de refração diferencial (RI), modelo Waters[®] 2410 do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFPR, Curitiba-PR. Foram utilizadas quatro colunas Waters[®] Ultrahydrogel dispostas de forma sequencial e apresentando diferentes limites de exclusão: 7 x 10⁶; 4 x 10⁵; 8 x 10⁴ e 5 x 10³.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final dos procedimentos de isolamento dos polissacarídeos obteve-se um rendimento de 11,45%.

Pela análise preliminar por CCD (Figura 1) foi possível sugerir, por comparação entre os fatores de retenção (Rf) dos padrões e da amostra, a presença de monômeros de glicose e frutose.

De acordo com as análises espectrofotométricas (Tabela 1), pode-se estimar que a maioria dos compostos extraídos, aproximadamente 68,86%, são açúcares sendo 59,66% frutose. A grande quantidade de açúcares totais e a presença de frutose na amostra sugerem a existência de polissacarídeos do tipo frutanos.



III SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

Figura 1. CCD comparativa utilizando acetato de etila: *n*-propanol: ácido acético: água (4:2:2:1 v/v) (1) e *n*-propanol: água (7:3 v/v) (2). FRU: Frutose, GLI: Glicose, SAC: Sacarose, INU: Inulina padrão, s/HID: amostra não hidrolisada e c/HID: amostra hidrolisada.

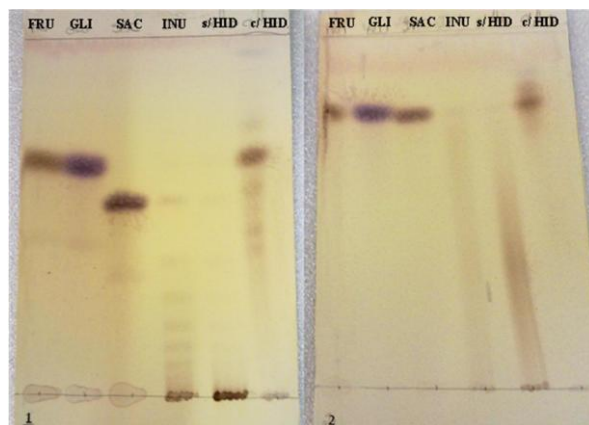


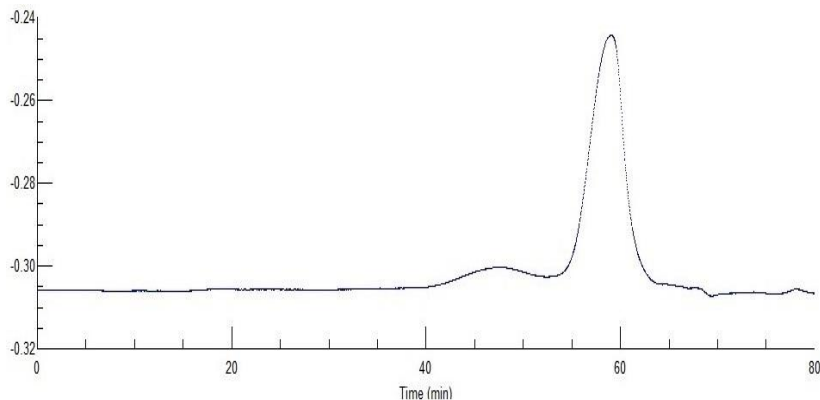
Tabela 1. Análise espectrofotométrica de açúcares e proteínas dos polissacarídeos extraídos da *P. glomerata*.

Doseamentos	Média ± DP (%)	CV%
Açúcar total	68,86 ± 3,50	5,08
Frutose	59,66 ± 1,69	2,83
Proteínas	8,76 ± 1,34	15,29

A determinação de proteínas foi realizada para avaliar a existência de compostos que poderiam interferir nas análises. A quantidade de proteínas encontradas (8,76%) indica que o procedimento favoreceu a extração dos carboidratos⁹.

O cromatograma da análise por HPSEC-RI (Figura 2) apresenta um pico definido com tempo de retenção (Rt) de aproximadamente 60 min. Esse pico majoritário sugere que a amostra é aparentemente homogênea e constituída de moléculas de tamanho aproximados, possivelmente um único tipo de polissacarídeo.

Figura 2. Perfil de eluição por HPSEC-RI dos polissacarídeos extraídos da *P. glomerata*.



CONCLUSÕES

Através das análises foi possível determinar um perfil químico dos polissacarídeos extraídos de raízes de *Pfaffia glomerata*. O carboidrato encontrado foi do tipo frutano o que sugere a presença de fruto-oligosacarídeos. A amostra se apresentou homogênea indicando a presença de moléculas de tamanhos aproximados, possivelmente um único tipo de polissacarídeo. Dessa forma, em estudos futuros, analisaremos a cultura *in vitro* de raízes dessa espécie identificando possíveis variações na produção desses carboidratos visto que essa espécie corre risco de extinção pela coleta intensiva de suas raízes¹⁴.

REFERÊNCIAS

- (1) ALVIM, N. R., CUNHA, K. C. T., CORTEZ, L. E. R., BAZOTTE, R. B., MARQUES, L. C., CORTEZ, D. A. G. Efeitos biológicos da *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen e da *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze (Amaranthaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 21, n. 0, p. 349-352, 2008.
- (2) OLIVEIRA, F. *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze: the Brazilian ginseng. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, n. 1, p. 86-92, 1986.
- (3) CORRÊA JÚNIOR, C. **Estudo agrônomo de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng) Pedersen): sazonalidade na produção de raízes e conteúdo de 'Beta'-ecdisona em diferentes acessos de São Paulo, Paraná e Mato Grosso do Sul** 2003. (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrônomicas, UNESP, Botucatu/SP.
- (4) IZYDORCZYK, M., CUI, S. W., WANG, Q. Polysaccharide Gums: Structures, Functional Properties, and Applications. In: CUI, S. W. (Ed.). **Food Carbohydrates: chemistry, physical properties and applications**. Canadá: Taylor & Francis Group, LLC, 2005. cap. 6, p.263-308.
- (5) VIEIRA, C. C. J., FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Fructose-containing carbohydrates in the tuberous root of *Gomphrena macrocephala* St.-Hil. (Amaranthaceae) at different phenological phases. **Plant, Cell & Environment**, v. 16, n. 8, p. 919-928, 1993.
- (6) GÜNTER, E. A., OVODOV, Y. S. Polysaccharides of Cell Cultures of *Silene vulgaris*. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 43, p. 84-90, 2012.
- (7) SASSAKI, G. L., SOUZA, L. M., CIPRIANI, T. R., IACOMINI, M. TLC of carbohydrates. In: WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J. e KOWALSKA, T. (Ed.). **Thin layer chromatography in phytochemistry**. 1ª ed. New York: Taylor & Francis group, LLC, v.99, 2008. cap. 11, p.255-276.
- (8) GHEBREGZABHER, M., RUFINI, S., MONALDI, B., LATO, M. Thin-layer chromatography of carbohydrates. **Journal of Chromatography A**, v. 127, n. 2, p. 133-162, 1976.



III SIMBBTEC
Londrina 2013

Anais do III Simpósio de Bioquímica e Biotecnologia
Trabalho Completo apresentado na seção: PÔSTER

- (9) LOPES, S. M. S. **Isolamento e caracterização de inulina a partir de raízes de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni**. 2012. (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá/PR.
- (10) DUBOIS, M., GILLES, K. A., HAMILTON, J. K., REBERS, P. A., SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.
- (11) HARTREE, E. F. Determination of Protein - Modification of Lowry Method That Gives a Linear Photometric Response. **Analytical Biochemistry**, v. 48, n. 2, p. 422-427, 1972.
- (12) ASHWELL, G. Colorimetric analysis of sugars. In: COLWICK, S. P. e KAPLAN, N. O. (Ed.). **Methods in Enzymology**. New York, v.3, 1957. p.75.
- (13) TOSIN, F. F. S. **Polissacarídeos da goma de exsudato e da polpa dos frutos de *Prunus persica*: caracterização estrutural e análises reológicas**. 2008. (Doutorado). Pós-graduação em bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.
- (14) CORRÊA JÚNIOR, C., MING, L. C., CORTEZ, D. A. G. Seasonal variation in root production and β -ecdisonone content in *pfaffia* accessions. **Horticultura Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 393-397, 2008.