AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* DE DIFERENTES EXTRATOS DE SEMENTES DE JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora*)

Taynara Pacheco Valério (PIBIC/Fundação Araucária/UEPG), Romaiana Picada Pereira (Orientador), e-mail: romaiana@yahoo.com.br
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química

Química, Química Orgânica

Palavras-chave: polifenóis, compostos bioativos

Resumo

A jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*) é uma árvore frutífera brasileira e possui um fruto com alto valor nutricional. Estudos demonstram que os extratos obtidos a partir das sementes são ricos em compostos bioativos. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antioxidante de diferentes extratos de semente de jabuticaba. Os extratos foram obtidos utilizando quatro solventes: água (AQ), etanol 70% (v/v) (EtOH), metanol (MetOH) e água:acetona (60:40 v/v) (AQAc). A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH•, $ABTS^{\bullet+}$, poder redutor, quelação do ferro, degradação da desoxirribose e TBARS. O extrato AQAc demonstrou melhor desempenho nos ensaios de DPPH• e $ABTS^{\bullet+}$. Todos os extratos apresentaram atividade antioxidante no método do poder redutor e quelação do ferro. Conclui-se que o extrato AQAc, que apresentou maior potencial antioxidante, pode ser submetido a maiores investigações acerca de seus efeitos *in vivo*.

Introdução

Dentre as árvores frutíferas típicas do Brasil, a jabuticabeira encontra-se distribuída por todo o território nacional. A jabuticaba é um fruto tropical com alto valor nutricional, utilizada na fabricação de geleias, xaropes, vinhos e como ingrediente na produção de cosméticos, além do seu consumo *in natura*, o que lhe confere um grande potencial econômico (PEREIRA et al., 2000). Na literatura é demonstrado que este fruto é rico em compostos bioativos incluindo os compostos fenólicos, os quais são naturalmente encontrados nos alimentos (KIM et al, 2003). Estes compostos são divididos em dois grupos: flavonoides e não flavonoides e exibem diversas propriedades biológicas, incluindo ação antioxidante, ou seja, retardam reações de degradação oxidativa (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).
Os compostos antioxidantes são de interesse na área da saúde, pois podem prevenir ou amenizar os efeitos ocasionados pelo estresse oxidativo (RAMALHO; JORGE, 2006). Além disso, os compostos antioxidantes são muito utilizados na indústria de alimentos, para evitar a deterioração de produtos, retardando reações oxidativas e escurecimento enzimático (SHAHIDI, 1996). Na literatura é demonstrado que os extratos obtidos a partir das sementes de jabuticaba são ricos em compostos fenólicos e que estes apresentaram atividade antioxidante comparável ao padrão ácido ascórbico (HACKE et al., 2016). No entanto, são necessários estudos que comprovem a ação antioxidante destes extratos por outros métodos *in vitro*. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi determinar as características antioxidantes de diferentes extratos das sementes de jabuticaba, e obter resultados que auxiliem na aplicabilidade deste resíduo nas indústrias.

Materiais e Métodos

Obtenção dos extratos

As sementes previamente secas e trituradas foram submetidas a extrações de acordo com Hacke e colaboradores (2016).

Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH•, $ABTS^{•+}$ e poder redutor

A avaliação da atividade antioxidante dos extratos foi avaliada utilizando os radicais DPPH• e $ABTS^{•+}$ e pelo método do poder redutor conforme descrito por Brand-Williams e colaboradores (1995), Pellegrini e colaboradores (1999) e Mathew e Abraham (2006), respectivamente.

Quelação do Ferro (II), inibição da degradação da desoxirribose e produção de TBARS em fosfolípideo

A capacidade de quelar o Fe(II) pelos extratos da semente de *M. cauliflora* foi determinada pelo método descrito por Puntel e colaboradores (2005). A atividade antioxidante do extrato aquoso foi avaliada pelo método de inibição da degradação da desoxirribose e produção de TBARS em fosfolípideo, conforme descrito por Puntel e colaboradores (2005) e Ohkawa (1979), respectivamente.

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

Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH• e pelo método $ABTS^{•+}$

A atividade antioxidante foi determinada a partir dos valores de CI_{50}, ou seja, a concentração necessária para inibir 50% dos radicais DPPH• e $ABTS^{•+}$. Na Tabela 1 estão apresentados os valores de CI_{50}.

Tabela 1 – Valores de CI_{50} para os extratos da semente de *M. cauliflora*

Amostra	DPPH• CI_{50} (µg mL^{-1})	$ABTS^{•+}$ CI_{50} (µg mL^{-1})
Ácido ascórbico	5,85±1,12[a]	1,45±0,07[a]
Extrato etanólico	58,72±1,91[d]	6,74±1,48[c]
Extrato metanólico	85,47±5,44[e]	14,60±1,05[e]
Extrato hidro-acetônico	21,15±0,48[b]	4,05±0,24[b]
Extrato aquoso	46,55±5,28[c]	9,44±0,36[d]

Nos ensaios de atividade antioxidante utilizando os radicais DPPH• e $ABTS^{•+}$, o extrato AQAc apresentou maior atividade antioxidante, ou seja, o valor de CI_{50} foi menor do que para os demais extratos. O extrato com metanol foi o que apresentou maior valor de CI_{50}, logo é o extrato menos eficiente nestes testes.

Inibição da degradação da desoxirribose, quelação de ferro e produção de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fosfolípidios

Na figura 1a, estão apresentadas as porcentagens de quelação do ferro em função da concentração dos extratos. Todos os extratos demonstraram atividade quelante do ferro, sendo o extrato AQAc o que apresentou maior porcentagem de quelação. Na avaliação da atividade antioxidante pelos métodos da degradação da desoxirribose e produção de TBARS em fosfolipídio, o extrato AQ foi o único a ser testado. O extrato AQ apresentou inibição da degradação da desoxirribose,

confirmando sua ação quelante demonstrada no teste de quelação do ferro. Pode-se observar, na Figura 1b, que quanto maior a concentração do extrato, maior foi a porcentagem de inibição da degradação da desoxirribose. No teste de produção de TBARS em fosfolipídeo, os resultados foram expressos em concentração de MDA, que é produto da reação de peroxidação lipídica, em função da concentração do extrato AQ. Na figura 1c, pode-se observar que, entre as concentrações testadas do extrato aquoso, houve inibição da peroxidação em todas elas.

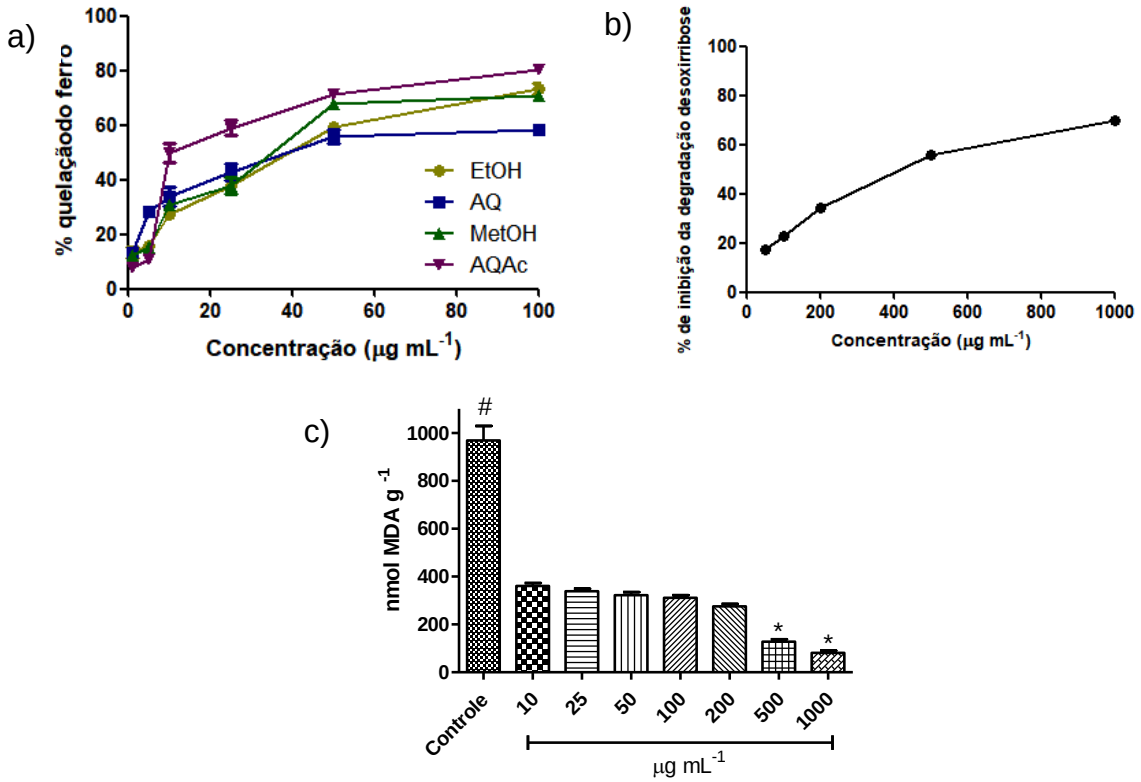


Figura 1: *a)* Porcentagem de quelação do ferro em função da concentração dos extratos *b)* Porcentagem de inibição da degradação da desoxirribose em função da concentração do extrato AQ de *M. cauliflora* e *c)* Efeito do extrato AQ de *M. cauliflora* na produção de TBARS.
Nota: AQ = extrato aquoso; EtOH = extrato etanólico 70%; MetOH = extrato metanólico; AQAc = extrato hidro-acetônico (60:40 w) e A.A = padrão ácido ascórbico

Avaliação do poder redutor

Pode ser observado na Figura 2 que todos os extratos demonstraram atividade antioxidante pelo método do poder redutor, sendo esta crescente com as concentrações dos extratos (0 - 500µg mL^{-1}).

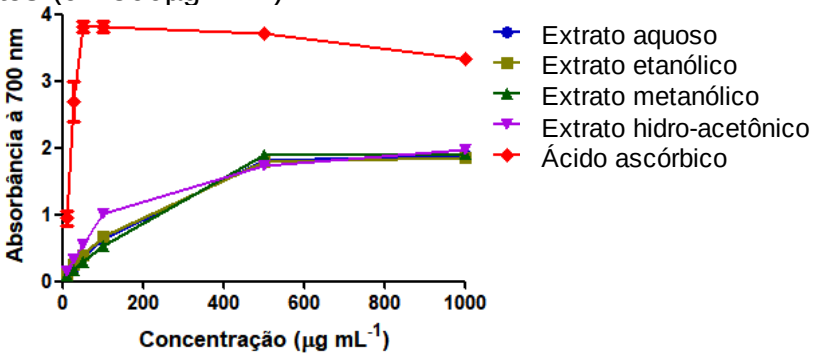


Figura 2: Poder redutor dos diferentes extratos de *M. cauliflora.* O Ácido Ascórbico (AA) foi utilizado como controle positivo.

Conclusões

Os extratos de sementes de *M. cauliflora* apresentaram atividade antioxidante com diferentes mecanismos de ação. O extrato AQAc apresentou a maior atividade antioxidante nos testes com os radicais DPPH• e $ABTS^{\bullet+}$ e melhor atividade quelante. O solvente utilizado influencia diretamente no desempenho dos extratos frente aos testes, devido a extração de compostos diferentes de acordo com suas polaridades. A partir dos resultados deste estudo, conclui-se que o extrato AQAc apresenta excelente potencial para maiores investigações acerca de seus efeitos *in vivo* e possíveis aplicações como fonte promissora de compostos antioxidantes.

Agradecimentos

Agradecimento a Fundação Araucária, a UEPG, ao Departamento de química e Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Referências

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie – Food Science and Technology**, London, v.28, n.1, p.25-30, 1995.

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.

MATHEW, S.; ABRAHAM, T. E. In vitro antioxidant activity and scavenging effects of Cinnamomum verum leaf extract assayed by different methodologies. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 2, p. 198-206, 2006.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 8, p. 95-351, 1979.

PELLEGRINI, N.; RE, R.; YANG, M.; EVANS, C. R. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6 sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 379-389, 1999.

PEREIRA, M. C. T., SALOMÃO, L. C. C., MOTA, W. D., VIEIRA, G. Atributos físicos e químicos de frutos de oito clones de jabuticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 22, p. 16-21, 2000.

PUNTEL, R. L.; NOGUEIRA, C. W.; ROCHA, J. B. T. Krebs cycle intermediates modulate thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in rat brain *in vitro.* **Neurochemical Research**, v. 30, p. 225-235, 2005.

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

SHAHIDI, F. **Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications**. The American Oil Chemists Society, 1997.