AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E TOXICIDADE DE DIFERENTES EXTRATOS DE SEMENTES DE JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*)

Mateus Flórido Cubo (PROVIC), Romaiana Picada Pereira (Orientadora), e-mail: romaiana@yahoo.com.br.
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química

Química, Química Orgânica

Palavras-chave: Solventes, Jabuticaba, compostos bioativos.

Resumo

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora)* é uma árvore brasileira. Seu fruto, a jabuticaba, possui alto valor nutricional e a literatura demonstra que os extratos derivados de suas sementes são ricos em compostos fenólicos. Entretanto, ainda são necessários mais estudos relacionados a composição química e efeitos biológicos da espécie. Logo, o objetivo deste estudo foi investigar a composição química e possível toxicidade de diferentes extratos de semente de jabuticaba. O teor de compostos fenólicos e flavonoides totais foi determinado com o reagente de *Folin-Ciocalteu* e complexação com o íon alumínio, respectivamente. A toxicidade foi avaliada frente a *Artemia salina*. Os compostos foram extraídos das sementes utilizando quatro solventes distintos: água (AQ), etanol 70% (v/v) (EtOH), metanol (MetOH) e água:acetona (60:40 v/v) (AQAc). O extrato AQAc foi o que extraiu maior quantidade de compostos fenólicos e junto com o extrato aquoso, apresentou maior extração de flavonoides. Não foi observada toxicidade frente a *A. salina*.

Introdução

A jabuticabeira pertence à família *Myrtaceae*, presente em todo território nacional, mas com maior concentração nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás (BRUNINI et al; 2004). Na literatura é demonstrado que este fruto é rico em compostos bioativos, incluindo compostos fenólicos, os quais são provenientes do metabolismo secundário das plantas e estão relacionados com diversas características vegetais, como: aroma, cor e adstringência. Sua estrutura química caracteriza-se pela presença de, pelo menos, um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas (OH), incluindo outros grupos funcionais (KIM; JEONG; LEE, 2003). Além disso, são divididos em dois grupos: flavonoides e não flavonoides e exibem diversas propriedades biológicas, como ação antioxidante, podendo retardar reações de degradação oxidativa (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Os compostos antioxidantes são aplicados na indústria de alimentos para evitar a deterioração de produtos e aumentar seu valor nutricional, desacelerando as reações de oxidação e escurecimento enzimático. Também são de interesse na área da saúde, pois podem prevenir ou amenizar os efeitos adversos causados pelo estresse oxidativo. Por este motivo, vários estudos buscam elucidar propriedades antioxidantes de produtos naturais de fácil acesso, visando a prevenção de inúmeras doenças associadas a danos oxidativos (RAMALHO; JORGE, 2006; CHAND et al; 2018; SARRAFCHI et al; 2016). É demonstrado na literatura que as sementes da jabuticaba apresentam atividade antioxidante

comparável ao ácido ascórbico (HACKE et al; 2016). No entanto são necessárias maiores investigações acerca de sua composição química e efeitos biológicos. Dessa forma, o objetivo do presente estudo é investigar a composição química e possível toxicidade de diferentes extratos das sementes de jabuticaba, e obter resultados que auxiliem na aplicabilidade deste resíduo nas indústrias.

Materiais e Métodos

Obtenção das sementes
Os frutos maduros de jabuticaba da variedade Sabará (*Myrciaria cauliflora*) foram colhidos no município de Rio Negro/PR, foi removida a casca e obtida a polpa do fruto, que foi esmagada sobre uma peneira, sob água corrente para a remoção das sementes, que posteriormente foram lavadas com água destilada.

Obtenção dos extratos
As sementes previamente secas e trituradas foram submetidas a extrações de acordo com Hacke et al. (2016).

Investigação da composição química
O teor de compostos fenólicos nos extratos foi avaliado de acordo com Singleton, Orthofer e Lamuela-Ravento (1999), utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. O conteúdo de compostos fenólicos totais para as amostras foi calculado a partir da curva de calibração de ácido gálico e o resultado foi expresso em mg ácido gálico (AG)/100 g semente. O teste foi realizado em triplicata. A concentração de flavonoides foi determinada utilizando método espectrofotométrico a partir da complexação com o alumínio (WOISKY; SALATINO, 1998). O teor de flavonoides totais foi calculado a partir da curva padrão de quercetina e expresso como mg quercetina (QER)/100g semente. O teste foi realizado em triplicata.

Avaliação da toxicidade
A análise consistiu em avaliar a sobrevivência de *Artemia salina* na presença dos extratos nas concentrações de 100 - 2000 µg mL-1. Para controle positivo foi utilizada solução aquosa de dicromato de potássio (K2Cr2O7). Após 24 horas, foi contado o número de microcrustáceos mortos e calculado a porcentagem de mortalidade dos náuplios (MEYER et al; 1982).

Análise Estatística
Os resultados estão apresentados como a média ± desvio padrão. Para a análise estatística dos dados, foi utilizado o programa *Graph Pad Prism* 5.0 para análises de variância (ANOVA) seguida do teste *Newman-Keuls* para identificar as diferenças significativas entre as médias, considerando $p < 0,05$ em todos os testes.

Resultados e Discussão

Investigação da composição química
Neste estudo, foram utilizados métodos espectrofotométricos para a determinação da composição química dos diferentes extratos de *M. cauliflora*, sendo o método utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu para determinar o teor de compostos fenólicos. O método para determinação do teor de flavonoides baseia-se na complexação do íon alumínio (Al^{3+}) com os flavonoides presentes na amostra, formando complexos de coloração amarela, cuja intensidade está relacionada com a

concentração de flavonoides totais presentes na amostra (PEIXOTO SOBRINHO et al., 2012).
O teor de compostos fenólicos e flavonoides totais nos diferentes extratos de *M. cauliflora* estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos totais e flavonoides dos extratos de *M. cauliflora*

Amostra	Compostos Fenólicos (g de AG/100 g de amostra)	Flavonoides (g de QUER/100 g de amostra)
AQ	8,48±0,14^{b}	5,33±0,75^{a}
EtOH	8,08±0,32^{b}	2,78±0,58^{b}
MetOH	4,51±0,32^{c}	0,61±0,12^{c}
AQAc	15,30±1,03^{a}	5,71±0,47^{a}

*Valores apresentados como a média ± desvio padrão (n=3).
*AQ = extrato aquoso; EtOH = extrato etanólico; MetOH = extrato metanólico; AQAc = extrato hidro-acetônico. Médias seguidas por letras diferentes (a-c) diferem estatisticamente na mesma coluna (*Newman- Keuls* a $p < 0,05$).
Fonte: Os autores.

Conforme demonstrado na Tabela 4, observou-se que o maior teor de compostos fenólicos foi obtido na extração com AQAc. O menor teor foi quantificado na extração com metanol, e os solventes água e etanol 70% (v/v) não apresentaram diferença significativa pelo teste de *Newman-Keuls* com $p < 0,05$ de significância. Em relação ao teor de flavonoides, a amostra extraída com água:acetona (60:40 v/v) e aquela obtida com água apresentaram os maiores índices de extração. Novamente, o extrato MetOH apresentou o resultado de valor mais baixo seguido do extrato EtOH.

Avaliação da toxicidade
A taxa de mortalidade das *A. salina* estão apresentadas na Figura 1. Segundo Meyer et al (1982), considera-se o extrato aquoso atóxico, quando concentrações acima de 1000 µg mL^{-1} não apresentam toxicidade nesse teste. Logo os extratos da semente de jabuticaba não apresentaram toxicidade (100 - 2000 µg mL^{-1}). Os solventes não apresentaram nenhum efeito *per se* na viabilidade das artêmias.

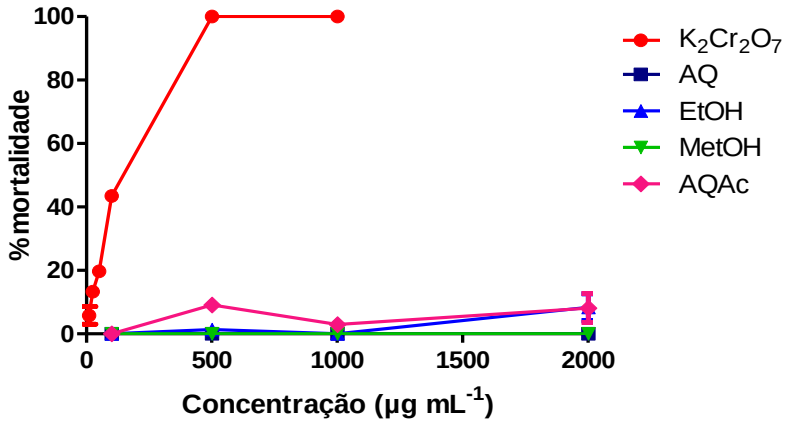


Figura 1: Gráfico da mortalidade da *A. salina* em função da concentração dos extratos.
*AQ = extrato aquoso; EtOH = extrato etanólico; MetOH = extrato metanólico; AQAc = extrato hidro-acetônico.
Fonte: Os autores

Conclusões

O extrato AQAc apresentou a maior concentração de compostos fenólicos e nenhum dos extratos mostrou-se tóxico frente ao teste de toxicidade de *Artemia salina*. A partir dos resultados do presente estudo, conclui-se que o extrato AQAc apresenta potencial para maiores investigações acerca de seus efeitos *in vivo* e possíveis aplicações como fonte de compostos antioxidantes.

Agradecimentos

Agradecimento a UEPG, ao Departamento de Química e ao Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Referências

BRUNINI, M. A., DE OLIVEIRA, A. L., SALANDINI, C. A. R., BAZZO, F. R. Influênciade embalagens e temperatura no armazenamento de jabuticabas (*Myrciaria jabuticaba* (vell) berg) cv 'sabará'. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 378, 2004.

CHAND, R. N.; GOPALAN, R. D.; CHRISTI, K. Evaluation of Antioxidant Properties in Thirteen Fijian Medicinal Plants Used in Alzheimer's Disease and Related Illness. **Free Radicals & Antioxidants**, v. 8, n. 1, 2018.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v. 5, p. 33-40, 2004.

HACKE, A. C. M; GRANATO, D; MACIEL, L. G; WEINERT, P. L; PRADO-SILVA, L. D; ALVARENGA, V. O; DE SOUZA SANT'ANA, A; BATAGLION, G.A; EBERLIN, M.N. & ROSSO, N. D. Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) Seeds: Chemical Characterization and Extraction of Antioxidant and Antimicrobial Compounds. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 9, p. 2206-2217, 2016.

KIM, D.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAM, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. J., & MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Journal of Medical Plant Research**, v. 45, n.1, p. 31-34, 1982

PEIXOTO SOBRINHO, T. J. S.; GOMES, T.L.B.; CARDOSO, K.C.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (Bauhinia L.) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Revistas Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.4, p.586-591, 2012.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, 755-760, 2006.

SARRAFCHI, A., BAHMANI, M., SHIRZAD, H., & RAFIEIAN-KOPAEI, M. M. Oxidative stress and Parkinson's disease: New hopes in treatment with herbal antioxidants. **Current pharmaceutical design**, v. 22, n. 2, p. 238-246, 2016.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTO, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of apicultural research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.