

INFLUÊNCIA DOS SOLVENTES METANOL E ÁGUA, TEMPERATURA E TEMPO DE EXTRAÇÃO NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E TEOR FENÓLICO DE *BUTIA ODORATA*

NATALIA GONÇALVES TAVARES¹; JANAINA GONÇALVES TAVARES²;
HÂNDRYA ROLDÂN CORRÊA AVILA³; MARIANE IGANSI ALVES⁴; FABÍOLA
INSAURRIAGA AQUINO⁵; ANGELITA DA SILVEIRA MOREIRA⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas. 1 – natalia10.g.tavares@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– jana.g.tavares@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas– avilahandrya@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – marianeigansialves@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – fabiolaaquino@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – angelitadasilveiramoreira@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Frutos do butiazeiro *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick), nativo do Sul do Brasil, apresentam elevado teor de compostos fenólicos e vitamina C, com reconhecida atividade antioxidante (ROCKETT, *et al.*, 2020; WAGNER *et al.*, 2022). A eficiência de extração desses compostos depende do tipo de solvente, temperatura e tempo, sendo que solventes polares favorecem compostos hidrossolúveis e temperaturas elevadas aumentam a difusão, especialmente de ácidos fenólicos, enquanto temperaturas mais baixas preservam flavonoides (BILTWELL *et al.*, 2023).

A atividade antioxidante pode ser avaliada por métodos como da neutralização do radical do Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS•) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), que diferem na sensibilidade e no tipo de compostos detectados: DPPH é mais sensível a antioxidantes solúveis em solventes orgânicos, enquanto ABTS atua em sistemas aquosos e orgânicos (RUMPF *et al.*, 2023).

Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar a concentração dos compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, pelos métodos ABTS• e DPPH• em extratos metanólicos e aquosos de butiá obtidos em diferentes condições de temperatura e tempo, visando identificar as combinações mais eficientes de extração.

2. METODOLOGIA

2.1. Obtenção e preparo dos frutos:

Frutos maduros de butiá (*Butia odorata*) foram obtidos na Embrapa – Estação Experimental Terras Baixas (Pelotas, RS). Após a coleta, os frutos foram lavados em água corrente e submetidos à sanitização em solução de hipoclorito de sódio (10 ppm) por 15 min. Em seguida, a polpa foi separada manualmente, descartando-se os caroços, e armazenada em freezer até o preparo dos extratos. A extração foi realizada na proporção de 2:1 (m/v), utilizando como solventes água destilada e metanol (p.a.). Para o preparo, as misturas foram homogeneizadas em béqueres com auxílio de mixer e mantidas tampadas durante o processo. As extrações foram conduzidas em diferentes condições de tempo e temperatura, sendo realizadas a 25 °C e 80 °C, por 5, 10 e 15 min, com agitação manual intermitente no caso do aquecimento. Após os respectivos tempos, os extratos foram filtrados em papel-filtro acondicionados em frascos âmbar devidamente identificados e armazenados em ultrafreezer (–80 °C) até o momento das análises.

2.2. Determinação da atividade antioxidante e compostos bioativos:

A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos ABTS• (RUFINO *et al.*, 2007) e DPPH• (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995), expressando-se os resultados em microgramas equivalentes de Trolox por grama de amostra ($\mu\text{g TE/g}$). O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON E ROSSI, 1965), sendo os resultados expressos em miligramas equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra (mg EAG/100 g).

2.3. Análise estatística:

Os resultados foram expressos em média e desvio padrão. O teste de comparação de médias foi realizado através do teste de *Tukey*, observando o nível de significância de 5% utilizando o *Software Statistica 10.0®*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio ABTS•, o extrato aquoso a 80 °C por 15 min apresentou a maior atividade antioxidante (44,73 $\mu\text{g TE/g}$), seguido pelo extrato metanólico a 80 °C por 10 min (40,78 $\mu\text{g TE/g}$). Esses resultados indicam que a elevação da temperatura favorece significativamente a extração de compostos antioxidantes, especialmente em meio aquoso (BILTWELL *et al.*, 2023). Resultados semelhantes foram observados por SGANZERLA (2018), que avaliou extratos da polpa de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.) obtidos com solventes aquosos, etanólicos e hidroalcoólicos sendo que o extrato aquoso apresentou atividade antioxidante de 27,00 $\mu\text{g TE/g}$. Embora o valor obtido para a uvaia seja inferior ao do butiá, a comparação confirma que o uso de água como solvente é eficaz na extração de compostos antioxidantes, reforçando o potencial do butiá como fonte de bioativos com alta capacidade de neutralização do radical ABTS•.

Tabela 1. Atividade antioxidante de extratos de butiá obtidos por diferentes tratamentos, determinada pelo método ABTS• ($\mu\text{g TE/g}$)

Análise	Tratamentos	Metanol	Água
ABTS ($\mu\text{g TE/g}$)	25°C 5 min	32,79 ^{Ca} \pm 0,92	24,02 ^{Db} \pm 0,90
	25°C 10 min	32,81 ^{Ca} \pm 0,87	26,37 ^{CDb} \pm 1,03
	25°C 15 min	35,54 ^{Ba} \pm 1,18	24,08 ^{Db} \pm 0,58
	80°C 5 min	37,64 ^{Ba} \pm 0,75	27,59 ^{Cb} \pm 0,91
	80°C 10 min	40,78 ^{Aa} \pm 0,29	38,48 ^{Ba} \pm 1,46
	80°C 15 min	36,06 ^{Bb} \pm 0,12	44,73 ^{Aa} \pm 0,41

Legenda: Médias (n=3) seguidas de mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de *Tukey* a nível de 5% de significância. Letras maiúsculas comparam linhas e minúsculas colunas.

No presente estudo, o extrato aquoso à temperatura ambiente por 15 minutos apresentou a maior atividade antioxidante para o ensaio de DPPH• (488,73 $\mu\text{g TE/g}$), conforme mostrado na Tabela 2, sendo significativamente superior aos demais tratamentos ($p < 0,05$). Esse valor está próximo ao intervalo observado por VINHOLES *et al.* (2017), que relataram atividades entre 160,4 e 610,9 $\mu\text{g TE/g}$ em extratos metanólicos de *Butia odorata*. Por outro lado, GOETTEN *et al.* (2022) verificaram uma faixa mais ampla e elevada, entre 785,05 e 3459,82 $\mu\text{g Trolox/g}$,

também em extratos metanólicos. A discrepância entre os estudos pode estar relacionada principalmente ao tipo de solvente empregado, visto que o DPPH• é mais sensível a antioxidantes solúveis em solventes orgânicos. Ainda assim, nossos resultados demonstram que, mesmo utilizando extrato aquoso, obteve-se elevada capacidade antioxidante. Resultados semelhantes também foram descritos por SGANZERLA (2018), que, ao avaliar extratos aquosos da polpa de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess.), encontrou atividade antioxidante de 249 µg TE/g, valor inferior ao observado no presente estudo.

Tabela 2. Atividade antioxidante de extratos de butiá obtidos por diferentes tratamentos, determinada pelo método DPPH• (µg TE/g)

Análise	Tratamento	Metanol	Água
DPPH (µg TE/g)	25°C 5 min	364,47 ^{Ca} ± 1,53	366,57 ^{DEa} ± 2,86
	25°C 10 min	366,83 ^{Ca} ± 5,08	360,91 ^{Ea} ± 1,46
	25°C 15 min	370,89 ^{ABa} ± 0,40	488,73 ^{Ab} ± 1,70
	80°C 5 min	374,14 ^{Aa} ± 0,47	472,28 ^{Bb} ± 1,70
	80°C 10 min	373,79 ^{Aa} ± 0,24	463,25 ^{Cb} ± 4,97
	80°C 15 min	373,34 ^{Aa} ± 0,47	371,42 ^{Da} ± 1,79

Legenda: Médias (n=3) seguidas de mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância. Letras maiúsculas comparam linhas e minúsculas as colunas.

Em relação à determinação dos compostos fenólicos, o extrato aquoso a 80 °C por 15 min apresentou o maior teor de fenólicos (113,8 mg EAG/100 g), como observado na Tabela 3, sendo significativamente superior aos demais tratamentos ($p < 0,05$). Esses achados indicam que temperaturas elevadas favorecem a extração de compostos fenólicos em ambos os solventes. No estudo de HUFMANN et al. (2017) relataram que a polpa pasteurizada de Butiá apresentou teor de compostos fenólicos totais de 1192,3 mg EAG/100 g. Nesse estudo, a polpa foi preparada com água em determinada proporção, aquecida a 100 °C por 15 min, resfriada à temperatura ambiente e armazenada em cinco porções de 400 g em sacos de polietileno. Apesar dos valores de compostos fenólicos serem superiores aos obtidos no presente estudo, provavelmente devido à utilização de polpa em vez de extrato aquoso, os resultados evidenciam que o butiá é rico em compostos bioativos.

Tabela 3. Determinação dos compostos bioativos em extratos de butiá por meio de diferentes tratamentos

Análise	Tratamento	Metanol	Água
Compostos Fenólicos (mg EAG/100g)	25°C 5 min	70,19 ^{Da} ± 0,59	62,26 ^{Cb} ± 0,76
	25°C 10 min	78,67 ^{Ca} ± 0,17	64,28 ^{Cb} ± 1,26
	25°C 15 min	95,43 ^{Ba} ± 0,67	63,89 ^{Cb} ± 1,10
	80°C 5 min	97,14 ^{Ba} ± 2,13	124,22 ^{Ab} ± 4,48
	80°C 10 min	95,5 ^{Ba} ± 2,81	112,00 ^{Cb} ± 0,25
	80°C 15 min	112 ^{Aa} ± 3,14	113,83 ^{Ba} ± 3,41

Legenda: Médias (n=3) seguidas de mesma letra não diferiram estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de significância. Letras maiúsculas comparam linhas e minúsculas colunas.

Os resultados indicam que a água foi o solvente mais eficiente na extração de compostos antioxidantes e fenólicos da polpa de butiá, especialmente a 80 °C por 15 min. Comparações com estudos em butiá e uvaia confirmam a eficácia do solvente aquoso, reforçando o potencial do butiá como fonte de bioativos com elevada capacidade antioxidante.

4. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que a elevação da temperatura favoreceu a extração de compostos antioxidantes e fenólicos, especialmente em meio aquoso, resultando em maior atividade pelos ensaios ABTS• e DPPH• assim, o butiá confirma-se como uma importante fonte de compostos bioativos com potencial antioxidante.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BITWELL, C. et al. A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. **Scientific African**, v. 19, p. e01585, 2023.
- BOEING, J. et al. Phenolic Compounds from *Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick Fruit and Its Antioxidant and Antitumor Activities, **Food analytical methods**, v.13, p-61-68.2020.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- GOETTEN, J et al. Accessing the nutritional variability of *Butia odorata*: a food with identity. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 42, p. e54822, 2022
- HUFFMANN, et al. Stability of bioactive compounds in butiá (*Butia odorata*) fruit pulp and néctar, *Food chemistry*, v.237, p.638-644.2017.
- ROCKETT, F et al. Phenolic compounds and antioxidant activity *in vitro* and *in vivo* of *Butia* and *Opuntia* fruits, **Food Research International**, v.137,2020.
- RUFINO, M. do S.M. et al. Metodologia Científica : Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. Comunicado Técnico, 128 **Embrapa**, p. 3–6, 2007.
- RUMPF J, BURGER R, SCHULZE M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. **Int J Biol Macromol**. 2023.
- SGANZERLA, W et al. Nutritional, physicochemical and antimicrobial properties of uvaia pulp (*Eugenia pyriformis* Cambess). **Commun Plant Sci**, v. 8, p. 2018001, 2018.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.J.R. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.
- PAP, N et al. Berry polyphenols and human health: evidence of antioxidant, anti-inflammatory, microbiota modulation, and cell-protecting effects, **Current Opinion in Food Science**, v.42, p.167-186.
- WAGNER, J et al. Accessing the nutritional variability of *Butia odorata*: a food with identity, **Food Science and Technology**, v.45, p.1-7,2022.