

1.06.01 – Química / Química Orgânica.

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E FENÓLICOS TOTAIS DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DA PLANTA *PLUCHEA QUITOC DC* (ASTERACEAE)

Mariana M. Alves^{1*}, Eduardo J. Coutinho¹, Aline F. N. V. Klein², Mariana M. Fuzinato³, Euclésio Simionatto⁴

1. Mestrado na Pós-graduação em Recursos Naturais da Universidade Estadual de Mato grosso do Sul (PGRN-UEMS)
2. Doutorado na Pós-graduação em Recursos Naturais da Universidade Estadual de Mato grosso do Sul (PGRN-UEMS)
3. Professora da UEMS – Engenharia de Alimentos/Co-orientadora
4. Professor do PGRN-UEMS – Departamento de Química/Orientador

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante e os compostos fenólicos do extrato hidroetanólico bruto obtido a partir da parte aérea da planta *P. quitoc*. O extrato hidroetanólico foi avaliado quanto as atividades antioxidantes por meio dos métodos DPPH e ABTS (expresso em IC50 e Trolox). A determinação do teor de compostos fenólicos foi executada conforme o método Folin-Ciocalteu. Pode-se observar que os resultados para o extrato foram satisfatórios, uma vez que para a atividade antioxidante a espécie vegetal apresentou um IC50 de 13,2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e 5,6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, e um TEAC de 1943,43 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ e 1024,8 $\mu\text{mol TEAC}\cdot\text{g}^{-1}$ para o extrato hidroetanólico. O extrato se destacou quanto ao teor de fenóis, apresentando 69,03 mg GAE /g de extrato. *Portanto*, conclui-se que os resultados obtidos neste estudo confirmam o potencial antioxidante do extrato de *P. quitoc*, podendo ser utilizado como provável fonte de compostos naturais para aplicações na indústria alimentícia.

Autorização legal: CGEN - A84757D

Palavras-chave: Quitoco; DPPH; Compostos fenólicos.

Apoio financeiro: CAPES.

Introdução

Antioxidantes sintéticos como o butil-hidroxil anisol (BHA), o butil-hidroxitolueno (BHT), a terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e o propil galato (PG) têm sido amplamente utilizados no retardamento dos processos oxidativos, devido a sua alta estabilidade e baixo custo. No entanto, a insegurança em relação ao uso de antioxidantes sintéticos aumentou globalmente. Seus efeitos sobre a saúde têm sido questionados, uma vez que o uso prolongado desses antioxidantes pode contribuir para o surgimento de doenças (BODOIRA et al., 2017). Muitas fontes de antioxidantes naturais são conhecidas e algumas são amplamente encontradas no reino vegetal. A capacidade antioxidante muitas vezes é atribuída aos compostos fenólicos, importantes no desenvolvimento das plantas e eficientes na prevenção da autoxidação (ANGELO; JORGE, 2007).

Pluchea quitoc DC, popularmente conhecida como quitoco, é recomendada para tratamentos de dores, distúrbios gástricos, dispepsias nervosas e histerismo. Atualmente, as informações científicas sobre as ações farmacológicas desta planta, relacionam-se principalmente à atividade anti-inflamatória, analgésica, carmiativa estomática, antioxidante e anti-tumoral (LORENZI; MATOS, 2002).

Considerando o potencial biológico, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante, e o teor de compostos fenólicos do extrato hidroetanólico bruto da espécie *P. Quitoc*, coletada na região Sul do Brasil (RS).

Metodologia

Obtenção do extrato

A planta *P. quitoc* coletada (no município de Ibarama-RS) foi seca à temperatura ambiente e triturada. O material foi transferido para um recipiente de vidro de boca larga. Após foi macerado em etanol/água (70/30) e filtrado 3 vezes, a cada 5 dias, até que os metabólitos secundários presentes nos tecidos fossem completamente extraídos. A evaporação foi realizada em rotavapor, fornecendo o extrato hidroetanólico bruto (EHB).

Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A atividade sequestradora de radicais livres para o EHB e para as frações semipurificadas e compostos puros foi determinada utilizando o método que emprega DPPH (CUENDET et al., 1997; BURITS; BUCAR, 2000), usando uma série de diluições. A 50 μL de várias concentrações dos extratos em metanol (1,25; 0,61; 0,32 e

0,156 mg.mL⁻¹) foram adicionados 5 mL de solução de DPPH (0,004% em metanol). Após um período de 30 min de incubação em temperatura ambiente, as absorbâncias das amostras foram registradas contra um branco em 517 nm.

Avaliação da atividade antioxidante pelo Método ABTS

A avaliação da atividade de eliminação radicais livres também foram determinada por ensaio de 2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS•+), onde foi avaliada porcentagem de inibição conforme metodologia descrita por Rufino et al., (2007). O radical ABTS•+ foi preparado a partir da reação de 140 mM de persulfato de potássio com 7 mM de ABTS, armazenado no escuro a temperatura ambiente, por 16 horas e, diluído em álcool etílico 95% até obtenção de 0,700 ± 0,050 nm em comprimento de onda 734 nm.

Para avaliação da porcentagem de inibição da atividade antioxidante, alíquotas de 30 µL das concentrações (1,25; 0,625; 0,312; 0,156 mg.mL⁻¹) de extratos foram transferidas para tubos de ensaio, adicionando 3,0 mL do radical ABTS•+. Após 6 minutos de reação, em ambiente escuro, à temperatura ambiente, as absorbâncias foram analisadas a 734 nm, utilizando etanol como branco e, como padrão a rutina e BHT.

Determinação do teor de fenóis totais

A determinação do teor de fenóis totais presentes nas amostras dos extratos foram realizadas por meio de espectroscopia na região do visível utilizando o método de Folin-Ciocalteu (BONOLI et al., 2004; SOUSA et al., 2007). Os extratos e frações foram dissolvidos em 5 mL de metanol. Uma alíquota de 100 µL desta solução foi transferida para balões de 5 mL. A esta solução adicionou 1 mL de água destilada e, posteriormente, 0,2 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Finalizando, adicionou 0,6 mL de uma solução 20% de Na₂CO₃ e completou o volume com metanol. Após 90 min, a absorbância das amostras foram medidas a 750 nm utilizando-se cubetas de quartzo. O teor de fenóis totais (FT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (50 a 500 µg/mL) e expressos como mg de EAG (equivalentes de ácido gálico) por mg de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Resultados e Discussão

Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH

Na Tabela 1 estão expostos os resultados de atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e ABTS, sendo possível notar que o extrato apresenta alta atividade. Na medida de IC₅₀ para o extrato, com o DPPH• serão necessários 13,2 µg.mL⁻¹ para a redução de 50% dos radicais livres. Já para o valor de ABTS•+, serão necessários 5,6 µg.mL⁻¹ do extrato para que aconteça a mesma redução do radical. O valores obtidos neste estudo, são próximos aos obtidos por Hubinger et al. (2010), analisando a planta *Dimorphandra mollis* Benth (extrato etanólico), onde o IC₅₀ foi de 3,5 µg.mL⁻¹ e 38 µg.mL⁻¹ frente aos radicais ABTS•+ e DPPH•, respectivamente.

Tabela 1 – Valores de concentrações das amostras testadas inibitórias em 50% (IC₅₀) frente ao ABTS•+, DPPH•

| Amostras | ABTS (µg.mL ⁻¹) | DPPH (µg.mL ⁻¹) |
|------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>P. Quitoc</i> | 5,6 | 13,2 |
| Rutina* | 16,0 | 9,2 |
| BHT* | 4,2 | 9,6 |

Dados expressos como média do ensaio em triplicata; IC₅₀= Concentração que reduz em 50% o radical DPPH e ABTS. * Controles positivos.

Avaliação da atividade antioxidante pelo Método ABTS

Para a determinação da avaliação da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre pelo método ABTS•+ e DPPH• foram expressos como capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox (valores TEAC) (Tabela 2).

Tabela 2 – Valor de TEAC (Capacidade antioxidante total equivalente ao TROLOX) pelos métodos ABTS•+ e DPPH•.

| Amostras (µmol.g ⁻¹) | ABTS | DPPH |
|----------------------------------|---------|---------|
| <i>P. Quitoc</i> | 1943,43 | 1024,8 |
| Rutina* | 966,4 | 2588,61 |
| BHT* | 2531,62 | 2981,09 |

Dados expressos como media do ensaio em triplicata; * Controles positivos.

O BHT apresentou maior eficiência em comparação com o extrato analisado. O resultado encontrado para o extrato de *P. Quitoc* foi de 1943,43 $\mu\text{mol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$ para o ABTS•+ e 1024,8 $\mu\text{mol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$ para DPPH• que representam um alto valor bioativo, através deste podemos afirmar que a capacidade antioxidante do extrato é satisfatória. Os resultados de Rockenbach et al. (2007) apresentaram valores médios de 357 $\mu\text{mol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$ pelo método ABTS e 439 $\mu\text{mol TEAC} \cdot \text{g}^{-1}$ pelo método DPPH para o extrato de *Vitis vinifera* (variedade Pinot noir), muito inferior ao obtido neste trabalho com a espécie *P. quitoc*.

Determinação do teor de fenóis totais

A quantidade de compostos fenólicos por grama de extrato foi de 69,03 mg GAE (equivalente em ácido gálico) /g de *P. Quitoc*. Esses resultados foram possíveis pela equação de reta da curva padrão de ácido gálico ($R^2= 0,999$) (Figura 1).

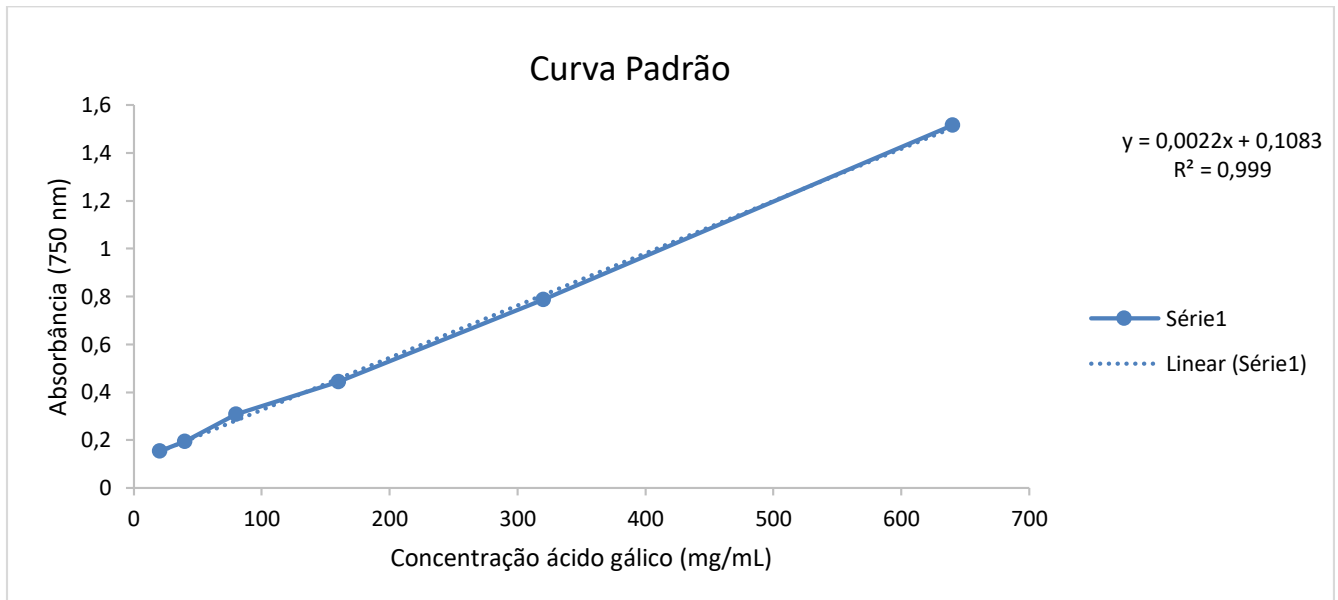


Figura 1 - Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos. Fonte: Autoria própria

Os resultados encontrados neste estudo são superiores aos obtidos com espécies já descritas como ricas em compostos fenólicos tais como *Rosmarinus officinalis* e *Hibiscus rosa-sinensis*, que apresentaram teores de fenóis de 23,34 mg de EAG/g e de 64,18 mg de EAG/g, respectivamente (SARI, 2016; HIROMOTO, 2018), o que demonstra o potencial desta espécie como fonte de antioxidante.

Conclusões

Os resultados permitem considerar que a atividade antioxidante da planta *Pluchea Quitoc* DC está diretamente ligada aos seus constituintes químicos, principalmente, aos compostos fenólicos encontrados na mesma, pois os teores determinados destas substâncias foram consideravelmente altos. Deste modo, pode-se concluir que os resultados do extrato são bons, confirmando as atividades antioxidantes, visto que se trata de um extrato vegetal, no qual o poder antioxidante é, normalmente, menor do que um antioxidante artificial. Desta forma, a utilização deste extrato pode ser uma alternativa importante para aumentar a estabilidade oxidativa de produtos e induzir o consumo de fitonutrientes, como os compostos fenólicos naturais.

Referências bibliográficas

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.66, p.232-240, 2007.

BONOLI, M. et al. Antioxidant phenols in barley (*Hordeum vulgare* L.) flour: comparative spectrophotometric study among extraction methods of free and bound phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.52, n.16, p.5195-5200, 2004.

BURITS, M.; BUCAR, F. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. **Phytotherapy research**, v.14, n.5, p.323-328, 2000.

BODOIRA, R. M.; et al. Chia (*Salvia hispânica* L.) oil stability: Study of the effect of natural antioxidants. **LWT – Food Science and Technology**. v.75, p.107-113, 2017.

- CUENDET, M. et al. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. **Helvetica Chimica Acta**, v.80, n.4, p.1144-1152, 1997.
- HIROMOTO, P. J. **Extrato de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como antioxidante natural aplicado em óleo de soja**. 2018. 31 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos - Ibilce, Universidade Estadual Paulista (unesp), São José do Rio Preto, 2018.
- HUBINGER, S. Z. et al. *Dimorphandra mollis*: uma alternativa como fonte de flavonóides de ação antioxidante. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.29, n.2, p.271-4, 2010.
- LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, São Paulo, 2002.
- ROCKENBACH, I. I. et al. **Atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva das variedades Regente e Pinot Noir (*Vitis vinifera*)**. Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.). v.66, n.2, p.158-163, 2007.
- RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS•+. **Comunicado Técnico 128**. Embrapa, Fortaleza, 2007.
- SARI, R. **Otimização da extração de compostos fenólicos e avaliação do potencial antioxidante e antibacteriano das folhas de (*Tabernaemontana catharinensis*)**. 2016. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2016.
- SOUSA, C. M. de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v.30, n.2, p.351-355, 2007.