Obtenção e avaliação da atividade antioxidante de extrato do fruto do araçá (*Psidium cattleianum*)

Aline Mayara Ramalho dos Santos (BIC/FA), Natália de Carvalho Cravo, Marina Tolentino Marinho (Orientador), e-mail: mtolentinomarinho@gmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Engenharia de Alimentos.

Área do conhecimento em Ciências Agrárias (5.00.00.00-4) e Subárea em Ciência de Alimentos (5.07.01.00-2)

Palavras-chave: Araçá, otimização, antioxidante.

Resumo

O araçá é uma fruta nativa brasileira conhecida por suas propriedades antioxidantes, devido à presença de compostos fenólicos em sua composição. Assim, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração de compostos fenólicos da polpa do araçá (*Psidium cattleianum*) por ultrassom. A primeira etapa da otimização foi a escolha do solvente, entre o etanol, acetona, metanol e água e a segunda parte foi a otimização da extração com o melhor solvente, variando concentração e potência do ultrassom. Após a obtenção dos extratos foram avaliados o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS. A acetona proporcionou um extrato com maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante. A partir disso foi observado que o extrato com maior teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante foi o com 60% de acetona e 40W de potência no ultrassom, obtendo 512,19 µg EAG mL^{-1} de extrato, 1606,06 µM de trolox mL^{-1} de extrato frente ao radical DPPH e 2689,67 µM de trolox mL^{-1} de extrato frente ao radical ABTS. As variáveis estudadas apresentaram efeito significativo na extração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante e o melhor solvente foi a acetona.

Introdução

A oxidação lipídica é o principal mecanismo de deterioração que limita a vida de prateleira de vários alimentos, causando alterações sensoriais, nutricionais e produzindo compostos potencialmente tóxicos (TABEE *et al*., 2008). Os antioxidantes, sintéticos ou naturais, são adicionados nos alimentos no intuito de se evitar o processo de oxidação.

Considerando o crescente interesse em antioxidantes naturais, o araçá (*Psidium cattleianum*), pequena fruta nativa brasileira que possui características nutricionais e funcionais em sua polpa, pode ser uma fonte desses compostos. Não existe processo de industrialização desse fruto, tornando-se interessante a obtenção de um extrato da polpa do araçá, com possível aplicação em diversos alimentos com o objetivo de retardar a oxidação dos mesmos.

Para a obtenção de um extrato vegetal com alto poder antioxidante, deve-se considerar o tipo de solvente, volume adequado e polaridade. Um método capaz de potencializar a extração é o uso do ultrassom, que tem como principais efeitos facilitar a dilatação e a hidratação do material, aumentar o tecido celular em volume quebrando a parede celular, o que causa a saída de compostos celulares, além de aumentar a eficiência da extração (VEGGI, 2013).

Considerando o exposto acima, este trabalho teve como objetivo otimizar a extração de compostos fenólicos da polpa do araçá e determinar a atividade antioxidante.

Material e Métodos

A polpa do fruto de araçá vermelho obtida manualmente foi seca em estufa com circulação de ar a 55ºC por 10 horas até atingir cerca de 5,0% de umidade. A polpa seca foi moída e padronizada por peneiramento a 20 *mesh*. O pó obtido foi embalado a vácuo e armazenado sob congelamento até o momento das extrações.

Primeiramente foram testados os seguintes solventes: água, etanol, metanol e acetona, com concentração de 80%, relação de 1:25 de massa : solvente e utilizando o ultrassom (Cuba Ultrassônica/ Lavadora Ultrassônica Q9.5L) a 25º C, 30W por 30 minutos. Os extratos foram evaporados à vácuo (Evaporador rotativo TECNAL, TE-211, BRASIL) e analisados.

O extrato que obteve melhores resultados foi selecionado para a otimização em ultrassom, sendo utilizado o planejamento 2^2 com 2 pontos centrais, variando a concentração de acetona (40, 60 e 80%) e potência do ultrassom (30, 40 e 50W), mantendo fixos os parâmetro: relação massa : solvente de 1:25, temperatura de 35ºC e tempo de 30 minutos.

A determinação dos compostos fenólicos totais (TPC) foi realizada com base em Singleton *et al.* (1999), e expressos em µg equivalente de ácido gálico/mL de extrato.

A atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH e ABTS. A análise de DPPH foi realizada de acordo com a metodologia de Shetty *et al.* (2005), e ABTS foi realizada de acordo com Re *et al*. (1999) com modificações. Ambas as análises tiveram o resultado expressos em µM Trolox/mL de extrato.

Foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk, a análise de variância e o teste de Tukey, utilizando os softwares R e Statistica.

Resultados e Discussão

A Tabela 1 mostra que a acetona teve a maior eficiência na extração de compostos fenólicos e a máxima atividade antioxidante, diferindo significativamente dos outros solventes ($p<0,001$). Portanto a acetona foi escolhida como solvente para a otimização da extração.

Tabela 1 - Influência do solvente teor de fenóis totais e na atividade antioxidante do extrato

	TPC (µgGAE/mL)	DPPH (µM Trolox/mL)	ABTS (µM Trolox/mL)
Etanol	151,46 ± 8,19^{c}	379,79 ± 3,3^{d}	697,02 ± 17,56^{c}
Metanol	221,16 ± 24,01^{b}	466,83 ± 5,76^{b}	898,66 ± 13,56^{b}
Água	109,76 ± 3,53^{d}	422,37 ± 5,93^{c}	713,23 ± 14,14^{c}
Acetona	262,46 ± 4,38^{a}	1288,15 ± 20,0^{a}	2141,56 ± 8,56^{a}
p	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**

^{abc} Letras diferentes na mesma coluna, para cada análise, indicam diferença significativa entre os experimentos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

A polaridade do composto que se deseja extrair deve ser considerada ao escolher o tipo do solvente. Medina *et al*. (2011) também obteve melhores resultados de compostos fenólicos totais para extratos tendo a acetona como solvente. Vizzotto *et al*. (2008) justificam o fato de a água não ser um bom solvente,

pois resulta em extratos de alta impureza (proteínas solúveis, açúcares, ácidos orgânicos) interferindo na quantificação de compostos fenólicos.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos a partir do delineamento experimental. Os modelos gerados na tentativa de otimização não foram significativos e, por isso, os resultados são expressos por experimento, apenas em média e desvio padrão.

Tabela 2 - Influência da concentração da solução extratora e da potência do ultrassom no teor de fenóis totais e na atividade antioxidante do extrato

	Concentração de acetona (% v/v)	Potência Ultrassom (W)	TPC (µgGAE/mL)	DPPH(µMTrolox/mL)	ABTS(µMTrolox/mL)
1	80	50	273,49±3,33^{d}	810,93±16,73^{e}	2410,62±21,86^{c}
2	40	50	248,50±5,32^{e}	1226,46±53,34^{c}	1281,06±9,00^{e}
3	80	30	325,64±4,50^{c}	1562,74±22,81^{a}	2557,67±3,66^{b}
4	40	30	318,64±0,01^{c}	933,30±23,04^{d}	1437,99±32,93^{d}
5	60	40	512,19±1,88^{a}	1315,87±4,39^{b}	2689,67±58,78^{a}
6	60	40	343,65±141^{b}	1606,06±28,93^{a}	2525,90±31,32^{b}
		p	**<0,001**	**<0,001**	**<0,001**

^{abc} Letras diferentes na mesma coluna, para cada análise, indicam diferença significativa entre os experimentos (Teste de Tukey, $p < 0,05$).

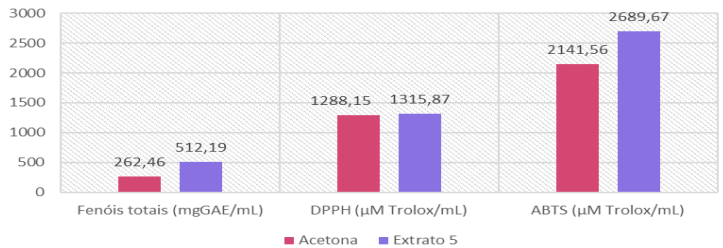
Para o conteúdo de compostos fenólicos totais apenas o extrato 3 e 4 não obtiveram diferença significativa. Isso pode ser justificado por terem sido tratados na mesma potência ultrassônica, 30W, e demonstra que a concentração do solvente não influenciou significativamente nesse parâmetro. O extrato com maior teor de TPC foi o 5, obtido com 60% de acetona e 40W do ultrassom, com 512,19 µgGAE/mL.

A atividade antioxidante baseada no poder de inibição do radical DPPH não obteve diferença significativa para o extrato 3 e 6, que também obtiveram os maiores potenciais antioxidantes, com 1562,74 µM Trolox/mL e 1606,06 µM Trolox/mL respectivamente, seguidos pelo extrato 5 com 1315,87 µM Trolox/mL. Já para a análise baseada no poder de inibição do ABTS os extratos 3 e 6 também não diferiram entre si, e o maior potencial foi para o extrato 5, 2689,67 µM Trolox/mL, seguido dos extratos 3 e 6, 2557,67 µM Trolox/mL e 2525,90 µM Trolox/mL, respectivamente.

Segundo Soares *et al.* (2008), na medida em que há aumento da concentração de solvente, há aumento do teor de fenóis, porém até determinado limite. Considerando isso, o uso de acetona a 80% não foi eficiente na extração, sendo concentração de 60% capaz de obter os melhores resultados.

Na Figura 1 está demonstrada uma comparação entre o extrato de acetona utilizado na comparação entre solventes com o melhor extrato obtido na otimização.

Figura 1 – Comparação do extrato de acetona inicial e após otimização com relação ao teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante



Pode-se observar que a otimização resultou em um extrato com maior teor de compostos fenólicos e melhor atividade antioxidante.

Conclusão

As variáveis analisadas apresentaram diferença significativa na eficiência da extração de compostos fenólicos e na atividade antioxidante. Uma potência ultrassônica e concentração de solvente moderadas já são eficientes para melhorar a extração. O extrato obtido pode ser liofilizado para ser aplicado em alimentos no intuito de avaliar seu potencial antioxidante em alimentos suscetíveis a oxidação lipídica.

Agradecimentos

Ao CNPq pelo apoio financeiro (Processo 429691/2016-5) e à Fundação Araucária pela bolsa concedida.

Referências

MEDINA, A. L., HAAS, L. I. R., CHAVES, F. C., SALVADOR, M., ZAMBIAZI, R. C., DA SILVA, W. P., ROMBALDI, C. V. Araçá (Psidium cattleianum Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine,** v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

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. 299, p.152-179, 1999.

SHETTY, K.; CHUN, S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. Phenolic antioxidants from clonal oregano (Origanum vulgare) with antimicrobial activity against Helicobacter pylori. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 809-816, 2005.

SOARES, M., WELTER, L., KUSKOSKI, E. M., GONZAGA, L., & FETT, R. (2008). Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. *30*(1), p. 59-64.

TABEE, E.; AZADMARD-DAMIRCHI, S.; JAGESTAD, M.; DUTTA, P. C. Lipids and phytosterol oxidation in commercial French fries commonly consumed in Sweden. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 21, n. 2, p. 169-177, 2008.

VEGGI, P. C. **Obtenção de compostos fenólicos de plantas brasilieras via tecnologia supercrítica utilizando cossolventes e extração assistida por ultrassom.** 2013.

VIZZOTTO, M; PEREIRA, M. C. Amora-preta (Rubus sp.): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1209-1214, 2011.