COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DA CASCA E POLPA DE ABACAXI PÉROLA E ABACAXI HAVAIANO

TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS AND *IN VITRO* ANTIOXIDATING CAPABILITY OF PEARL PINEAPPLE AND HAWAIIAN PINEAPPLE

OLIVEIRA JÚNIOR, Charles Ivo de^{1*}; OIVEIRA, Gustavo Félix²; REZENDE, Gláucia Aparecida Andrade³; ALVES, Blyeny Hatalita Pereira⁴

^{1,2,3,4} Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás – Campus Itumbiara, Departamento de Química Orgânica.

* Charles Ivo de Oliveira Júnior
e-mail: charlesivo@outlook.com

Received 08 November 2019; received in revised form 10 February 2020; accepted 14 March 2020

RESUMO

O abacaxi tem aceitação pelo seu aroma, sabor e por suas qualidades nutricionais. As pesquisas relacionadas à composição dos alimentos e as substâncias bioativas vem ganhando maior espaço no meio acadêmico devido à preocupação em se manter um estilo de vida mais saudável. O objetivo desse trabalho foi quantificar a presença de compostos fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante *in vitro* na casca e na polpa de abacaxi pérola e havaiano (*Ananas comosus*), cultivados e comercializados na região do triângulo mineiro e sul de Goiás. Esta região foi escolhida devido à proximidade geográfica com a cidade de Itumbiara e por ser uma região com uma destacada produção das duas variedades em estudo. O teor de compostos fenólicos totais foi avaliado através do método de Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante foi avaliada pelo método de sequestros de radicais livres (DPPH• - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila). Os testes apontaram valores de 72,53 a 143,90 mg GAE/100g de amostra, para o extrato aquoso e de 62,04 a 165,47 mg GAE/100g de amostra, sendo os maiores valores encontrados para os extratos da casca. Para o teste realizado com o DPPH, para verificação da atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroetanólico, não foi observado um consumo significativo do reagente DPPH. A leitura foi realizada durante 1 hora, sem que o valor medido sofresse alterações substanciais. Portanto maiores estudos necessitam ser realizados para a elucidação da atividade antioxidante em abacaxis.

Palavras-chave: *Substâncias Bioativas; Radicais Livres; DPPH.*

ABSTRACT

The pineapple is praised for its aroma, flavor, and nutritional value. Researches of food composition and bioactive substances gained more space in the academic environment due to a more current severe concern of maintaining a healthier lifestyle. The objective of this paper was to quantify the presence of total phenolic compounds and to evaluate the antioxidant activity *in vitro* in the peel and pulp of two pineapples varieties: the *Abacaxi Pérola* and *Abacaxi Havaiano* (*Ananas comosus*), cultivated and commercialized at the region of the *Triângulo Mineiro* and Southern of Goiás. This region was chosen due to its geographic proximity to the city of Itumbiara, and for being a region with an outstanding production of the subject two varieties. The content of total phenolic compounds was evaluated using the Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity was assessed using the free radical scavenging method (DPPH • - 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazilil). The tests showed values of 72.53 to 143.90 mg GAE / 100g for each sample, for the aqueous extract and from 62.04 to 165.47 mg GAE / 100g of sample, the highest values being found for the bark extracts. For the test carried out with DPPH, to check the antioxidant activity of aqueous and hydroethanolic extracts, significant consumption of the DPPH reagent was not observed. The reading was performed for 1 hour without the measured value undergoing substantial changes. Therefore further studies need to be carried out to elucidate the antioxidant activity in pineapples.

Keywords: *Bioactive Substances; Free radicals; DPPH.*

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de abacaxi no mundo. Em 2016, a produção da fruta atingiu 2.930.661 de toneladas (EMBRAPA, 2016b). De acordo com dados para produção brasileira de abacaxi em 2016, as cidades de Monte Alegre de Minas, Canápolis e Centralina, no estado de Minas Gerais, ocuparam, respectivamente a 6^a, 9^a e 19^a posição na produção nacional desse fruto, com um total de 136.250 mil frutos produzidos (EMBRAPA, 2016a). A proximidade geográfica da cidade de Itumbiara com a região do triângulo mineiro, torna seus cidadãos potenciais clientes para a comercialização da produção dessas três cidades, principalmente em se tratando do fruto in natura.

As variedades produzidas na região são o abacaxi pérola e o abacaxi havaiano, também conhecido como Smooth Cayenne. Eles apresentam características sensoriais diferentes. O abacaxi havaiano apresenta mais acidez e a polpa é mais amarelada. O abacaxi pérola é pouco ácido, mais adocicado e apresenta a polpa branca. Essas características tornam o abacaxi pérola mais agradável ao paladar do consumidor brasileiro, para o consumo in natura. Já as características do abacaxi havaiano o tornam adequado para industrialização e exportação (Cabral e Junghans, 2003).

Atualmente, a sociedade vem se preocupando em manter uma vida saudável, consequentemente, as pesquisas relacionadas à composição nutricional dos alimentos vêm ganhando espaço. Além dos nutrientes, existem outros componentes que desempenham efeitos positivos nos organismos humanos, como por exemplo, os compostos fenólicos, que desempenham um papel de antioxidante natural (Ota et al., 2016).

De acordo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (2011), a composição nutricional do abacaxi cru é: umidade (86,3%), proteínas (0,9g), lipídeos (0,1g), carboidratos (12,3 g), fibras (1,0g), cinzas (0,4g), cálcio (22 mg), magnésio (1 mg) e vitamina C (34,6 g).

Dentre os nutrientes presentes no abacaxi, se destaca a vitamina C (ácido ascórbico). A vitamina C desempenha um papel fundamental na saúde dos seres humanos, pois combate os radicais livres, ou seja, é um antioxidante, auxilia o sistema imunológico, ajuda

na absorção de ferro e na produção de colágeno (Pereira, 2008).

Sousa, Vieira e Lima (2011) realizaram um estudo sobre a capacidade antioxidante e o teor de fenóis totais in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais, entre elas o abacaxi. Nesses ensaios, foram encontradas baixas quantidades de fenóis totais e baixa capacidade antioxidante para esses resíduos. Ota e colaboradores (2016) analisaram as propriedades físico-químicas e o potencial antioxidante da polpa fresca do abacaxi-do-cerrado, afirmando terem encontrado valores superiores de compostos fenólicos e da atividade antioxidante, quando comparado com o abacaxi comum.

O fruto, a parte comercializável da planta, é composto pela polpa, maior parte aproveitada, casca, talo e coroa considerado resíduo orgânico e não tem tido suas utilizações apropriadas, de forma que possam ser aproveitados economicamente. A polpa do abacaxi, em geral, tem aproveitamento máximo tanto na indústria quanto no consumo direto da fruta. A casca do abacaxi normalmente é a parte mais desperdiçada do fruto pela população, no entanto ela pode ser inserida na nutrição humana de diversas formas. A pesquisa de Lima, Souza, Santine e Oliveira (2017), apresenta uma variedade de receitas, dentre elas tem chás, sucos, doces e geleias, receitas saudáveis e com baixo custo financeiro, que podem ser produzidas com a casca do abacaxi.

A progressiva preocupação com o meio ambiente tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas que viabilizam a sustentabilidade de impactos causados pelos processos industriais. A indústria de alimentos produz uma vasta quantidade de resíduos orgânicos que podem ser aproveitados. Com isso, identificar a presença de substâncias bioativas e a ação antioxidante da polpa e casca do abacaxi poderá agregar valor de mercado na região e automaticamente reduzir o impacto ambiental (Leite e Pawlowsky, 2015; Ferreira et al., 2016).

Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi quantificar os compostos fenólicos totais e determinar a atividade antioxidante da casca e polpa, por meio do sequestro de radicais livres DPPH nos extratos da casca e polpa das duas variedades de abacaxi (pérola e havaiano).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparação dos Extratos da Casca e Polpa

Os frutos maduros de abacaxi pérola e abacaxi havaiano foram obtidos diretamente de produtores na cidade de Canápolis (MG). Eles foram transportados até o Laboratório de Química do Instituto Federal de Goiás - Câmpus Itumbiara, lavados em água corrente e processados. O processamento consistiu no descascamento e retirada do cilindro central, obtendo-se as seguintes partes: casca e polpa. A casca e a polpa foram processadas com o auxílio de um aparelho "mixer" doméstico, armazenadas em embalagens plásticas com fechamento hermético e congeladas até o momento das análises. Na Figura 1 são mostradas as etapas do processamento do abacaxi.

Figura 1. Etapas do processamento do abacaxi

Foram preparados extratos aquosos e hidroetanólico da casca e polpa das duas variedades de abacaxi. Para a preparação dos extratos aquosos foram utilizados 100 mL de água destilada e 20 g de amostra; em seguida, eles foram homogeneizados em frasco Erlenmeyer, usando o agitador magnético durante 1 h à temperatura ambiente ($\pm 25^\circ\text{C}$). A mistura foi centrifugada por 5 min à temperatura ambiente; o sobrenadante filtrado e armazenado em vidro âmbar sob refrigeração a aproximadamente 5°C , para posterior análise. A preparação do extrato hidroetanólico (8:2 água:etanol) seguiu a mesma metodologia (adaptado de Lima, 2008). Todas as análises foram realizadas em até sete dias após a obtenção dos extratos.

2.2. 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). Estes ensaios colorimétricos têm pontos de absorção máximos pré-definidos. Os ensaios propostos neste trabalho foram realizados em um espectrofotômetro UV/VIS, Modelo UV-380G da marca GEHAKA.

2.3. Determinação de Fenóis Totais pelo Método de Folin-Ciocalteu

Um dos métodos mais utilizados para esta determinação está baseado nos estudos de Singleton e Rossi, que estudaram as características do reagente de Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965).

O ensaio para a determinação de fenóis totais emprega o reagente de Folin-Ciocalteu, que consiste na mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstístico, 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 (Naczki e 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.

Para determinação dos fenóis totais foi retirado 0,1 mL dos extratos e diluiu-se com água até o volume de 50,0 mL. Desta solução foi retirada uma alíquota de 0,5 mL que foi transferida para um tubo de ensaio. Adicionou-se 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 %. A mistura foi mantida por 5 minutos em banho aquecido a 50°C ; em seguida, foi feita a leitura da absorbância 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. Os resultados estão expressos em equivalentes de ácido gálico.

2.4. Determinação da Atividade Antioxidante

Para determinar a atividade antioxidante exercida em extratos de amostras e substâncias isoladas, um dos métodos mais usados se define por avaliar a atividade seqüestradora ou antioxidante do radical livre DPPH• (Sousa et al., 2007).

A atividade antioxidante foi determinada, através do radical livre estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH•) seguindo o método descrito por Brand-Williams et al. (1995) e modificado por Yildirim et al. (2001). Os extratos hidroetanólico e aquoso foram submetidos a 5 diluições sucessivas. Para cada solução, foi tomada uma amostra de 0,10 mL e adicionado 3,90 mL de solução de DPPH• de concentração aproximada de 80 µg mL⁻¹ em metanol. Também, foi feito um branco nas mesmas condições, mas sem o DPPH•. Após a adição do radical DPPH•, as soluções foram deixadas em repouso e suas absorvâncias registradas no comprimento de onda de 517 nm durante uma hora, em intervalos de cinco minutos entre cada leitura. A porcentagem de DPPH-H que reagiu (atividade antioxidante) foi calculada pela expressão:

$$\text{DPPH}_{\text{reagido}}(\%) = \frac{\text{AbvC} - (\text{AbvA} - \text{AbvB}) \times 100}{\text{AbvC}}$$

Onde: AbvC, AbvB e AbvA correspondem às absorvâncias do controle, branco e amostra, respectivamente.

Cálculo do CE₅₀ (quantidade de antioxidante necessário para decrescer a concentração inicial de DPPH. para 50%). Primeiramente será construída uma curva analítica de calibração para o radical DPPH. em diferentes concentrações. Em seguida, serão calculadas as porcentagens de DPPH remanescentes (CE₅₀), ou seja, a quantidade de DPPH• que não reagiu com os antioxidantes através da Equação 1:

$$CE_{50} = \frac{[DPPH]_t}{[DPPH]_{t_0}} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: t = tempo onde absorvância do DPPH estável; t₀ = é o tempo zero.

A concentração efetiva média (CE₅₀), que representa a concentração de amostra necessária para sequestrar 50% dos radicais de DPPH., será calculada plotando-se a porcentagem de DPPH-H versus as concentrações dos extratos de cada amostra (Argolo et al., 2004). Para quantificação dos extrativos 1,00 mL dos extratos foi recolhido e seco num frasco tarado a 105 °C, durante 6

horas, resfriado à temperatura ambiente e pesado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A partir das absorvâncias obtidas para as amostras de ácido gálico em diferentes concentrações conhecidas, foi traçado uma curva de calibração, apresentada na Figura 2. Os valores de fenóis totais encontrados nas amostras são apresentados na Tabela 1.

Figura 2. Curva analítica de calibração para o ácido gálico

Tabela 1. Teor de fenóis totais (mg em equivalente de ácido gálico. 100 g⁻¹ de abacaxi) para a polpa e casca das variedades de abacaxi (pérola e havaiano).

Extrato	Pérola	Havaiano
Aquoso – polpa	99,88	72,53
Aquoso – casca	143,90	140,08
Hidroetanólico – polpa	104,00	62,04
Hidroetanólico – casca	165,47	151,55

Fonte: Autoria Própria

Os valores obtidos indicam a presença de maiores teores de fenóis totais nos extratos da casca do abacaxi em ambas às variedades estudadas. Em trabalho realizado por Ota e colaboradores (2016) foram obtidos valores de 186,93±5,22 mg GAE/100g para o abacaxi-do-cerrado (*Ananas comosus*).

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 a rosaeodora, conhecida como pau-rosa, uma espécie bem explorada e com inúmeras atividades biológicas já descritas (Maia et al., 2007).

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias capazes de controlar a produção de radicais livres ($R\cdot$). O termo antioxidante significa “que impede a oxidação de outras substâncias químicas” decorrente das reações metabólicas e fatores exógenos, como raios ultravioletas (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 et al., 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.

O processo de extração de antioxidantes naturais constitui mecanismo complexo e envolve diversas técnicas, dentre as quais a extração convencional e a supercrítica. Exige controle rigoroso de fatores como a polaridade do solvente utilizado, o tempo e a temperatura de extração, pois pode ocorrer perda ou destruição dos compostos antioxidantes (Andreo e Jorge, 2006).

Vários métodos e técnicas têm sido empregados para determinar a atividade antioxidante in vitro, de modo a aferir uma caracterização e seleção de substâncias e/ou misturas de potencial importância na prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre estes métodos destacam-se o sistema de co-oxidação do β -caroteno/ácido linoléico e o método de seqüestro de radicais livres, tais como DPPH $\cdot$ - 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (Duarte Almeida et al., 2006).

Para o teste realizado com o DPPH, para verificação da atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroetanólico, não foi observado um consumo significativo do reagente DPPH. A leitura foi realizada durante 1 hora, sem que o valor medido sofresse alterações substanciais.

Em estudo realizado por Melo e colaboradores (2008), a capacidade antioxidante do extrato aquoso e acetônico das frutas, foi avaliada no sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico, onde, para o abacaxi a porcentagem de inibição foi menor que 20%.

4. CONCLUSÕES:

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que não foi observada atividade antioxidante nas amostras analisadas, utilizando-se o método de seqüestro de radicais livres DPPH, porém não se pode afirmar que as variedades analisadas não possuem atividade antioxidante, pois não foram testados outros métodos. Maiores estudos necessitam ser realizados para a elucidação da atividade antioxidante em abacaxis.

Os teores de compostos fenólicos totais avaliados nos extratos da casca das duas variedades de abacaxis foram relativamente maiores do que os extratos da polpa. Com base nesses resultados é importante introduzir a casca de abacaxi na alimentação dos seres humanos já que os compostos fenólicos mesmo em pequenas quantidades apresentam ações benéficas para a saúde humana.

5. REFERÊNCIAS:

1. Andreo, D.; Jorge, N. Boletim CEPPA, **2006**, 24, 319.
2. Argolo, A.X.; Santanna A. E.; Pletsch, M.; Coelho, L.C. Bioresource Technology, **2004**, 95, 229.
3. Botterwerck, A. A.; Verhagen, H.; Goldbohm, R. A.; Kleinjans, J.; Brandt, P. A. Food Chemistry Toxicology, **2000**, 38, 599.
4. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. Food Science and Technology, **1995**, 28, 25.
5. Cabral, J. R. S.; Junghans, D. T. EMPRAPA, **2003**.
6. Chang, R. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil, **2000**.

7. Duarte-Almeida, J. M.; Santos, R. J.; Genovese, M. I.; Lajolo, F. M. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **2006**, 26, 446.
8. http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/brasil/abacaxi/b32_abacaxi.pdf, acessada em abril **2019**.
9. http://www.cnpmf.embrapa.br/Base_de_Dados/index_pdf/dados/mundo/abacaxi/w1_abacaxi.pdf, acessada em abril **2019**.
10. Ferreira, E. A.; Siqueira, H. E.; Boas, E. V.; Hermes, V. S.; Rios, A. O. *Rev. Bras. Fruticultura*, **2016**, 38, 01.
11. Lima, A. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Brasil, **2008**.
12. Loureiro, A. P. M.; Di-Mascio, P.; Medeiros, M. H. G. *Quím. Nova*, **2002**, 25, 777.
13. Lima, P. C. C.; Souza, B. S.; Santine, A. T.; Oliveira D. C. *Holos*, **2017**, 02, 122.
14. Lima, V. L. A. G.; Melo, E. A.; Lima, D. E. S. *Scientia Agricola*, São Paulo, **2002**, 59, 447.
15. Leite, B.; Pawlowsky, U. *Nova Técnica*, **2005**, 10, 96.
16. Lima, V. L. A. G. de; Melo, E. A.; Maciel, M. I. S.; Silva, G. S. B.; Lima, D. E. S. *Revista de Nutrição*, **2004**, 17, 53.
17. Maia, J.G.; Andrade, E.H.; Couto H.A.; Silva, A.C.; Henke C. *Quím. Nova*, **2007**, 30, 1906.
18. Naczek, M.; Shahidi, F. *Journal Chromatography*, **2004**, 1054, 95.
19. Ota, K. C. G. G. Santos, N. C. D.; Durigan, G.; Haminiuk, C. W. I.; Branco, I. G. *Resumos do Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Gramado, Brasil, **2016**.
20. Pietta, P.G. *Journal of Natural Products*, 2000, 63, 1035.
21. Pereira, V. R. Dissertação de Graduação, Universidade Federal de Pelotas, Brasil, **2008**.
22. Razavi, S. M.; Nazemiyeh, H.; Hajiboland, R.; Kumarasamy, Y.; Delazar, A.; Nahar, L.; Sarker, S. D. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2008**, 18, 01.
23. Rocha, W. S.; Lopes, R.M.; Silva, D. B.; Vieira, R. F.; Silva, J. P.; Agostine-Costa, T. S. *Revista Brasileira de Fruticultura*, **2011**, 33, 1215.
24. Singleton, V. L.; Rossi, J. A. *Journal for Enology and Viticulture*, **1965**, 16, 144.
25. 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. *Quím. Nova*, **2007**, 30, 351.
26. Sousa, M. S. B.; Vieira, L. M.; Lima, A. *Journal Food Technology*, **2011**, 14, 202.
27. https://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf, acessada em maio **2019**.
28. <http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>, acessada em abril **2019**.
29. Yildirim, A., Kara, A.A. *Food Chemistry*, **2001**, 49, 4083.