

ESTUDO *IN VITRO* DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E REDUTOR DE PITANGA LIOFILIZADA

INGRID RODRIGUES¹; VANESSA KOCH JESKE¹; LUCIELLI SAVEGNAGO², FRANCINE
NOVACK VICTORIA³

¹Universidade Federal de Pelotas – Graduanda em Química Industrial – Grupo de Pesquisa em
Neurobiotecnologia (GPN) - ingrid.rodrigues06@hotmail.com

¹Universidade Federal de Pelotas – Graduanda em Química Industrial – Grupo de Pesquisa em
Neurobiotecnologia (GPN) - vanessasjk33@gmail.com

²Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTec) - Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia

³Universidade Federal de Pelotas – Professora de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) –
Grupo de Pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN) - francinevictoria@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

No corpo humano são produzidas fisiologicamente espécies reativas de oxigênio (ROs) que através de interações oxidativas podem causar danos às biomoléculas, como o DNA, lipídeos e proteínas (GULÇIN et al., 2005, 2006). Contudo, o organismo possui defesas antioxidantes, endógenas e exógenas, que são capazes de amenizar os danos causados. Portanto, é necessário que haja um equilíbrio entre as espécies reativas e as defesas antioxidantes, evitando o estresse oxidativo, o qual pode estar relacionado com uma série de doenças neurodegenerativas (BAKKALI et al., 2008), como por exemplo, Parkinson e Alzheimer.

Atualmente diversas pesquisas envolvendo extração, utilização e caracterização de novos antioxidantes naturais estão sendo realizadas (OZEN et al., 2011). Neste sentido, o nosso grupo de pesquisa estuda o potencial antioxidante de espécies nativas do sul do Rio Grande do Sul, como a pitangueira.

A Pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), que pertence a família *Myrtaceae*, é uma planta nativa do sul do Brasil e conhecida na medicina popular por suas propriedades anti-inflamatórias, antirreumática, entre outras (WEYERSTAHL et al., 1988). Já foi constatado que suas folhas apresentam propriedades terapêuticas e seu fruto vem sendo estudado por apresentar alto conteúdo de fitoquímicos com atividade biológica, que podem trazer benefícios a saúde (LIMA et al., 2002). Na pitanga estão presentes, por exemplo, compostos fenólicos, carotenoides e antocianinas.

Em alguns estudos anteriores, nós demonstramos o potencial antioxidante e antifúngico do óleo essencial das folhas de pitanga (VICTORIA et al., 2012) Como os resultados foram promissores, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante e redutor de duas variedades de frutos de pitanga liofilizados: roxa e vermelha.

2. METODOLOGIA

2.1 – Amostras

As amostras de pitanga preta e vermelha foram coletadas na Embrapa Clima Temperado, localizada na cidade de Pelotas-RS, no período de fevereiro e março de 2012. Após a coleta, as amostras foram limpas, despulpadas manualmente e liofilizadas. Para a realização dos ensaios antioxidantes, as amostras foram diluídas em água destilada em diferentes concentrações (10 - 500 µg/mL).

2.1 – Atividade sequestrante do radical DPPH

A atividade sequestrante de radicais DPPH foi determinada de acordo com método proposto por SHARMA (2009). Esse método é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 517 nm.

2.2 – Atividade sequestrante do radical ABTS

A atividade sequestrante do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foi determinada de acordo com RE et al. (1999). A determinação da atividade antioxidante através da captura do radical ABTS envolve um mecanismo de transferência de elétrons e pode ser quantificada pelo decréscimo da absorvância da solução a 734 nm.

2.3 – Potencial redutor do íon férrico (FRAP)

O poder redutor do íon férrico está relacionado com a capacidade de um composto doar elétrons, mecanismo de ação que está relacionado com a capacidade antioxidante de muitos compostos naturais. O FRAP foi determinado de acordo com o método proposto por STRATIL (2006), com algumas modificações. Neste ensaio um aumento da absorvância a 593 nm é diretamente proporcional ao potencial redutor do composto testado.

2.4 – Capacidade sequestrante do radical hidroxil

O radical hidroxil é uma das espécies reativas de oxigênio que danifica severamente macromoléculas no organismo, como os lipídeos, proteínas e DNA. A atividade sequestrante do radical hidroxil foi determinada de acordo com o método descrito por SMIRNOFF (1989) com algumas modificações. A neutralização do radical OH é determinada pela redução da absorvância da solução no comprimento de onda de 510 nm.

2.5 – Inibição da oxidação do ácido linoleico induzida por nitroprussiato de sódio (NPS)

O processo de peroxidação lipídica envolve uma série de reações em cadeia, as quais estão associadas à danos biológicos. O malondialdeído (MDA) é um dos produtos finais da peroxidação lipídica, o qual pode ser quantificado espectrofotometricamente a 532nm. Neste trabalho, o efeito dos frutos na peroxidação lipídica foi estudado pelo método de oxidação do ácido linoléico induzida por nitroprussiato de sódio (NPS), de acordo com o método proposto por Choi et al. (2002), com algumas modificações.

2.6 – Análise estatística

Os ensaios foram realizados no mínimo três vezes em duplicata e os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido pelo teste de comparação múltipla de Tukey, quando necessário. Os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas variedades de pitanga utilizadas no estudo: vermelha e roxa, apresentaram resultados significativos nos ensaios antioxidantes realizados, como pode ser observado na sequência do trabalho.

Ambas variedades de pitanga foram capazes de neutralizar os radicais ABTS a partir da concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ (Fig.1A e 1B). A pitanga roxa apresentou uma inibição máxima (I_{max}) de $97,17 \pm 2,36$ % e um valor de IC_{50} (concentração que inibe 50% dos radicais livres) de $68,33 \pm 7,64$ $\mu\text{g/mL}$, enquanto que, a pitanga vermelha apresentou um valor de I_{max} de $97,0 \pm 1,73$ % e um IC_{50} de $223,33 \pm 10,41$ $\mu\text{g/mL}$. Através desses dados, pode-se inferir que o fruto de coloração roxa foi mais eficiente e potente do que fruto vermelho em inibir a oxidação dos radicais livres, que nesse ensaio, ocorre através da transferência de elétrons.

No ensaio DPPH, baseado na transferência de prótons e elétrons, as amostras apresentaram efeito a partir da concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ (Fig. 2A e

2B). O fruto de coloração roxa apresentou um valor de I_{max} de $88,0 \pm 2,94\%$ e um valor de IC_{50} de $222,5 \pm 19,84 \mu\text{g/mL}$, enquanto que o fruto vermelho apresentou I_{max} de $61,0 \pm 3,92\%$ e um IC_{50} de $406,88 \pm 21,05 \mu\text{g/mL}$, dados que caracterizam sua menor eficiência e potencia em relação a espécie roxa.

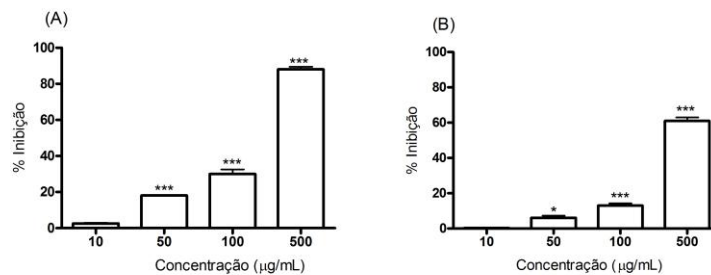


Figura 2: Efeito da pitanga roxa (A) e pitanga vermelha (B) na neutralização do radical DPPH. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. Estes foram analisados por ANOVA de uma via, seguida do teste de comparação múltipla Tukey. (*) $p < 0,05$ e (***) $p < 0,001$.

A partir dos resultados obtidos na neutralização de radicais livres sintéticos, avaliou-se a capacidade redutora das variedades de pitanga. A pitanga roxa (Fig. 3A) apresentou potencial redutor a partir da concentração de $50 \mu\text{g/mL}$, enquanto que na pitanga vermelha, (Fig. 3B) o potencial redutor foi observado somente para a concentração de $500 \mu\text{g/mL}$. De acordo com vários autores o potencial redutor do íon férrico de compostos naturais está relacionado com o potencial antioxidante. Este método está baseado na transferência de elétrons, o que corrobora com os resultados anteriores e auxilia no estudo do mecanismo antioxidante da pitanga.

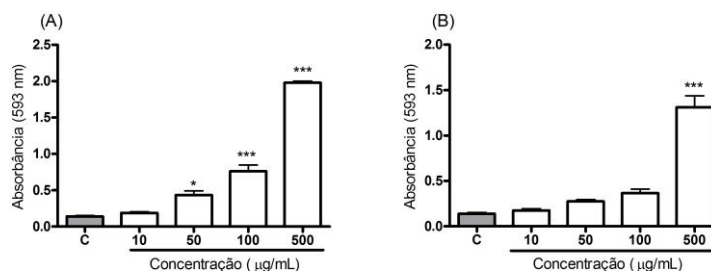


Figura 3: Efeito da pitanga roxa (A) e pitanga vermelha (B) no ensaio FRAP. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. Estes foram analisados por ANOVA de uma via, seguida do teste de comparação múltipla de Tukey. (*) $p < 0,05$, e (***) $p < 0,001$.

Outro ensaio importante no estudo da capacidade antioxidante de novos compostos é a capacidade neutralizadora do radical hidroxil. Neste ensaio, as duas espécies do fruto apresentaram efeito a partir da concentração de $250 \mu\text{g/mL}$ (Fig.4A e 4B).

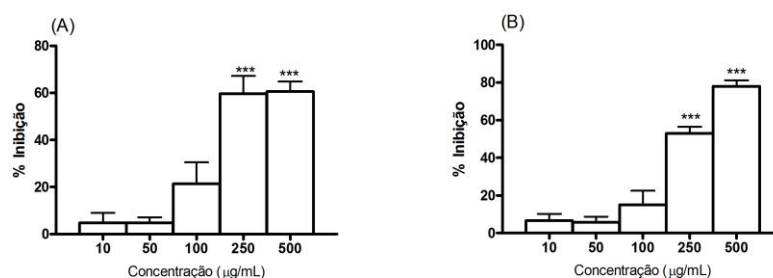


Figura 4: Efeito da pitanga roxa (A) e pitanga vermelha (B) no ensaio de neutralização do radical hidroxil. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. Estes foram analisados por ANOVA de uma via, seguida do teste de comparação múltipla de Tukey. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (***) $p < 0,001$.

Com o objetivo de estender, os estudos sobre a atividade antioxidante dos frutos de pitanga, avaliou-se a capacidade destas variedades na inibição da oxidação do ácido linoleico induzida por NPS. O nitroprussiato de sódio na presença de luz promove a liberação de radical óxido nítrico (NO) através de um processo de fotodegradação.

A pitanga roxa (Fig. 5A) foi capaz de inibir a oxidação do ácido linoleico a partir da concentração de 50 µg/mL e apresentou um valor de (I_{max}) de $52,07 \pm 5,10\%$ e IC_{50} de $480 \pm 20,06$ µg/mL, enquanto que, a pitanga vermelha apresentou um valor de I_{max} de $42,80 \pm 10,54$ e foi capaz de reduzir os níveis de peroxidação nas concentrações de 50 µg/mL e 100 µg/mL, quando comparadas ao induzido.

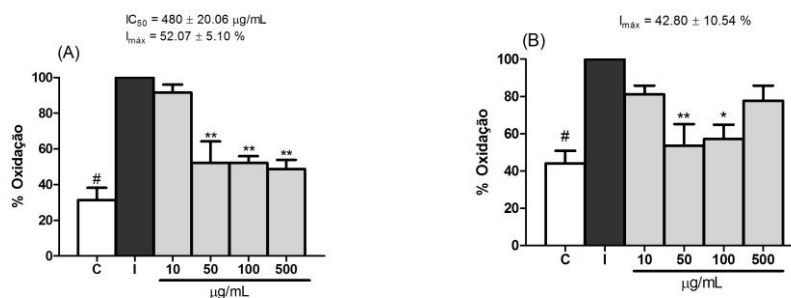


Figura 5: Efeito da pitanga roxa (A) e pitanga vermelha (B) na oxidação do ácido linoleico induzida por NPS. Os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão. Estes foram analisados por ANOVA de uma via, seguida do teste de comparação múltipla de Tukey. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ quando comparados ao induzido e # ($p < 0,01$) quando comparado ao controle.

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos é possível observar que a pitanga roxa foi mais potente e eficiente, nos ensaios realizados, quando comparado à pitanga vermelha. Estes dados permitem inferir que há diferença na concentração de fitoquímicos das duas espécies.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKKALI, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. Biological effects of 287 essential oils: a review. **Food Chem. Toxicol.** 46, 446–475, 2008.
- GULCIN, I. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. **Int. J. Food Sci. Nutr.** 56, 491–499, 2005.
- GULCIN, I., Berashvili, D., Gepdiremen, A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. **J. Ethnopharmacol.** 101, 287–293, 2005.
- LIMA, V. L. A. G., MÉLO, E. A., LIMA, D.E.S. Fenólicos e Carotenóides Totais em pitanga. **Scientia agrícola**, 59, 447-450, 2002.
- OZEN, T., Demirtas, I., Aksit, H. Determination of antioxidant activities of various extracts and essential oil compositions of *Thymus praecox* subsp. *skorpilii* var. *skorpilii*. **Food Chem.** 124, 58–64, 2011.
- VICTORIA, F. N, Lenardão, E. J., Savegnago, L., Perin, G., Jacob, R. G., Alves, D., Silva, W. P., Motta, A. S., Nascente, P. S., Essential oil of the leaves of *Eugenia Uniflora L*: antioxidant and antimicrobial properties. **Food Chem. Tox.** 50, 2668-2674, 2012.
- WEYERSTAHL, P., Marschall-Weyerstahl, H., Christiansen, C., Oguntimein, O., Adeoye, A.O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil. **Planta Med.** 54, 546–549, 1988.