

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DUAS CULTIVARES DE AMORA-PRETA (*Rubus* spp.)

JOÃO PEDRO BLANK¹; MARJANA RADÜNZ²; TAIANE MOTA CAMARGO²;
MÁRCIA VIZZOTTO²; ELESSANDRA DA ROSA ZAVAREZE²; ALVARO RENATO
GUERRA DIAS³

¹Universidade Federal de Pelotas– blank.pedro94@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– marjanaradunz@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– taianemcamargo@gmail.com

²EMBRAPA Clima Temperado– marcia.vizzotto@embrapa.br

²Universidade Federal de Pelotas– elessandrad@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas– alvaro.guerradias@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A Amora-Preta (*Rubus* spp) pertence à família *Rosaceae*, sendo uma fruta produzida nas regiões Sul e Sudeste do país, locais aos quais são melhor adaptadas às cultivares (MARTINS., 2015). Sua composição química varia de acordo com a cultivar, condições de crescimento, estágio de maturação e condições de colheita e pós-colheita, entretanto são ricas em polifenóis, tais como antocianinas e compostos fenólicos (KAUME et al., 2011).

Com uma ampla diversificação no consumo, a amora-preta podem ser consumida *in natura*, e na forma de geleias, sucos e sorvetes (JACQUES; ZAMBIAZI 2011). Quanto a seus efeitos biológicos, tendo em vista o alto teor de antocianinas, estudos relatam a capacidade destes compostos de inibir a produção de espécies reativas de oxigênio, minimizando o processo de estresse oxidativo, que pode causar diversas doenças degenerativas e acelerar o processo de envelhecimento (MANDAVE et al., 2017; FERREIRA et al., 2010).

Baseado no exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antioxidante das cultivares de amora preta Tupy e Xingú frente aos radicais livres 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, hidroxila e óxido nítrico.

2. METODOLOGIA

2.1 AQUISIÇÃO DAS AMOSTRAS E PREPARO DOS EXTRATOS

As amostras de amora preta das cultivares Tupy e Xingu foram obtidas do campo experimental da Embrapa Clima Temperado, RS, Brasil no ciclo produtivo de 2017. Após a coleta, as frutas foram higienizadas em água corrente e congeladas a – 20°C. Posteriormente, para o preparo dos extratos, as amostras foram liofilizadas e moídas em moinho de bolas. Em seguida, foi adicionada a amostra liofilizada uma solução de etanol 98% procedendo-se a homogeneização com auxílio de um ultraturrax seguindo de filtração em filtros de papel. Ao final, obteve-se extratos com concentrações de 500 mg/mL de fruta liofilizada em solução de etanol .

2.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi determinada pelo método de Vinholes et al. (2011) adaptado do método de Brand-Williams et al. (1995). Para isto, 25 µL de cada amostra foram adicionados a uma microplaca de 96 poços, bem como 250 µL de solução de DPPH 0,6 mM. As placas foram incubadas no escuro por 30 min e posteriormente analisadas em espectrofotômetro de microplacas (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA), no comprimento de onda de 515 nm.

A capacidade de inibição do radical hidroxila foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Vinholes et al. (2011), com adaptações. Para este propósito, foram adicionados em microplacas de 96 poços, 25 µL de cada amostra, 110 µL de solução de FeSO₄.7H₂O (8 mM), 50 µL de solução de H₂O₂ (7,18 mM) e 74,2 µL de solução de ácido salicílico (3 mM). As placas foram agitadas manualmente e incubadas por 30 min a 37°C dentro de um espectrofotômetro (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA). Posteriormente, a leitura foi feita no comprimento de onda de 515 nm.

A capacidade dos extratos de sequestrarem o radical óxido nítrico foi determinada de acordo com o procedimento descrito por Vinholes et al. (2011). Usando uma placa de 96 poços, 50 µL de nitroprussiato de sódio (SNP, 20 mM) foram adicionados a 50 µL da amostra. A mistura foi incubada a 22 °C sob luz durante 60 min. Em seguida, foram adicionados 50 µL de solução de ácido fosfórico a 2% e 50 µL de reagente de Griess. A microplaca foi incubada por 10 min a 22 °C no abrigo da luz, e então lida em um espectrofotômetro de microplaca (SpectraMax 190, Molecular Devices, EUA), em um comprimento de onda de 562 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O valor de IC₅₀ é definido como a capacidade do agente antioxidante de sequestrar 50% dos radicais livres (DPPH, hidroxila e óxido nítrico) presentes na solução, portanto quanto menor o valor de IC₅₀, maior a atividade antioxidante do extrato. Neste sentido a cultivar Xingú foi mais eficaz frente aos radicais DPPH e óxido nítrico (Tabela 1), por sua vez a cultivar Tupy foi mais eficaz frente ao radical hidroxila.

O estudo realizado demonstrou que a cultivar Xingú comparada a cultivar Tupy apresentou maior inibição para o radical DPPH, na literatura não foi encontrado dados sobre a cultivar Xingú, por sua vez para cultivar Tupy o resultado é menor ou semelhante ao encontrado por outros autores, que em suas pesquisas obtiveram percentuais em diferentes concentrações (CELANT et al., 2016, FERREIRA et al., 2010).

Tabela 1. Atividade antioxidante (IC₅₀) das cultivares de amora preta (Tupy e Xingú) frente aos radicais 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, hidroxila e óxido nítrico

Cultivar	Inibição (IC ₅₀)		
	DPPH* (mg/mL)	Hidroxila (mg/mL)/	Óxido nítrico (mg/mL)
Tupy	199,6	60,5	66,9
Xingú	120,3	145,6	15,0

*DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

Para o radical hidroxila, a cultivar Tupy mostrou-se bem mais eficaz do que a Xingú. Enquanto a cultivar Xingú, foi mais efetiva frente ao radical óxido nítrico. Não foram encontrados estudos que avaliaram a inibição destes radicais pela ação de extratos de amora-preta das cultivares Tupy e Xingú, entretanto estes resultados são importantes, pois o radical hidroxila é a espécie reativa de oxigênio mais produzida no organismo humano, responsável pelo processo de lipoperoxidação celular, causando apoptose celular e diversos danos biológicos, enquanto o radical óxido nítrico está relacionado com os processos inflamatórios, em situações normais este radical exerce diversas funções no organismo humano, tais como vasodilatação, neurotransmissão, plasticidade sináptica e memória no sistema nervoso central, no entanto, em condições patológicas, há uma superprodução do radical, que pode mediar efeitos tóxicos, como fragmentação de DNA e dano celular, levando a apoptose neuronal (SUMANONT et al., 2004; HAZRA et al., 2010).

4. CONCLUSÕES

Os extratos de amora-preta das cultivares Tupy e Xingú mostraram-se efetivos na inibição das espécies reativas de oxigênio, destacando os resultados frente aos radicais hidroxila e óxido nítrico, podendo ser aliados no combate de diversas doenças crônicas não transmissíveis após a realização de ensaios *in vivo*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CELANT V.M.; BRAGA G.C, VORPAGEL J.A, SALIBE A.B. COMPOSIÇÃO FENÓLICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS AQUOSO E ETANÓLICO DE AMORA-PRETA. **Revista Brasileira de Fruticultura**, brasil, 2016
FERREIRA, D.S.; ROSSO V.V, MERCADANTE A.Z. Bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* spp.) grown in Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, brasil, 2010.

HAZRA, B.; SARKAR, R.; BISWAS, S.; MANDAL, N. Comparative study of the antioxidant and reactive oxygen species scavenging properties in the extracts of the fruits of Terminalia chebula, Terminalia bellerica and Emblica officinalis. **BMC Complementary and alternative medicine**, v. 10, n. 1, p. 20, 2010.

JACQUES, A.C.; ZAMBIAZI R.C. Fitoquímicos em amora-preta (Rubus spp). **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 32, n. 1, p. 245-260, Brasil . 2011.

KAUME, L.; HOWARD, L.R.; DEVAREDDY, L. The Blackberry Fruit: A Review on Its Composition and Chemistry, Metabolism and Bioavailability, and Health Benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 23, p. 5716– 5727, 2011.

MANDAVE, P.; KHADKE, S.; KARANDIKAR, M.; PANDIT, V.; RANJEKAR, P.; KUVALEKAR, A.; MANTRI, N. Antidiabetic, Lipid Normalizing, and Nephroprotective Actions of the Strawberry: A Potent Supplementary Fruit. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 124, 2017.

MARTINS, W.A. **FENOLOGIA, EXIGÊNCIA TÉRMICA, PRODUÇÃO, CUSTOS E RENTABILIDADE DA AMORA-PRETA CV. “Tupy”**. 2015. 113f. Tese (Doutorado Agronomia) - Produção vegetal, Universidade Federal da Grande Dourados.

SUMANONT, Y.; MURAKAMI, Y.; TOHDA, M.; VAJRAGUPTA, O.; MATSUMOTO, K.; WATANABE, H. Evaluation of the nitric oxide radical scavenging activity of manganese complexes of curcumin and its derivative. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 2, p. 170-173, 2004.
v. 129, n. 2, p. 454–462, 2011.

VINHOLES, J.; GROSSO, C.; ANDRADE, P.B.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; PINHO, P.G.D.; FERRERES, F. In vitro studies to assess the antidiabetic, anticholinesterase and antioxidant potential of Spargularia rubra. **Food Chemistry**,