

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE GOIÁS
CAMPUS ITUMBIARA**

**CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: QUÍMICA ORGÂNICA**

**ESTUDO DOS POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA
CASCA, FOLHAS E FRUTO DE *Hymenaea stigonocarpa* (JATOBÁ).**

ANDRIELY SILVA DE SOUZA

ORIENTADOR(A): Prof^a. Dr^a. BLYENY HATALITA PEREIRA ALVES

ITUMBIARA-GO

2015

ANDRIELY SILVA DE SOUZA

ESTUDO DOS POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA,
FOLHAS E FRUTO DE *Hymenaea stigonocarpa* (JATOBÁ).

Trabalho de conclusão do Curso de
Licenciatura em Química apresentado à banca
examinadora do Instituto Federal de Educação,
Ciência e Tecnologia, Campus Itumbiara.
Orientadora: Prof. Dra. Blyeny Hatalita Pereira
Alves.

ITUMBIARA-GO

2015

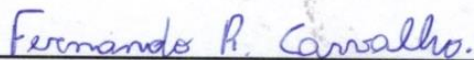
**ESTUDO DOS POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA CASCA,
FOLHAS E FRUTO DE *Hymenaea stigonocarpa* (JATOBÁ)**

Andriely Silva de Souza

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado no dia 11 de novembro de 2015, pela banca examinadora composta pelos professores:



Professora Dra. Blyeny Hatalita Pereira Alves - IFG/Itumbiara
Orientadora



Professor Dr. Fernando dos Reis de Carvalho - IFG/Itumbiara
Avaliador



Professora Dra. Tatiana Aparecida Rosa da Silva - IFG/Itumbiara
Avaliadora

S729e Souza, Andriely Silva de
Estudo dos polifenóis totais e atividade antioxidante da casca, folhas e fruto de *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá) / Andriely Silva de Souza. -- Itumbiara, 2015.
42 f. : il. ; 29 cm.

Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, campus Itumbiara, 2015.
Orientadora: profa. Dra. Blyeny Hatalita Pereira Alves.

1. Química orgânica. 2. Compostos polifenólicos. 3. Atividade antioxidante. 4. Jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa*). I. Título. II. Alves, Blyeny Hatalita Pereira.

CDD 547

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar força, coragem, sabedoria para superar mais uma etapa em minha vida.

A minha família, pelo apoio nessa etapa vencida.

Ao meu marido Maurício Júnior, pelo carinho, compreensão e incentivos.

A professora Dra. Blyeny Hatalita, pelos ensinamentos, apoio, atenção, confiança e firme orientação em todos os momentos.

A professora Msc. Keli Lamounier (Universidade Federal de Uberlândia), pelo auxílio no laboratório de Produtos naturais, incentivos e ajuda.

A técnica de laboratório Natali Oliveira (IFG – Campus Itumbiara), pelo auxílio no laboratório de Química orgânica, incentivos e ajuda.

Ao IFG – Campus Itumbiara, sua direção, corpo docente e administrativo e por oferecer vários programas, entre eles o PIBID e PIBIC, que proporcionam aos alunos a oportunidade de aprender e crescer como pessoa e profissional.

A todos os professores, por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender. A palavra mestre, nunca fará justiça aos professores dedicados aos quais sem nominar terão os meus eternos agradecimentos.

Aos colegas de laboratório e de curso, pelo companheirismo e apoio em tantos momentos.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram com a minha formação e para que esse trabalho fosse realizado com sucesso.

*“A verdadeira viagem ao descobrimento não consiste em
procurar novas paisagens, mas em ter novos olhos.”*
(Marcel Proust)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – 1a. Fruto de jatobá-do-cerrado. 1b. Casca de jatobá-do-cerrado. 1c. Folhas de jatobá-do-cerrado	16
Figura 2. Estrutura do fenol.....	16
Figura 3. Estrutura básica dos flavonoides.....	17
Figura 4. Modelo de estrutura de um tanino condensado.....	17
Figura 5. Reação da vanilina com o anel A da proantocianidina	19
Figura 6. Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante	21
Figura 7: Reação típica do ácido gálico com o íon molibdênio (Reagente de Folin-Ciocalteu)	27
Figura 8. Curva de Calibração do ácido gálico (absorvância em função da concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$).....	28
Figura 9. Reação da vanilina com o tanino condensado	29
Figura 10. Curva de calibração da catequina (absorvância em função da concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$)	30
Figura 11. Estrutura do DPPH	31
Figura 12. Curva de calibração do DPPH• (absorvância pela concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$).....	32
Figura 13. Variação da coloração da solução de DPPH	33
Figura 14. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato etanólico da casca	34
Figura 15. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato etanólico da folha	34
Figura 16. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato etanólico do fruto	35
Figura 17. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato aquoso da casca	35
Figura 18. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato aquoso da folha	35
Figura 19. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato aquoso da fruto	36

LISTA DE TABELAS E EQUAÇÕES

TABELAS:

Tabela 1. Rendimento dos extratos brutos.....	27
Tabela 2. Média das absorvâncias, em 760 nm, obtidas para as amostras analisadas.....	28
Tabela 3. Quantificação de polifenóis totais.....	29
Tabela 4. Média das absorvâncias, em 500 nm, obtidas para as amostras analisadas..	30
Tabela 5. Quantificação de proantocianidinas.....	31
Tabela 6. Rendimento dos extratos brutos, para os extratos etanólico e aquoso.....	32
Tabela 7. Absorvâncias obtidas, a 517 nm, para os extratos etanólicos e aquosos	33
Tabela 8. % de inibição de radicais DPPH, nas concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$	34

EQUAÇÕES:

equação 1- Calculo do teor de umidade	23
equação 2- Porcentagem de DPPH remanescente	25
equação 3- Porcentagem de DPPH inibido	26

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

(R•) - Radicais livres

DPPH• - 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

nm – Nanômetros

DNA – Ácido desoxirribonucléico

ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity (Capacidade de Absorvância do Radical Oxigênio)

TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Capacidade do Teor de Antioxidante Equivalente)

FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power (Poder de Redução de Antioxidante Férnico)

g – Gramas

N – n° de gramas de umidade

P – n° de gramas da amostra

mL – Mililitros

°C – graus Celsius

CE₅₀ – Concentração Inibitória de 50% (Quantidade de antioxidante necessário para decrescer a concentração inicial de DPPH para 50%)

t - Tempo

RESUMO

O uso de plantas com indicação de uso medicinal é uma prática muito comum na região em que está localizado o município de Itumbiara. A variedade de plantas utilizadas para esse fim é grande, e elas são facilmente encontradas em feiras livres na cidade. Entre elas está a *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá-do-cerrado). À planta *Hymenaea stigonocarpa* são relacionados variados usos, como: O fruto do jatobá é preenchido por um pó amarelado de forte cheiro, comestível, com grande concentração de ferro, indicado para anemias crônicas; Da casca da árvore é feito um chá, também chamado “beberagem da vida” e popularmente conhecido como o vinho do jatobá, é estimulante e fortificante. A folha do jatobá-do-cerrado parece um par de pulmões, o que já indicaria suas propriedades medicinais no fortalecimento das vias respiratórias superiores e aparelho cardiovascular. Apesar da sua utilização na culinária regional, existem poucas informações disponíveis sobre a planta *Hymenaea stigonocarpa*, no que diz respeito à atividade antioxidante do óleo essencial e de extratos etanólicos obtidos da casca e polpa do fruto. O presente trabalho objetivou quantificar o teor de polifenóis totais e verificar a atividade antioxidante da casca, folhas e fruto de *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá), a fim de avaliar o potencial de aproveitamento dessa espécie e contribuir para a caracterização química da mesma. A análise de polifenóis totais foi realizada com os extrativos metanol:água (MA) e acetona:água (AA). Os extratos acetona/água apresentaram maior teor de fenóis totais, para casca ($95,04 \pm 5,40$ mgEAG/g), folhas ($66,56 \pm 0,80$ mgEAG/g) e frutos ($44,505 \pm 0,22$ mgEAG/g) para as partes da planta estudadas. Os extratos acetona/água da casca ($75,24 \pm 4,35$ mgEC/g) e do fruto ($32,95 \pm 2,16$ mgEC/g) apresentaram maiores teores de proantocianidinas. A atividade antioxidante foi determinada pelo radical livre estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) seguindo o método descrito por Lima (2008). Todos os extratos das partes estudadas apresentaram atividade antioxidante, com percentagem de inibição do radical DPPH de 10,63 % para o extrato etanólico do fruto a 85,30% para o extrato etanólico da folha.

Palavras-chave: Compostos polifenólicos, atividade antioxidante, jatobá-do-cerrado, *Hymenaea stigonocarpa*.

ABSTRACT

The use of plants with indication of medicinal use is a very common practice in the region in which is located the city of Itumbiara. The variety of plants used for this purpose is great, and they are easily found at free fairs in the city. Among them is the *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá-do-cerrado). *Hymenaea stigonocarpa* plant are varied uses, related as: the fruit of the jatobá is populated by a yellowish powder with a strong smell, edible, with high concentrations of iron, indicated for chronic anemia; The bark of the tree is made some tea, also called "drink of life" and popularly known as jatobá, wine is stimulant and tonic. The leaf of the jatobá-do-cerrado seem a pair of lungs, which would indicate its medicinal properties in strengthening of the upper respiratory tract and cardiovascular system. Despite its use in regional cuisine, there is little information available about the *Hymenaea stigonocarpa* plant with regard to their essential oil and antioxidant activity of etanólicos extracts obtained from the peel and pulp of the fruit. The present work aimed to quantify the total polyphenol content and antioxidant activity check the bark, leaves and fruit of *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá) in order to assess the potential of utilization of this species and contribute to the chemical characterization of same. The analysis of total polyphenols was carried out with the extractive methanol: water (MA) and acetone: water (AA). Acetone/water extracts presented more total phenols content, for shell (95.04 ± 5.40 mgEAGg), leaves (66.56 ± 0.80 mgEAGg) and fruit (44.505 ± 0.22 mgEAGg) for parts of the plants studied. Acetone/water extracts of the bark (75.24 ± 4.35 mgECg) and fruit (32.95 ± 2.16 mgECg) showed higher levels of Proanthocyanidins. The antioxidant activity was determined by the stable free radical 2,2-diphenyl-1-picril-hidrazila (DPPH) by following the method described by Lima (2008). All extracts of the parties studied showed antioxidant activity, with percentage of inhibition of DPPH radical 10.63% ethanolic extract of the fruit to the ethanolic extract to 85.30% of leaf.

Keywords: Polyphenolic Compounds, antioxidant activity, jatobá-do-cerrado, *Hymenaea stigonocarpa*.

SUMÁRIO

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
1.1 PLANTAS MEDICINAIS	14
1.1.1 A FAMÍLIA DAS LEGUMINOSAS (Fabaceae)	14
1.1.2 A ESPÉCIE <i>Hymenaea stigonocarpa</i>	14
1.2 COMPOSTOS FENÓLICOS	16
1.2.1 FLAVONÓIDES	16
1.3 ESPECTROFOTOMETRIA NO UV – VISÍVEL	18
1.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	19
1.4.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: TESTE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH	20
2. OBJETIVOS	22
3. METODOLOGIA	23
3.1 COLETA DA ESPÉCIE	23
3.2 ANÁLISES QUÍMICAS	23
3.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE	23
3.4 ANÁLISE DOS POLIFENÓIS	23
3.4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATIVOS POLIFENÓLICOS	23
3.4.1.1 METANOL-ÁGUA 4:1(V V ⁻¹)	23
3.4.1.2 ACETONA-ÁGUA 7:3 (V V ⁻¹)	24
3.4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS	24
3.4.3 DETERMINAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS	24
3.5 OBTENÇÃO DE EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO PARA TESTE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	25
3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CÁLCULO DE CI ₅₀	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
4.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE	27
4.2 DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU	27
4.3 DETERMINAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS PELO MÉTODO VANILINA	29

4.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH	31
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
6. REFERÊNCIAS.	39

1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 PLANTAS MEDICINAIS

Uma planta pode ser considerada medicinal quando possui substâncias em uma ou mais partes que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou como precursores de fármacos semissintéticos (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

A história do uso de plantas no tratamento de enfermidades é tão antiga quanto a história da humanidade. A medicina popular e o conhecimento da flora medicinal passada pelos ancestrais e seus diagnósticos perderam seus significados com o processo de modernização, mas o uso de plantas para curar doenças continuou até os tempos atuais (PINTO, 2008).

Estima-se que cerca de 80% da população brasileira faz uso de produtos de origem natural, basicamente com base em plantas medicinais, que fazem parte da medicina popular e fitoterápica (FOGLIO, *et al*, 2006).

Apesar do alto consumo de plantas medicinais no Brasil, há falta de conhecimento quanto aos compostos presentes e a toxicidade dos mesmos. Um melhor conhecimento sobre as plantas medicinais é de vital importância para a proteção de pacientes submetidos a tratamento por plantas medicinais (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

1.1.1 A FAMÍLIA DAS LEGUMINOSAS (Fabaceae)

A família botânica Leguminosae é uma das mais importantes nos trópicos, apresentando representantes herbáceos, arbustivos e arbóreos distribuídos em mais de 650 gêneros (POLHILL *et al.*, 1981), com os mais diferentes usos (consumo humano e animal, energia, movelaria, enriquecimento do solo, etc.). Essa grande diversidade a coloca como estratégica no que diz respeito a sustentabilidade ecológica, econômica e social, principalmente no Brasil. Do ponto de vista ecológico, destaca-se sua ampla ocorrência e adaptação nos diversos biomas brasileiros (SIQUEIRA; FRANCO, 1988).

1.1.2 A ESPÉCIE *Hymenaea stigonocarpa*

O estudo das plantas medicinais e suas aplicações na cura de doenças combinam com os ensinamentos do oriente, com as tradições indígenas e remédios populares, complementados pela pesquisa científica moderna, sendo muito importante conhecer cada parte da planta a ser utilizada, já que às vezes, diferentes partes de uma mesma planta servem

para tratar diferentes males, além de existirem ervas tóxicas e combinações que não são aconselhadas. O uso tradicional pode ser encarado como uma pré – triagem quanto à propriedade terapêutica, isso não implica em admitir que plantas medicinais ou remédios caseiros sejam destituídos de toxicidade (ELISABETSKY, 2003).

O Cerrado, que ocupa 25% do território brasileiro, é o segundo maior bioma da América do Sul, perdendo em tamanho somente para a Floresta Amazônica. Sua flora riquíssima só agora começa a ser conhecida, existindo cerca de 1000 espécies de árvores, 3000 espécies de ervas ou arbustos e quase 500 trepadeiras, e dentre estas se encontra a *Hymenaea stigonocarpa* (jatobá-do-cerrado) (PASTORE *et al.*, 2007).

O jatobá-do-cerrado é uma planta que tem grande atração humana visando o uso de sua madeira e consumo de seus frutos. Segundo Lima (2011), conhecer a biometria de frutos é importante para acrescentar dados morfológicos à espécie e, suas variações em diferentes locais podem ser encaradas como resultado de seleção e adaptação das espécies em resposta às pressões do ambiente em que vivem. Pode-se destacar o uso de algumas partes desta planta:

- O fruto do jatobá (Figura 1a) é um legume indeiscente (fruto que permanece fechado após atingir maturação), de casca bastante dura. Cada legume costuma ter duas sementes e é preenchido por um pó amarelado de forte cheiro, comestível, com grande concentração de ferro, indicado para anemias crônicas (LIMA, 2011).
- Da casca da árvore (Figura 1b) é feito um chá, também chamado “beberagem da vida” e popularmente conhecido como o vinho do jatobá, é estimulante e fortificante. Atualmente é utilizado na medicina popular para fazer chá contra gripe, bronquite, catarro no peito, diarreia, vermes, fraqueza, cólicas, infecções na bexiga, para ajudar na digestão, para lavar ferimentos e para irritações vaginais e até no tratamento de câncer de próstata (CARVALHO, 2007).
- A folha do jatobá-do-cerrado (Figura 1c) parece um par de pulmões, o que já indicaria suas propriedades medicinais no fortalecimento das vias respiratórias superiores e aparelho cardiovascular (CARVALHO, 2007).

Figura 1 – 1a. Fruto de jatobá-do-cerrado. 1b. Casca de jatobá-do-cerrado. 1c. Folhas de jatobá-do-cerrado.

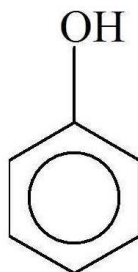


Fonte: permaculturabr.ning.com

1.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são substâncias que possuem um ou mais grupos hidroxila ligados a anel aromático (Figura 2), com um ou mais grupos substituintes (como hidroxilas, carboxilas e metoxilas, etc.). São produzidos por duas vias metabólicas, sendo a rota do chiquimato responsável por aproximadamente 60% dos compostos produzidos pelas plantas e a via do acetato por 40% (CASTRO *et al* , 2004).

Figura 2. Estrutura do fenol (hidróxibenzeno).



Fonte: MACHADO, 2008.

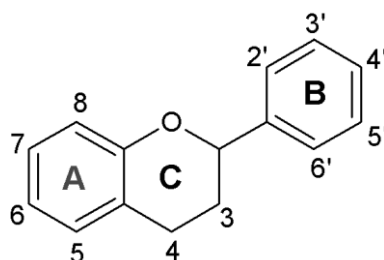
Estudos indicam que os compostos fenólicos podem apresentar efeitos biológicos benéficos como atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (ABE *et al*, 2007). Além disto, alguns compostos fenólicos apresentam atividade antisséptica, anestésica, cicatrizante podendo ainda inibir vários processos vitais como respiração, floração, transporte de glicose, síntese de celulose, etc. (CASTRO *et al* , 2004).

1.2.1 FLAVONOIDES

Flavonoides são compostos com base em uma estrutura C6-C3-C6 (Figura 3) largamente distribuídos na natureza e a muitos deles se atribui atividade antioxidante, aroma

dos alimentos, coloração de flores e defesa das plantas contra raios UV, fungos e bactérias. Os flavonoides podem ser classificados de acordo com as substituições na estrutura básica. Os principais grupos são flavononas, flavonas, isoflavonas, chalconas e antocianidinas (CASTRO *et al.*, 2004).

Figura 3. Estrutura básica dos flavonoides

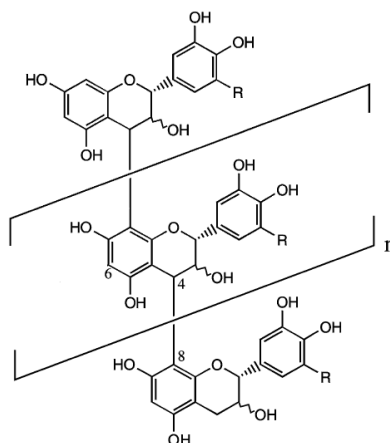


Fonte: MACHADO, 2008.

De acordo com Machado e colaboradores (2008), os flavonoides possuem propriedades como proteção contra raios ultravioleta, proteção contra microrganismos patogênicos, atividade antioxidante, ação alelopática e inibição de enzimas. Podem também apresentar ação anti-inflamatória, antialérgica, atividade antitumoral, antihepatotóxica, antiulcerogênica, antiplaquetária, antimicrobiana e antiviral (PINTO *et al.*, 2000).

A polimerização de flavonoides como flavan-3-ol e flavan-3,4-diol dá origem aos taninos condensados ou proantocianidinas (Figura 4), que recebem este nome por causa dos pigmentos avermelhados semelhantes aos das antocianidinas (AMORIM *et al.*, 2005). Essa classe de compostos é amplamente encontrada principalmente em plantas de grande porte, podendo estar presentes nas folhas, flores, frutos e raízes (CASTRO *et al.*, 2004).

Figura 4. Modelo de estrutura de um tanino condensado.



Fonte: (PELL; MBUGUA; SCHOFIELD, 2001).

1.3 ESPECTROFOTOMETRIA NO UV- VISÍVEL

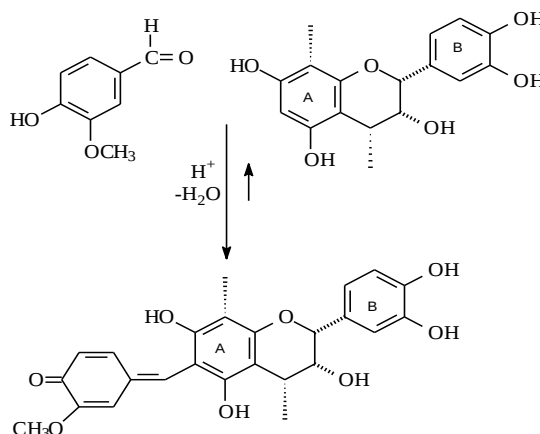
A espectrofotometria no UV-visível permite identificar e quantificar cromóforos que exibem a característica de absorver luz na faixa compreendida entre 200 a 850 nm.

A espectroscopia na faixa do visível (400 a 850 nm) para compostos fenólicos só é possível através de uma reação específica de modo a se obter um produto colorido em proporção linear ou direta à quantidade de material fenólico presente nas amostras (CHANG, 2000).

O ensaio para a determinação de fenóis totais emprega o reagente de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), que consiste na mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungústico, na qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6+, porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (NACZK; SHAHIDI, 2004; IKAWA *et al*, 2003). Este reagente de cor amarela oxida os fenolatos e reduz os ácidos deste reativo para dar lugar a um complexo azul de molibdênio-tungstênio, registrado a 760 nm.

A determinação quantitativa de taninos condensados (proantocianidinas) em extratos vegetais, pelo método da vanilina, e se baseia na reação da vanilina com o anel A substituído na posição meta de um flavanol que leva à formação de um grupo cromóforo que absorve na faixa em torno de 500 nm (MORAIS *et al*, 2009). A Figura 5 mostra a reação da vanilina com um resíduo de uma proantocianidina. Uma das vantagens de se usar este método é que o padrão de substituição do anel B não interfere nesta análise. O mecanismo envolve uma reação do aldeído aromático, a vanilina, com um anel meta-substituído dos flavonóis, conferindo uma cor vermelha, enquanto para MBA a reação baseia-se na despolimerização oxidativa das proantocianidinas em meio ácido na presença do íon férrico conferindo assim, um aumento à reprodutibilidade e sensibilidade ao ensaio (HAGERMAN, 2002).

Figura 5. Reação da vanilina com o anel A da proantocianidina



Fonte: (MORAIS et. al., 2009).

1.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias capazes de controlar a produção de radicais livres (R•). O termo antioxidante significa “que impede a oxidação de outras substâncias químicas” decorrente das reações metabólicas e fatores exógenos, como raios ultravioleta (TOVANI BENZAQUEN INGREDIENTES, 2009).

O metabolismo celular normal do corpo é responsável pela produção de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio, que podem causar danos severos a biomoléculas celulares, entre estas a molécula de DNA (LOUREIRO; DI MASCIO; MEDEIROS, 2002). Antioxidantes, por sua vez, são substâncias que retardam a velocidade dos processos oxidativos, responsáveis pela formação dos radicais livres, conferindo importantes benefícios à saúde (PIETTA, 2000). Estas substâncias podem ser sintéticas ou naturais. No entanto, o uso de antioxidantes sintéticos tem sido evitado devido a suspeita de que estes possam produzir efeitos carcinogênicos (BOTTERWECK *et al.*, 2000). As plantas por sua vez, por possuírem inúmeros compostos, resultantes do seu metabolismo secundário, podem ser fontes de substâncias antioxidantes.

Embora os compostos fenólicos estejam associados com a maioria dos antioxidantes naturais (RAZAVI *et al.* 2008), muitos outros compostos estão sendo descobertos. Espécies do gênero *Aniba*, por exemplo, são conhecidas pelo alto valor econômico e pela composição química do seu óleo, principalmente a espécie *Aniba rosaeodora*, conhecida como pau-rosa, uma espécie bem explorada e com inúmeras atividades biológicas já descritas (MAIA *et al.*, 2007).

Para determinar a atividade antioxidante exercida em extratos de amostras e substâncias isoladas, um dos métodos mais usados se define por avaliar a atividade sequestradora ou antioxidante do radical livre DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (SOUSA *et al.*, 2007).

Muitas plantas medicinais contêm grandes quantidades de antioxidantes, como os compostos fenólicos, carotenoides e as vitaminas C e E que desempenham papéis importantes na absorção e neutralização de radicais livres (DJERIDANE *et al.*, 2006). Nesse contexto, plantas que são popularmente conhecidas com alguma finalidade terapêutica, que não possuam estudos comprovando seus efeitos, tornam-se alvo central de pesquisas que visam o desenvolvimento de novos fármacos que possam auxiliar no tratamento de doenças.

1.4.1 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE: TESTE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH

O aumento do processo oxidativo das células, está diretamente relacionado com várias patologias degenerativas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, mal de Alzheimer e de Parkinson e outras doenças inflamatórias e imunológicas. Nesse sentido, tem-se evidenciado um aumento nos estudos relacionados à antioxidantes em fármacos, cosméticos, alimentos e produtos naturais, com intuito de combater ou minimizar os efeitos danosos do estresse oxidativo (TOMEI; SALVADOR, 2007).

Segundo Tomei e Salvador (2007), com o aumento nas pesquisas acerca da análise antioxidante, principalmente de produtos naturais, houve, conseqüentemente, uma crescente busca e validação de metodologias analíticas sensíveis, de baixo custo e boa qualidade para avaliar o status antioxidante de diferentes amostras. Dentre estas, as principais e mais utilizadas são o ensaio ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), ensaio de redução do β - caroteno, quimioluminescência do luminol, ensaio com reagente Folin-Ciocalteu, redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), ensaio TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), ensaio FRAP (ferric reducing antioxidant power).

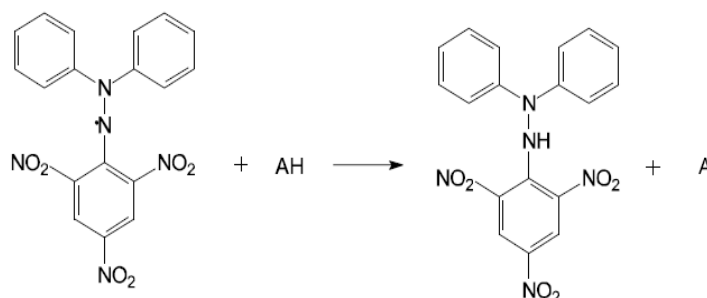
Esses métodos são classificados em diretos e indiretos. O ORAC, ensaio de redução do β - caroteno e quimioluminescência do luminol fazem parte do método direto que é caracterizado pela presença de uma competição entre um oxidante e o antioxidante. Já os métodos Folin-Ciocalteu, redução do radical DPPH, ensaio TEAC, ensaio FRAP, são classificados como indiretos e diferente da competição que ocorre nos métodos diretos, neste acontece uma reação de oxirredução entre o oxidante e o antioxidante por transferência de

elétrons e a intensidade da mudança de cor que ocorre nessa reação é proporcional a atividade antioxidante (CASTELO- BRANCO; TORRES, 2011).

De acordo com Alves e colaboradores (2010) além desses métodos citados, ainda existem muitos que estão sendo usados e estudados, já que, devido aos diferentes tipos de radicais livres e suas formas de atuação no organismo humano, dificilmente existirá um método eficiente e universal capaz de medir precisa e quantitativamente a atividade antioxidante em diferentes meios, tanto hidrofóbicos quanto hidrofílicos.

O método DPPH, foi sugerido inicialmente em 1950. Tempos depois, foi utilizado na determinação antioxidante de fenóis, alimentos e amostras biológicas. O radical DPPH é muito instável devido à disposição de elétrons desemparelhados por toda a molécula, sua coloração é púrpura e abrange uma banda de absorção de UV em etanol de 520 nm. Quando o DPPH é reduzido, perde a coloração original, ficando de cor amarelada. Essa mudança de cor ocorre devido à capacidade antioxidante de uma substância específica que consegue sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina (figura 6) (ALVES et. al., 2010).

Figura 6. Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante.



Fonte: (ALVES et. al., 2010)

De acordo com Tomei e Salvador (2007) e Alves e colaboradores (2010), o método DPPH baseia-se na capacidade deste em reagir com doadores de hidrogênio, e quando em contato com antioxidantes receber H^+ , sendo dessa forma reduzido. O DPPH, devido a sua estrutura, pode ser facilmente detectado por espectroscopia, sendo considerado um método fácil, preciso e reprodutivo na avaliação da atividade antioxidante.

Uma forma de representar os resultados de método é calcular a quantidade de antioxidante capaz de sequestrar metade dos radicais livres DPPH presentes na solução, esse índice é conhecido com EC_{50} . Nesse cálculo, quanto menor o valor de EC_{50} apresentado pelo

extrato, menor quantidade do extrato será necessário para reduzir a metade do radical e maior será a atividade antioxidante (LIMA, 2008).

2 OBJETIVOS

O trabalho teve como objetivo geral avaliar a atividade antioxidante e quantificar os compostos fenólicos dos extratos etanólico e aquoso de partes da planta *Hymenaea stigonocarpa*. E como objetivos específicos:

- ✓ Obter e quantificar os extratos etanólico e aquoso da casca, folhas e fruto de *Hymenaea stigonocarpa*;
- ✓ Avaliar a atividade antioxidante dos extratos etanólico e aquoso da casca, folhas e fruto de *Hymenaea stigonocarpa*;
- ✓ Quantificar os compostos polifenólicos da casca, folhas e fruto de *Hymenaea stigonocarpa*;

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DA ESPÉCIE

As amostras de cascas, folhas e fruto (polpa) foram coletadas no município de Itumbiara – GO. Os materiais transportados ao laboratório do IFG- Campus Itumbiara, onde as amostras foram submetidas ao processo de secagem (umidade inferior a 10%) e moagem. O pó obtido foi guardado em frasco âmbar e sob refrigeração em freezer a $-18 \pm 5^{\circ}\text{C}$ até o momento das análises.

3.2 ANÁLISES QUÍMICAS

As análises químicas foram realizadas no IFG- Câmpus Itumbiara e no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia.

3.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

Para determinar o teor de umidade, foram pesados 5g de cada amostra em cápsula de porcelana, previamente balanceada. Feito isso, as amostras foram colocadas em estufa, a 105°C , por aproximadamente 8 horas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Após esse tempo, retiradas e colocadas em dessecador até atingir a temperatura ambiente; depois disso, as amostras foram pesadas e o cálculo da umidade expresso pela diferença de peso (massa inicial – massa final). O teor de umidade foi expresso em % pela seguinte equação:

$$\frac{100 \cdot N}{P} = \text{Umidade} \quad \text{(equação 1)}$$

Onde:

N = (massa inicial – massa final)

P = n° de gramas da amostra

3.4 ANÁLISE DOS POLIFENÓIS

3.4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS POLIFENÓLICOS

3.4.1.1 METANOL-ÁGUA 4:1(V V⁻¹)

Cerca de 10,00 g de amostra moída foram colocadas em um béquer com 300,0 mL da mistura metanol-água 4:1(v v⁻¹). A mistura foi deixada por 24 horas em temperatura ambiente, com agitação e no escuro e depois filtrada. Do filtrado obtido retirou-se uma alíquota de 10,0

mL para cálculo de rendimento expresso (pela média da massa inicial correspondente à (1mL) de extrato menos a massa final) . Essa alíquota foi levada ao processo de secagem em béquer previamente calibrado e sua massa obtida após 18 horas em estufa a 105 °C. O restante do filtrado obtido foi evaporado à temperatura igual ou inferior a 40 °C para eliminar o metanol. A esse extrato foi dado o nome de MA.

3.4.1.2 ACETONA-ÁGUA 7:3 (V V⁻¹)

Cerca de 10,00 g de amostra moída foram colocadas em um béquer com 300,0 mL da mistura acetona-água 7:3 (v v⁻¹). Deixou-se a mistura por 24 horas em temperatura ambiente, com agitação e no escuro e depois foi filtrada. Do filtrado obtido retirou-se uma alíquota de 10,0 mL para cálculo de rendimento expresso (pela média da massa inicial correspondente à (1mL) de extrato menos a massa final). Essa alíquota foi levada à secagem em béquer previamente calibrado e sua massa obtida após 18 horas em estufa a 105 °C. Evaporou-se o restante à temperatura inferior ou igual a 40 °C para eliminar a acetona. A esse extrato foi dado o nome de AA.

3.4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS TOTAIS

Retirou-se 0,1 mL dos extratos brutos (MA e AA) e diluiu com água até o volume de 50,0 mL. Desta solução, retirou-se uma alíquota de 0,5 mL que foi transferida para um tubo de ensaio. Foi adicionado 2,5 mL de uma solução aquosa do reagente de Folin-Ciocalteu a 10 % e 2,0 mL de uma solução recém-preparada de carbonato de sódio a 7,5 %. Manteve-se a mistura por 5 minutos em banho aquecido a 50 °C; em seguida, leu-se a absorvância a 760 nm. Fez-se, também, uma curva de calibração com soluções aquosas de ácido gálico em diversas concentrações contra um branco sob as mesmas condições. A concentração das amostras foi determinada a partir da equação da reta obtida por regressão linear.

3.4.3 DETERMINAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS

Retirou-se 0,1 mL de cada extrato bruto (MA e AA), e diluiu com água até o volume de 10,0 mL. Em um tubo de ensaio, colocou-se 1,0 mL do extrato diluído e adicionou-se 2,0 mL de uma solução recém-preparada de vanilina em ácido sulfúrico 70% na concentração de 10,0 g L⁻¹. Aqueceu-se a solução resultante em banho de água a 50 °C por 15 minutos. Registrou-se a absorvância a 500 nm. Juntamente com os extratos, preparou-se uma curva de calibração com catequina. Tanto as amostras quanto os padrões da curva de calibração passaram pelo mesmo tratamento. A leitura foi feita contra um branco. Os resultados foram

expressos em equivalentes de catequina (HAGERMAN, 2006). A concentração das amostras foi determinada a partir da equação da reta obtida por uma regressão linear.

3.5 OBTENÇÃO DE EXTRATOS ETANÓLICO E AQUOSO PARA TESTE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os extratos foram obtidos por extração em aparelho de Soxhlet utilizando-se dois solventes distintos: etanol e água. Cerca de 10 g de amostra foram colocadas em um cartucho de papel de filtro, que por sua vez é colocado no interior do aparelho de Soxhlet. Logo após conectou-se um balão contendo o solvente de extração, e um condensador de refluxo. Ao preencher totalmente o cilindro, o solvente já com a substância extraída, foi sifonado para o balão onde o mesmo encontrava-se inicialmente, e o processo se reinicia até que a extração seja completa. Todas as extrações foram feitas até se verificar a total descoloração do solvente. Os extratos foram guardados em frascos âmbar, sob refrigeração, até ensaio com DDPH.

3.6 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CÁLCULO DE CE₅₀

A atividade antioxidante foi determinada através do radical livre estável 2,2-di (4-toctilfenil)-1-picrihidrazila (DPPH[•]) seguindo o método descrito por Lima (2008). Preparou-se uma solução de DPPH[•], 50 µg mL⁻¹ em metanol, construiu-se uma curva analítica com diferentes concentrações (5,10, 20, 30, 40 e 50 µg mL⁻¹). Para quantificação dos extrativos solúveis, 1,00 mL de cada extrato foi recolhido e seco num frasco calibrado a 105°C, durante 6 horas em estufa e depois, resfriado à temperatura ambiente em dessecador e pesado. Os extratos obtidos etanólicos foram diluídos em metanol nas concentrações de 1000, 800, 600, 400, 200 e 100 µg mL⁻¹. Para avaliar a atividade antioxidante foram colocados 0,3 mL de cada concentração das amostras e 2,7 mL da solução previamente preparada de DPPH[•] em tubos de ensaio em duplicata. Foi feito um branco nas mesmas condições, com todos os reagentes, exceto a amostra. Posteriormente foram feitas as leituras a cada 15 minutos durante 1 hora no comprimento de onda de 517 nm, em um espectrofotômetro Shimatzu UV- 160 1 PC.

Seguindo ainda a metodologia de Lima (2008), para obtenção do CE₅₀ (concentração de inibição de 50% do DPPH[•]), calculou-se a porcentagem de DPPH[•] remanescente, empregando a equação 2:

$$\% \text{ DPPH}^{\bullet} \text{ rem} = \{ [\text{DPPH}^{\bullet}]_{\text{am}} / [\text{DPPH}^{\bullet}]_{\text{bran}} \} * 100 \quad (\text{equação 2})$$

Em que: [DPPH•] am: concentração de DPPH• na concentração avaliada (extrato), [DPPH•] bran: concentração de DPPH• no branco (todos os reagentes exceto a amostra).

Para obter-se a porcentagem de DPPH• inibido pelas amostras, utilizou-se a equação 3:

$$\% E = 100 - \% \text{ DPPH}^{\bullet} \text{ REM} \quad \textbf{(equação 3)}$$

E para obtenção da CE₅₀, plotaram-se os valores de % DPPH• versus as concentrações das amostras analisadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE UMIDADE

A determinação do teor de umidade foi realizada por diferença de peso. Assim, a casca, folhas e fruto apresentaram os respectivos valores: $12,45\% \pm 3,09$, $48,47\% \pm 0,015$ e $20,42 \pm 0,08$. As amostras foram coletadas num mesmo período, e partir desses dados pode-se perceber que as folhas de *Hymenaea stigonocarpa* apresentaram um maior teor de umidade.

4.2 DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS PELO MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU.

A partir da obtenção dos extratos brutos foi possível determinar os rendimentos dos mesmos (Tabela 1). Sobre os rendimentos obtidos, os extratos metanólicos apresentaram maior rendimento para as amostras de casca, folhas e fruto.

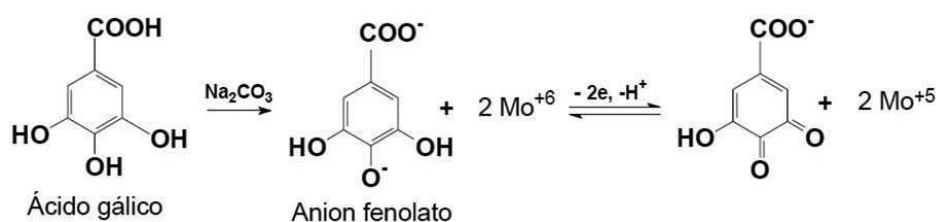
Tabela 1. Rendimento dos extratos brutos.

Extratos	Rendimento (mg g ⁻¹)		
	Casca	Folhas	Fruto
Metanol/água (MA)	185,5 ± 5,1	300,80 ± 1,60	534,05 ± 14,30
Acetona/água (AA)	143,1 ± 4,56	231,20 ± 1,83	532,80 ± 6,30

Fonte: Arquivos pessoais.

Na análise do teor de compostos fenólicos totais foi adotado o método de Folin-Ciocalteu, o qual se fundamenta no processo de redução dos ácidos fosfomolibídico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) e fosfotungístico ($H_3PW_{12}O_{40}$). Quando em presença de substâncias fenólicas a cor da solução muda de amarelo para azul (Figura 7) e pode ser quantificado em espectrofotômetro (MESSERSCHMIDT et al., 2011).

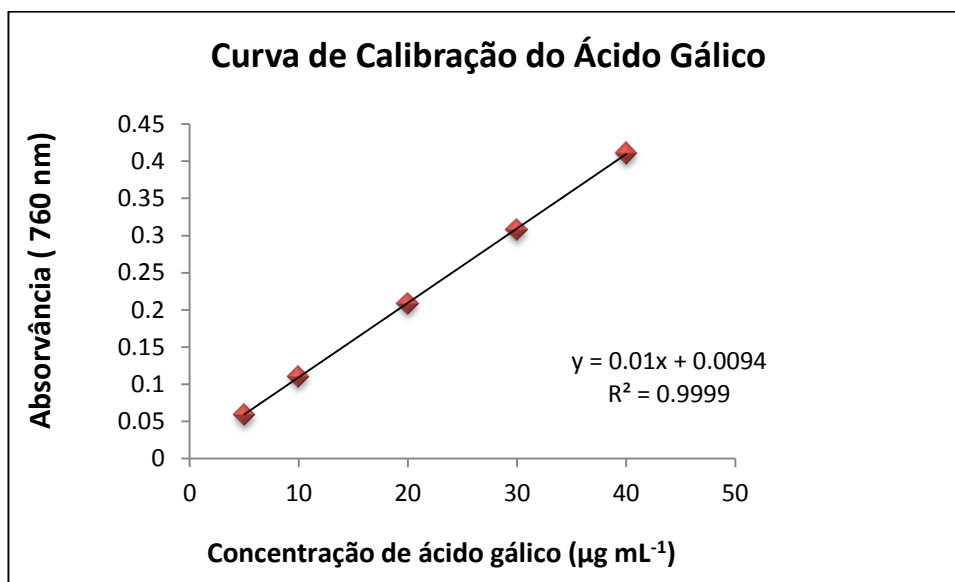
Figura 7: Reação típica do ácido gálico com o íon molibdênio (Reagente de Folin-Ciocalteu).



Fonte: OLIVEIRA, 2008.

Para o cálculo do teor de fenóis totais (FT) foi construída uma curva de calibração de ácido gálico (Figura 8), a partir de concentrações conhecidas de ácido gálico (solução padrão), em função do consumo do reagente Folin-Ciocalteu.

Figura 8. Curva de Calibração do ácido gálico (absorvância em função da concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$)



Fonte: Arquivos pessoais.

Segundo Lamounier (2010), no Brasil, os dois órgãos que regulamentam a validação de métodos analíticos são a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Instrumental (INMETRO), sendo que a ANVISA recomenda um coeficiente de correlação maior ou igual a 0,99 e o INMETRO considera um valor de r maior que 0,90 como sendo o usualmente requerido. Desta forma, todas as curvas analíticas estão dentro dos parâmetros brasileiros, por apresentarem tendência de linearidade e coeficientes de correlação próximos de 1,0 (LAMOUNIER, 2010).

A Tabela 2 mostra os valores médios das absorvâncias registradas no UV-VIS.

Tabela 2. Média das absorvâncias, em 760 nm, obtidas para as amostras analisadas.

AMOSTRAS	Extrato Metanol-água	Extrato Acetona-água
Casca	0,270 $\pm$ 0,015	0,151 $\pm$ 0,007
Fruto	0,104 $\pm$ 0,011	0,086 $\pm$ 0,004
Folhas	0,468 $\pm$ 0,040	0,255 $\pm$ 0,099

Fonte: Arquivos pessoais.

A partir da curva de calibração de ácido gálico foi calculado o teor de fenóis totais, através da interpolação absorvâncias, sendo os resultados expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de amostra (Tabela 3).

Tabela 3. Quantificação de polifenóis totais.

Extratos	Polifenóis totais (mg EAG.g ⁻¹)		
	Casca	Folhas	Fruto
Metanol/água	80,58 ± 4,80	46,88 ± 4,00	31,53 ± 1,35
Acetona/água	95,04 ± 5,40	66,56 ± 0,80	44,505 ± 0,22

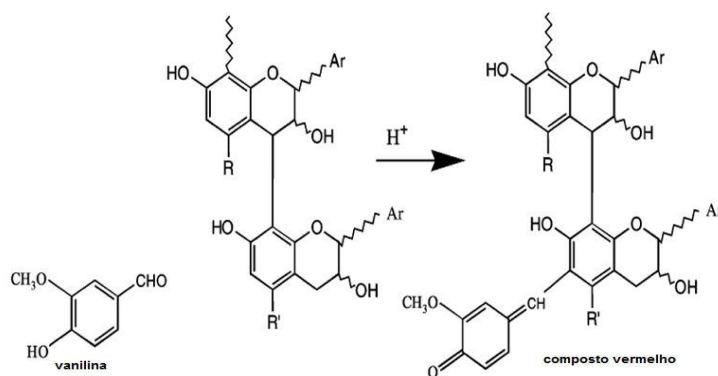
Fonte: Arquivos pessoais.

Os dados apresentados acima mostram que os extratos acetona/água apresentaram maior teor de fenóis totais para as partes da planta estudadas. Para os extratos metanol/água o maior teor de fenóis totais foi encontrado na casca.

4.3 DETERMINAÇÃO DE PROANTOCIANIDINAS PELO MÉTODO DA VANILINA.

Para a determinação da quantidade de taninos condensados presentes nos extratos da casca, folha e fruto da *Hymenaea stigonocarpa* foi adotado o método da vanilina, em que se baseia na reação da vanilina com os taninos formando um complexo vermelho (Figura 9), que absorve na faixa de 500 nm. e pode ser quantificado por métodos espectrofotométricos (PELL; MBUGUA; SCHOFIELD, 2001).

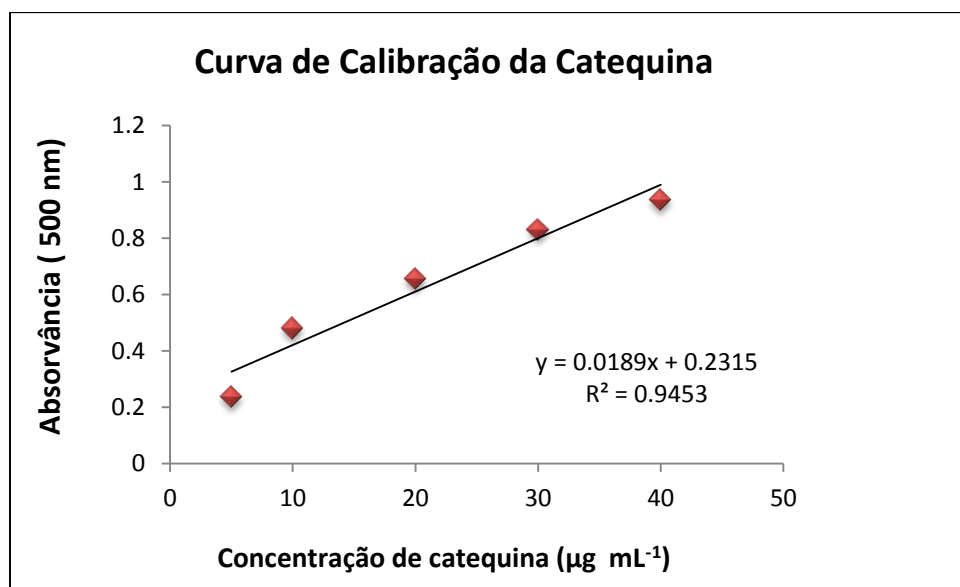
Figura 9. Reação da vanilina com o tanino condensado



Fonte: (PELL; MBUGUA; SCHOFIELD, 2001).

A partir da determinação das absorvâncias obtidas para as amostras de concentrações conhecidas de catequina (solução padrão), foi traçada uma curva analítica de calibração da absorvância pela concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 10). A Tabela 4 mostra os valores médios das absorvâncias registradas no UV-VIS.

Figura 10. Curva de calibração da catequina (absorvância em função da concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$)



Fonte: Arquivos pessoais.

Tabela 4. Média das absorvâncias, em 500 nm, obtidas para as amostras analisadas.

AMOSTRAS	Extrato Metanol-água	Extrato Acetona-água
Casca	0,694 $\pm$ 0,118	1,039 $\pm$ 0,007
Fruto	0,487 $\pm$ 0,018	0,541 $\pm$ 0,083
Folhas	0,895 $\pm$ 0,191	0,392 $\pm$ 0,070

Fonte: Arquivos pessoais.

A partir da curva de calibração da catequina foi calculado o teor de taninos condensados, através da interpolação das absorvâncias, sendo os resultados expressos em miligrama de equivalentes de catequina (EAG) por grama de amostra (Tabela 5).

Tabela 5. Quantificação de proantocianidinas.

Extratos	Proantocinidinas (mg Ecatequina.g ⁻¹)		
	Casca	Folhas	Fruto
Metanol/água	18,44 ± 0,206	40,64 ± 5,97	8,44 ± 0,02
Acetona/água	75,24 ± 4,35	23,89 ± 2,16	32,95 ± 2,16

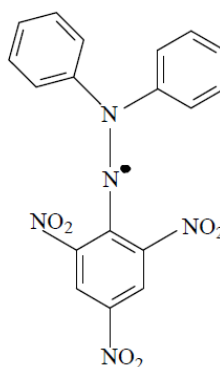
Fonte: Arquivos pessoais.

Os extratos acetona/água da casca e do fruto apresentaram maiores teores de proantocianidinas que seus respectivos extratos metanol/água. O extrato metanol/água do fruto foi o que apresentou o menor teor desses compostos.

A quantificação do teor de taninos condensados é um tipo de teste pouco utilizado, sendo assim não se encontrou análises com o teor de taninos condensados para outras espécies de *Hymenaea*.

4.4 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH

Na avaliação da atividade antioxidante analisa-se a capacidade da amostra em sequestrar o radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) (cor violeta) (Figura 11) que absorve em 517 nm e que quando reduzido forma 2,2-difenil-1-picril-hidrazina (cor amarela). Esta mudança de coloração é acompanhada através de leitura da absorvância no espectrofotômetro UV-Visível (BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995).

Figura 11. Estrutura do DPPH.

Fonte: OLIVEIRA, 2008.

Os compostos antioxidantes protegem os sistemas biológicos contra os efeitos maléficos de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio derivados do metabolismo normal ou de origem externa que podem danificar vários tipos de macromoléculas celulares como

lipídios, proteínas e DNA. Entre os compostos vegetais com atividade antioxidante, destacam-se os polifenóis. A principal classe de compostos fenólicos é representada por ácidos hidroxycinâmicos, encontrados em quase todas as plantas (NEBESNY e BUDRYN, 2003).

A partir da obtenção dos extratos etanólico e aquoso, na extração pelo Soxhlet, foram determinados os rendimentos apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Rendimento dos extratos brutos, para os extratos etanólico e aquoso.

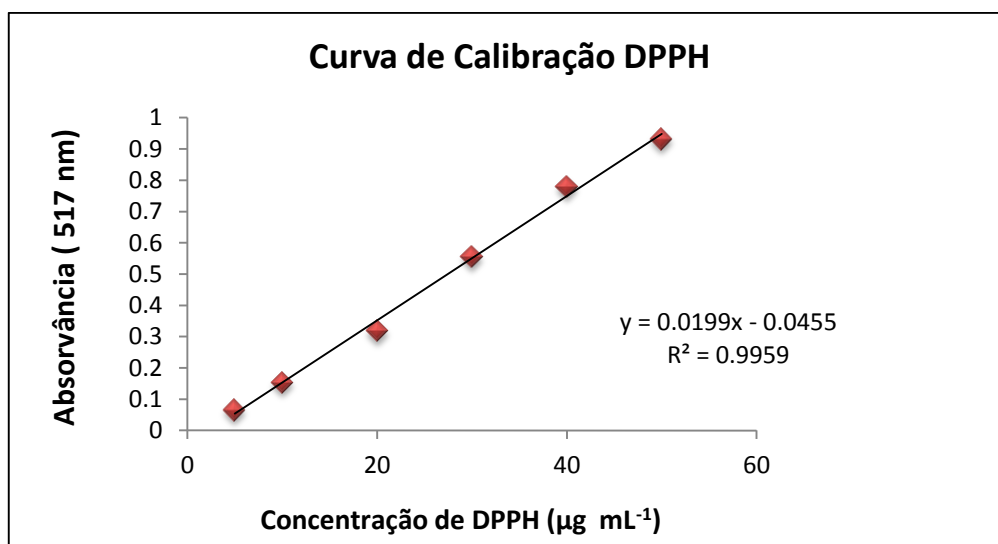
Extratos	Rendimento (mg g ⁻¹)		
	Casca	Folhas	Fruto
Etanólico	24,94 ± 0,58	343,39 ± 17,60	130,36 ± 15,00
Aquoso	70,31 ± 10,75	700,40 ± 7,16	383,61 ± 2,98

Fonte: Arquivos pessoais.

Os extratos aquosos apresentaram maior rendimento para as três amostras e a folha apresentou o maior rendimento no extrato aquoso e etanólico.

Para avaliar o teor de atividade antioxidante, construiu-se uma curva de calibração do DPPH (Figura 12), tal gráfico permite determinar a concentração desse radical em função da absorvância.

Figura 12. Curva de calibração do DPPH• (absorvância pela concentração em µg mL⁻¹)

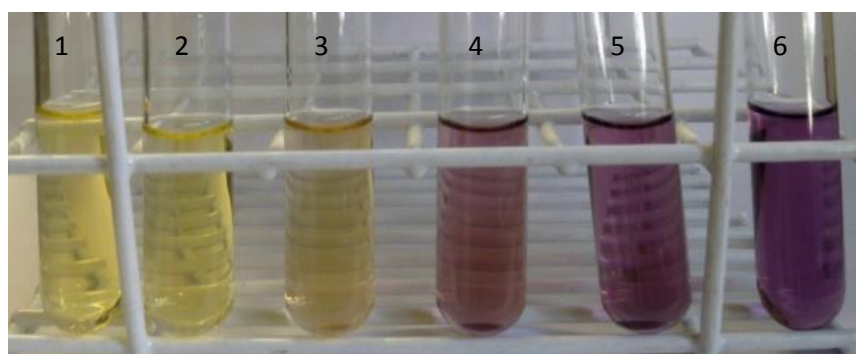


Fonte: Arquivos pessoais.

A Figura 13 ilustra a variação da coloração da solução de DPPH frente à reação com diferentes concentrações dos extrativos, consequentemente a atividade antioxidante em cada

concentração. Para análise da atividade antioxidante foram feitas diluições dos extratos brutos, para que fosse possível o registro das absorvâncias. Assim, as amostras foram diluídas para 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Figura 13. Variação da coloração da solução de DPPH



1-Amostra com maior concentração do extrato; 6- Amostra com menor concentração do extrato.
Fonte: Arquivos pessoais.

A Tabela 7 mostra os valores das absorvâncias registradas, a 517 nm para as amostras analisadas.

Tabela 7. Absorvâncias obtidas, a 517 nm, para os extratos etanólicos e aquosos.

Concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Extratos etanólicos			Extratos aquosos		
	Casca	Folha	Fruto	Casca	Folha	Fruto
100	0,312	0,216	0,759	0,335	0,242	0,741
200	0,201	0,081	0,704	0,219	0,087	0,721
400	0,158	0,075	0,754	0,118	0,087	0,676
600	0,106	0,073	0,735	0,135	0,087	0,653
800	0,123	0,075	0,730	0,125	0,088	0,662
1000	0,109	0,078	0,736	0,151	0,088	0,590

Fonte: Arquivos pessoais.

Os cálculos foram realizados com base na concentração do DPPH em $\mu\text{g mL}^{-1}$ calculado pela equação da reta (curva de calibração do DPPH), logo depois foi feito o cálculo da % de DPPH remanescente (equação 2), em seguida o cálculo da % de inibição (equação 3). Os valores relativos à % de inibição das amostras analisadas estão apresentados na tabela 8. E por fim cálculo CE_{50} = % inibição versus [das amostras].

Tabela 8. % de inibição de radicais DPPH, nas concentrações de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

	% de inibição			
	Extratos Etanólicos		Extratos Aquosos	
	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100 $\mu\text{g mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$
Casca	60,34	82,86	57,12	77,29
Folha	70,17	85,30	67,32	84,20
Fruto	10,63	13,16	12,61	29,16

Fonte: Arquivos pessoais.

A partir dos valores obtidos para a % de inibição das amostras, foi construído um gráfico plotando-se a porcentagem de inibição *versus* a concentração das amostras, para o cálculo do CE_{50} (Figuras 14, 15, 16, 17, 18 e 19), que é expresso em concentração do extrato ($\mu\text{g mL}^{-1}$) necessária para inibir 50% do radical DPPH (ARGOLO *et al.*, 2004).

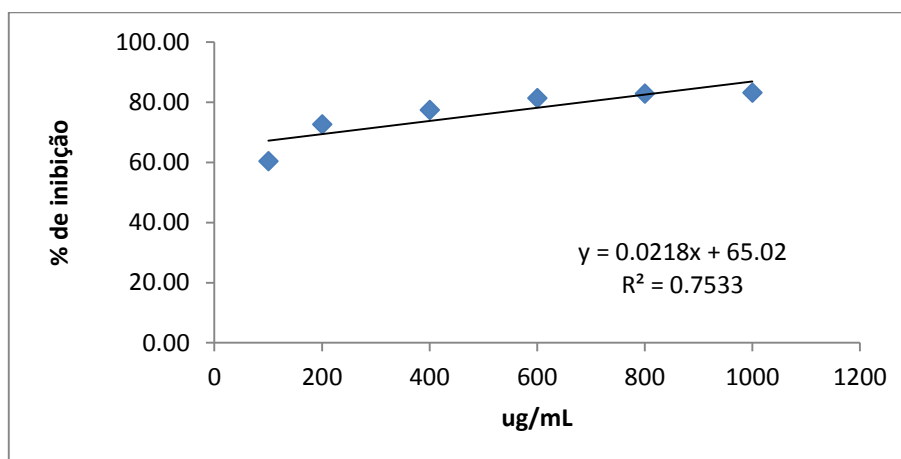
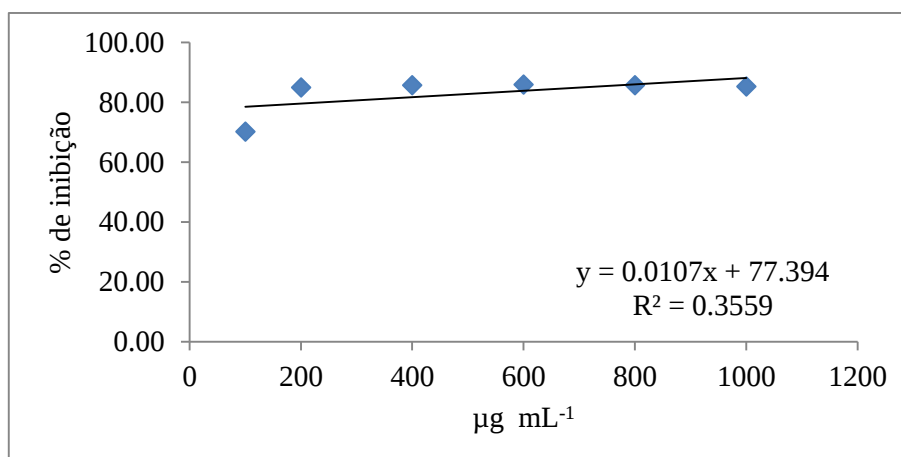
Figura 14. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato etanólico da casca.**Figura 15.** Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato etanólico da folha.

Figura 16. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato etanólico do fruto.

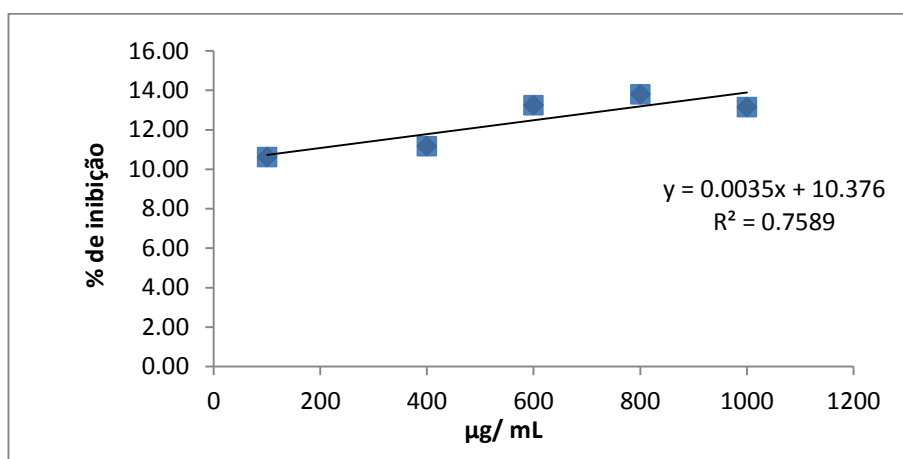


Figura 17. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato aquoso da casca.

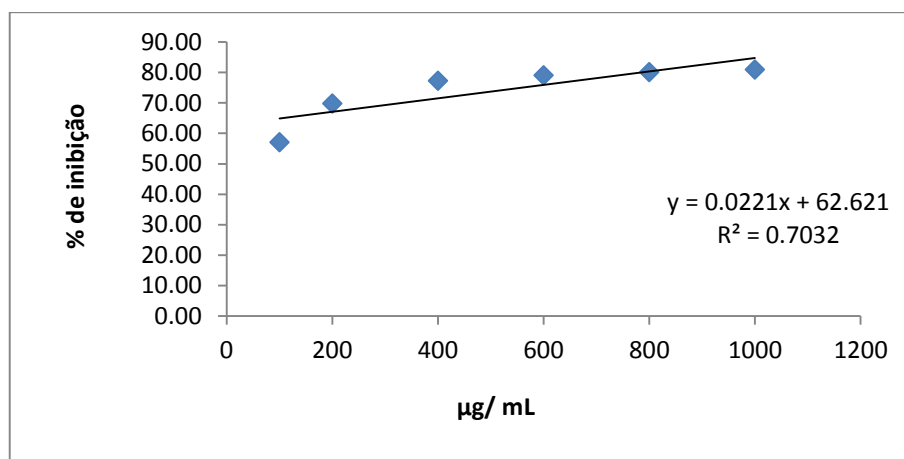


Figura 18. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato aquoso da folha

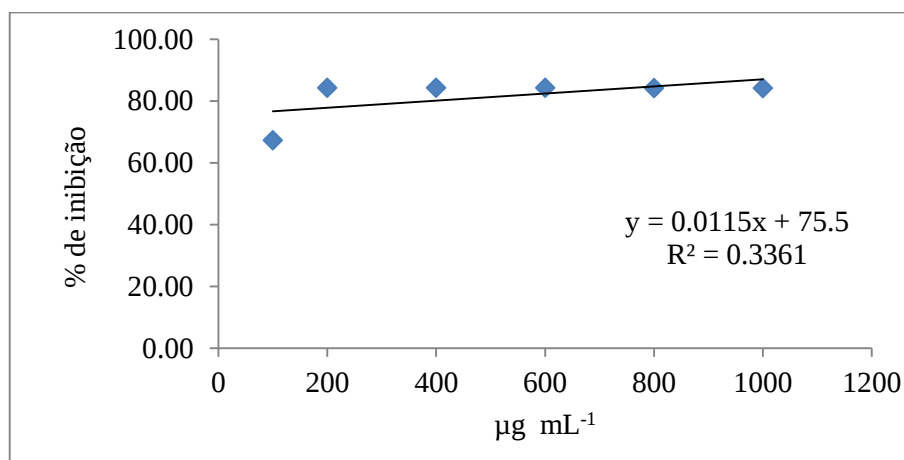
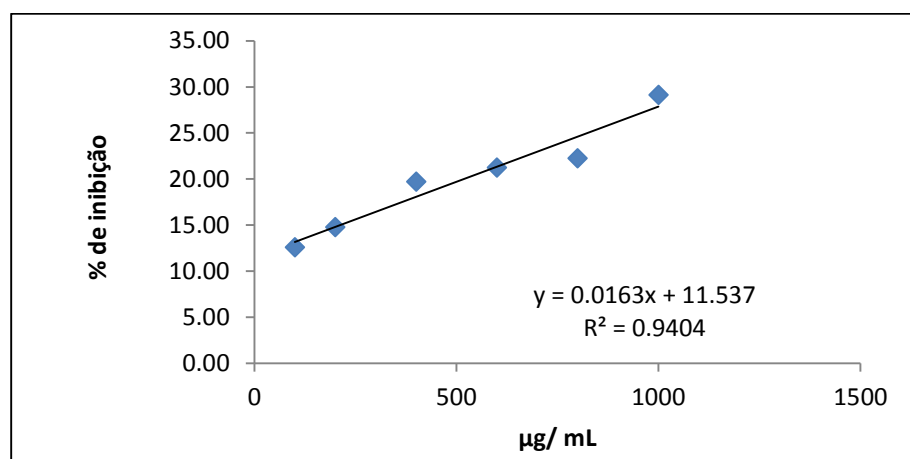


Figura 19. Gráfico da % de inibição de DPPH• em função da concentração do extrato aquoso do fruto.



Observou-se que todos os extratos apresentaram atividade antioxidante frente aos radicais DPPH. Os extratos etanólicos da casca e folha apresentaram maior inibição dos radicais DPPH que os seus respectivos extratos aquosos. Já para o fruto a maior inibição foi determinada para o extrato aquoso. Nas concentrações utilizadas nesse estudo, houve pouca variação da % de inibição entre a amostra mais concentrada e a de menor concentração. Assim, foi possível calcular o CE_{50} apenas para os extratos etanólico ($CE_{50} = 11,321 \text{ mg mL}^{-1}$), e aquoso ($CE_{50} = 23,596 \text{ mg mL}^{-1}$) do fruto (Figuras 16 e 19). Para determinar os valores de CE_{50} para os demais extratos seriam necessárias testar novas diluições para as amostras, a partir de concentrações mais baixas.

Desta forma, a casca de *Hymenaea stigonocarpa* apresentou uma melhor capacidade de sequestrar radicais livres do que as folhas e o fruto da mesma espécie. Pôde-se observar também que os extratos etanólicos apresentaram maior capacidade de sequestrar radicais livres.

A melhor atividade antioxidante dos extratos aquosos pode estar relacionada com os compostos de maior polaridade que possivelmente foram extraídos por esse solvente e que não estão presentes nos extratos etanólicos.

Segundo Martínez-Valverde, Periago e Provan (2000), a ação antioxidante dos compostos fenólicos reduz o risco de patologias, como o câncer e infecções sendo, portanto, importante fator na oxidação lipídica. Contudo, de acordo com as partes estudadas, o conteúdo de polifenóis totais varia, consideravelmente e depende também da parte analisada (JORGE *et al.*, 2009); no caso a casca, folhas e fruto. Dessa forma, a relação entre o teor de polifenóis totais e a atividade antioxidante pode sofrer variações sendo que o solvente utilizado pode interferir na extração devido à polaridade do mesmo (JORGE *et al.*, 2009).

Nesse trabalho, portanto, não foi observada uma correlação entre a atividade antioxidante e o teor de polifenóis totais para os extratos analisados. Apesar das partes estudadas apresentarem teores elevados de polifenóis totais em equivalentes de ácido gálico, para os dois extrativos (MA e AA), os valores foram maiores para o fruto, fato que pode estar associado ao alto teor de ferro e nutrientes que esta parte em específico possui.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O maior teor de fenóis totais foi encontrado nos extratos acetona-água. O maior teor de taninos condensados foi encontrado nos extratos metanol-água das folhas. De acordo com a análise do teor antioxidante, a % de inibição do radical de DPPH variou de 10,63% do extrato etanólico do fruto a 85,30% do extrato etanólico da folha. De acordo com uma análise geral não foi observada uma correlação direta entre a atividade antioxidante e o teor de polifenóis totais para os extratos analisados.

Todos os extratos das partes estudadas apresentaram atividade antioxidante, com percentagem de inibição do radical DPPH de 10,63 % para o extrato etanólico do fruto a 85,30% para o extrato etanólico da folha. O que demonstra presença de potencial antioxidante da planta.

Nesse trabalho, não foi observada uma correlação entre a atividade antioxidante e o teor de polifenóis totais para os extratos analisados. Apesar das partes estudadas apresentarem teores elevados de polifenóis totais em equivalentes de ácido gálico, para os dois extrativos (MA e AA), os valores foram maiores para o fruto, fato que pode estar associado ao alto teor de ferro e nutrientes que esta parte em específico possui.

A investigação desses constituintes químicos das folhas, fruto e casca da *H. stigonocarpa* tem se mostrado uma contribuição importante para o estudo sobre as plantas usadas pela população e que constituem a flora da região.

6. REFERÊNCIAS

- ABE, L. T.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M.; MOTA, R. V. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, p. 394-400, 2007.
- AMORIM, E. L. C.; ARAÚJO, E. L.; MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.
- ALVES, C. Q; DAVID, J. M; DAVID, J. P; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ARGOLO, A.X.; SANT'ANNA, A.E.; PLETSCHE, M.; COELHO, L.C. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **Bioresource Technology**, v.95, n.2, p.229-233, 2004.
- ATOUI, A. K.; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P.; **Food Chem.** 2005, 89, 27; BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; **Quim. Nova** 2006, 29, 113.
- BOTTERWECK AA, VERHAGEN H, GOLDBOHN RA, KLEINJANS J, VAN DEN BRANDT PA. Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food Chem Toxicol* 38(7): 599-605, 2000.
- BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28 (1), 25-30, 1995.
- CARVALHO, P.E. **Jatobá-do-Cerrado - *Hymenaea stigonocarpa***. Colombo: Embrapa Floresta, 2007. 8p. (Embrapa Floresta. Circular Técnica, n. 133).
- CARVALHO, D. A.; RODRIGUES, V. E. G. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio dos cerrados na região do Alto Rio Grande – Minas Gerais. *Revista Brasileira Plantas Medicinais*, v. 9, n. 2, 17-35, 2007.
- CASTELO-BRANCO, Vanessa Naciuk; TORRES, Alexandre Guedes. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, Campinas, vol. 24, n. 1, p. 173-187, 2011.
- CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários, 2.ed., p. 113, 2004.
- CHANG, R. **Análises dos compostos fenólicos da madeira do *E. grandis* e do *E. urophilla* do triângulo mineiro**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2000.
- DJERIDANE, A., YOUSFI, M., NADJEMI, B., BOUTASSOUNA, D., STOCKER, P., VIDAL, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654–660, 2006.
- ELISABETSKY, E. **Etnofarmacologia**. Biodiversidade Artigos. Porto Alegre, 2003.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. Multiciencia. São Paulo, 2006.

HAGERMAN, A. E. **Tannin chemistry**. Disponível em: <<http://www.users.muohio.edu/hagermae/tannin.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2015.

HASLAM, E.; J. **Nature Production**. 1996, 59, 205.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. (Coord.). vol 1, 3ª ed., São Paulo. p.1020, 2008.

IKAWA, M.; SCHAPER, T. D.; DOLLARD, C. A.; SASNER, J.J. Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p.1811–1815, 2003.

JESUS, A. M. **Saberes Populares em Plantas Medicinais**. Rio de Janeiro: Centro Universitário Augusto Motta, 2008.

JORGE, N.; M.; CASSIA, R.; ANGELO, P. M.; ANDREO, D. Composição Centesimal e Atividade Antioxidante do Extrato de Sementes de Maracujá (*Passiflora edulis*) em Óleo de Soja. **Pesq. Agropecuária. Trop.**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 380-385, out./dez. 2009.

LAMOUNIER, Keli Cristina. **Atividade Antimicrobiana de Extratos Brutos da Amoreira (Maclura tinctoria L.)** Dissertação (mestrado) – Mestrado em Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

LIMA, R. K.. **Óleos essenciais de Myristica fragrans Houtt. e de Salvia microphylla H. B. K.: caracterização química, atividade biológica e antioxidante**. Tese (Doutorado) – Programa de Pós- graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2008.

LIMA, S. F. **Biometria de frutos de jatobá (Hymenaea stigonocarpa) em um fragmento de cerrado em Coromandel – MG**. X Congresso de Ecologia do Brasil, 16 a 22 de Setembro de 2011.

LOUREIRO, A. P. M.; DI MASCIO, P.; MEDEIROS, M. H. G. Formação de adutos exocíclicos com bases de DNA: implicações em mutagênese e carcinogênese. **Química Nova**, 25, 777-793, 2002.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V.M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1, p. 33-39, 2008.

MAIA, J.G.; ANDRADE, E.H.; COUTO H.A.; SILVA, A.C.; HENKE, C. Plant sources of Amazon rosewood oil. **Química Nova**, 30, 1906-1910, 2007.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; PROVAN, G. **Significado nutricional de los compuestos fenolicos de La dieta**. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Caracas, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MESSERSEHMIDT, I.; PERALTA-ZAMORA, P.; GALLICE, W. C. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 397- 403, 2011.

MORAIS, S. A. L.; AQUINO, F. J. T.; NASCIMENTO, P. M.; NASCIMENTO, E. A.; CHANG, R. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café conilon submetido a diferentes graus de torra. **Química Nova**, 32, 327-331, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extractions and analysis of phenolics in food. **Journal Chromatography A**, v.1054, p. 95-111, 2004.

NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Evaluation of sensory attributes of brews from robusta coffee roasted under different conditions. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 224, n. 1, p. 159-165, 2006.

OLIVEIRA, A. C. Capacidade antioxidante de farinhas de resíduos de frutas tropicais. 2008. p. 88. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

PASTORE, G. M.; ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S. **Atividade antioxidante de frutas do cerrado**. Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, 2007.

PELL, A. N.; MBUGUA, D. M.; SCHOFIELD, P. Analysis of condensed tannins: a review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 21-40, 2001.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.

PINTO, A. S.; LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. T.; NAGEM, T. J. Flavonóides. **Biotecnologia Ciencia & Desenvolvimento**, n. 17, p. 18-22, 2000.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M.; Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

PINTO, L. N. **Plantas medicinais utilizadas por comunidade do município de Igarapé-Miri**. 2008. 98 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Pará, Belém.

POLHILL, R. M.; RAVEN P.H., STIRTON, C. H. **Evolution and systematics of the Leguminosae**. In; Advances in Legume Systematics, ed. Polhil L.M.& Raven, P.H. 1- 26p. 1981.

RAZAVI, S.M., NAZEMIYEH, H., HAJIBOLAND, R., KUMARAMASAMY, Y., DELAZAR, A., NAHAR, L. Coumarins from aerial parts of *Prangos uloptera*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. 18, 1-5, 2008.

SOUSA, P.J.; SILVA, J.K.; ANDRADE, E.H.; MAIA, J.G. Antioxidant capacity and cytotoxicity of essential oil and methanol extract of Aniba canelilla (H. B. K.) Mez. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 9422-9426, 2007.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal for Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Biotecnologia do solo: Fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE/ABEAS, 1988. 236p.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.A; VIEIRA-JR., G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. de M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

TOMEI, R.. R.; SALVADOR, M. J.; **Metodologias analíticas atuais para avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais**. XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica, Paraíba, 2007. Disponível em: http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007/trabalhos/saude/epg/EPG00322_01C.pdf. Acesso em: 21/02/2012.

TOVANI BENZAQUEN INGREDIENTES. Os antioxidantes. **Food Ingredientes Brasil**, n.6, 2009. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>. Acesso em: 01/11/2012.