

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

Total phenolics and in vitro antioxidant capacity of tropical fruit pulp wastes

Autores | Authors

Mariana Séfora Bezerra SOUSA
Luanne Morais VIEIRA

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí (IFPI)
Curso de Tecnologia em Alimentos
e-mail: marianasefora@yahoo.com.br
luanne.morais@gmail.com

✉ **Alessandro de LIMA**

Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí (IFPI)
Departamento de pesquisa e Produção
Científica
Av. Pedro Freitas, 1020, São Pedro
CEP: 64001-010
Teresina/PI – Brasil
e-mail: alessandro@cefetpi.br

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 17/03/2010
Aprovado | Approved: 01/06/2011

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a concentração dos compostos fenólicos dos resíduos de polpas de frutas tropicais acerola (*Malpighia glabra* L.), goiaba (*Psidium Guayaba* L.), abacaxi (*Ananas comosus* L.), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), bacuri (*Platonia insignis*) e graviola (*Annona muricata* L.), bem como avaliar a sua capacidade antioxidante *in vitro*, pelos métodos de captura de radicais DPPH• e ABTS⁺. Os resultados encontrados demonstraram elevados teores de fenólicos totais para o resíduo da polpa de acerola, com $247,62 \pm 2,08 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de fenólicos totais para o extrato aquoso e $279,99 \pm 3,5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ para o extrato hidroalcoólico ($p < 0,05$). Quanto à atividade antioxidante, avaliada pelo método DPPH, o extrato hidroalcoólico do resíduo de goiaba apresentou a maior atividade antioxidante, com EC₅₀ de $142,89 \pm 4,85 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, seguido pelo extrato hidroalcoólico (EC₅₀ de $308,07 \pm 0,75 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) e aquoso (EC₅₀ de $386,46 \pm 1,41 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) do resíduo de acerola. Avaliando-se a capacidade antioxidante pelo método ABTS, observou-se que o resíduo de polpa de acerola apresentou a mais elevada capacidade antioxidante, com valores TEAC de $0,518 \pm 0,103 \text{ mM} \cdot \text{g}^{-1}$ e $0,743 \pm 0,127 \text{ mM} \cdot \text{g}^{-1}$ de resíduo para os extratos aquoso e hidroalcoólico ($p < 0,05$), respectivamente. Os resíduos de polpas de frutas empregados neste estudo são fontes potenciais de compostos fenólicos, além de possuírem significativa atividade antioxidante *in vitro*; tal atividade varia de acordo com o resíduo estudado, destacando-se os resíduos de acerola e goiaba.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; DPPH; ABTS; fenólicos totais; resíduos agroindustriais.

Summary

The objective of this study was to determine the phenolic compound contents and evaluate the *in vitro* antioxidant capacity of the following extracts from tropical fruit pulp wastes: acerola (*Malpighia glabra* L.), guava (*Psidium Guayaba* L.), pineapple (*Ananas comosus* L.), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), bacuri (*Platonia insignis*), and cherimoya (*Annona muricata* L.) using the DPPH and ABTS⁺ radical capture methodologies. The results showed high levels of phenolic compounds in the aqueous and hydroalcoholic extracts of the acerola pulp wastes, of $247.62 \pm 2.08 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ and $279.99 \pm 3.5 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$, respectively ($p < 0.05$). The antioxidant activity, when measured by the DPPH method, showed that the hydroalcoholic extract of the guava wastes presented the highest values with an EC₅₀ of $142.89 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, followed by the hydroalcoholic and aqueous extracts of the acerola wastes, with EC₅₀ values of 308.07 and $386.46 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. When the antioxidant activity was evaluated by the ABTS method, the acerola pulp wastes showed the highest antioxidant capacity, with TEAC values of 0.518 ± 0.103 and $0.743 \pm 0.127 \text{ mM} \cdot \text{g}^{-1}$ of residue for the aqueous and hydroalcoholic extracts, respectively ($p < 0.05$). Thus, the fruit pulp wastes studied in this work, especially acerola and guava, represented potential sources of phenolic compounds, apart from possessing significant *in vitro* antioxidant capacity, the levels varying according to the residue studied.

Key words: Antioxidant capacity; DPPH; ABTS; Total phenolics; Agro-industrial wastes.

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. et al.

1 Introdução

O Brasil é o terceiro produtor mundial de frutas, com uma produção anual de mais de 43 milhões de toneladas, o que representa 5% da produção mundial. Cerca de 53% da produção brasileira é destinada ao mercado de frutas processadas e 47% ao mercado de frutas frescas (IBRAF, 2009). Os altos índices de produtividade e os resultados comerciais são fatores que demonstram o crescimento desse setor (BELING, 2005). Em resposta a esse avanço, o número de agroindústrias instaladas por todo o Brasil tem aumentado significativamente, gerando um incremento na produção de resíduos agroindustriais, os quais não são utilizados na alimentação humana (LOUSADA JUNIOR et al., 2005). Assim, agregar valor a estes subprodutos é de interesse econômico e ambiental. Dessa forma, é necessária investigação científica e tecnológica que possibilite sua utilização eficiente, econômica e segura (SCHIEBER et al., 2001).

O tipo de resíduo gerado no processamento de polpas de frutas depende da fruta processada, sendo, geralmente, constituído de casca, caroço ou sementes e bagaço. Estes resíduos, apesar de possuírem em sua composição vitaminas, minerais, fibras e compostos antioxidantes, são desperdiçados na maioria das fábricas (LIMA, 2001). Porém, poderiam ser utilizados em novas formulações alimentares, como em biscoitos, bolos e barras de cereais, minimizando o desperdício de alimentos e gerando uma nova fonte alimentar (OLIVEIRA, 2008).

Estudos recentes têm demonstrado que as frutas são ricas em muitos nutrientes e compostos antioxidantes, sendo que esses constituintes se concentram majoritariamente nas cascas e sementes (MELO et al., 2008; COSTA et al., 2000). Vários autores têm associado os efeitos benéficos do consumo regular de frutas, vegetais e grãos à saúde do homem com a presença de substâncias antioxidantes, como os compostos fenólicos, a vitamina C e os carotenoides (KIM et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2006). Os compostos fenólicos constituem uma grande classe de fitoquímicos alimentares e se encontram distribuídos entre as distintas partes das plantas; porém, sua maior concentração está nas frutas, hortaliças e em seus derivados. Sua estrutura química contém pelo menos um anel aromático, o qual está unido a uma (ou mais) hidroxila(s) e, dependendo do número e da posição dessas hidroxilas na cadeia, esses compostos apresentam distintas propriedades de se complexar com os radicais livres, neutralizando-os (KARAKAYA, 2004). Segundo Kuskoski et al. (2005) e Santos et al. (2008), os compostos fenólicos presentes nos vegetais são os principais responsáveis pela atividade antioxidante. A proteção atribuída aos antioxidantes é decorrente da sua ação redutora frente a espécies reativas de oxigênio e

nitrogênio, que são moléculas formadas continuamente durante os processos metabólicos ou são provenientes de fontes exógenas. Quando em excesso, estas espécies reativas podem causar danos celulares e contribuir para o surgimento de doenças cardiovasculares, neurológicas e alguns tipos de câncer (NIKI et al., 2005; PRIOR et al., 1998).

Considerando-se as elevadas taxas de produção de resíduos agroindustriais geradas a partir das frutas e a importância dos antioxidantes para saúde da população, este estudo objetivou quantificar os compostos fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais, com a perspectiva de uma melhor utilização dos mesmos do ponto de vista tecnológico e nutricional, agregando valor aos resíduos e aos seus produtos.

2 Material e métodos

2.1 Material

Os resíduos de polpas de fruta (cascas, sementes e bagaços) foram cedidos por uma indústria produtora de polpa congelada de frutas, localizada na cidade de Teresina-Piauí. Foram coletados de uma única vez 8 kg de resíduo de cada variedade de polpa de fruta, totalizando 48 kg de resíduos agroindustriais, que foram imediatamente transportados em caixas isotérmicas ao Laboratório de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí-IFPI. Estes materiais sofreram quarteamentos sucessivos até a obtenção de cerca de 400 g de cada resíduo, que foram triturados em moinho analítico e armazenados em sacos de polietileno sob congelamento a -18°C , até a realização dos experimentos. Os resíduos de polpas utilizados neste trabalho foram obtidos das seguintes frutas: acerola (*Malpighia glabra* L.), goiaba (*Psidium Guayaba* L.), abacaxi (*Ananas comosus* L.), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), bacuri (*Platonia insignis*) e graviola (*Annona muricata* L.), sendo que todas as análises foram realizadas com o resíduo úmido.

2.1 Métodos

2.1.1 Preparação dos extratos de resíduos de polpa de fruta

Para a preparação dos extratos aquosos de resíduos de polpas de frutas, foram utilizados 100 mL de água destilada e 20 g de resíduo de polpa de fruta; em seguida, foram homogeneizados em frasco Erlenmeyer, usando o agitador magnético durante 1 h à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Depois, a mistura foi centrifugada a 3.000 rpm por 5 min à temperatura ambiente; o sobrenadante foi filtrado utilizando filtro Watman número 04 e armazenado em vidro âmbar sob refrigeração a aproximadamente 5°C , para

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. *et al.*

posterior análise. A preparação do extrato hidroalcoólico seguiu a mesma metodologia, diferenciando-se por usar 80 mL de água destilada e 20 mL de álcool etílico a 95% P.A como solvente (adaptado de LIMA, 2008). Todas as análises foram realizadas até sete dias após a obtenção dos extratos.

2.1.2 Determinação dos compostos fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais seguiu a metodologia descrita por Swain e Hills (1959). Dos extratos aquoso e hidroalcoólico de cada amostra, tomou-se 0,5 mL e adicionaram-se 8 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente *Folin Ciocalteu* (Merck). A solução foi homogeneizada e, após 3 min, acrescentou-se 1 mL de solução saturada de NaCO₃. Decorrida 1 h de repouso, foram realizadas as leituras em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro UV-visível (Coleman 33 D) a 720 nm. Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 2, 5, 10, 15 e 20 µg.mL⁻¹, para construir uma curva de calibração. A partir da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico.100 g⁻¹ de amostra úmida.

2.1.3 Atividade antioxidante *in vitro*

A determinação da atividade antioxidante dos extratos aquosos e hidroalcoólicos foi realizada pelos métodos de captura de radicais DPPH e ABTS⁺.

a) Método de captura de radicais DPPH• (2,2 difenil-1-picril-hidrazil)

Este método tem por base a redução do radical DPPH que, ao fixar um H (removido do antioxidante em estudo), leva a uma diminuição da absorbância. Para a análise das amostras, adicionou-se a 1,5 mL da solução metanólica de DPPH (6 × 10⁻⁵M) uma alíquota de 0,5 mL das amostras contendo diferentes concentrações de cada extrato (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-visível (Coleman 33 D) a 517 nm, após 2, 5, 10 e 20 min do início da reação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (solução de DPPH*). A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi comparada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH, conforme a Equação 1:

$$\text{Ativ. Antiox. (\%)} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}}}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Para o cálculo dos valores de EC50 (concentração do extrato necessária para reduzir 50% do radical DPPH) dos distintos extratos, foi calculada a atividade antioxidante em diferentes concentrações de forma a traçar uma curva linear entre a capacidade antioxidante do respectivo extrato e sua concentração. Esses dados

foram submetidos a uma regressão linear e foi obtida a equação da reta para cálculo do EC50.

b) Método de captura do radical ABTS⁺ [2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico]

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS⁺, usou-se a metodologia descrita por Re *et al.* (1999). Inicialmente, foi formado o radical ABTS⁺, a partir da reação de 7 mM de ABTS com 2,45 mM de persulfato de potássio, que foram incubados à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 h. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorbância de 0,70 nm (±0,01). Para realizar as análises, foram adicionados 40 µL da amostra diluída a 1960 µL da solução contendo o radical. Determinou-se a absorbância em espectrofotômetro UV-visível (Coleman 33 D) a 734 nm após 20 min de reação. Como solução padrão, utilizou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 100 a 1000 mM em etanol. Todas as leituras foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em mM de Trolox por grama de amostra.

2.1.4 Tratamento estatístico

Neste estudo, os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. Para comparação das médias aritméticas, empregaram-se a análise de variância (ANOVA) e o teste Tukey. Adotou-se o nível de significância de 5% de probabilidade (p < 0,05).

3 Resultados e discussão

Os resultados para o teor de fenólicos totais dos resíduos de polpas de frutas analisados encontram-se na Tabela 1, na qual se pode observar que os resíduos de polpas de frutas apresentaram teores variáveis de fenólicos totais. Os extratos aquoso e hidroalcoólico do resíduo de polpa de acerola apresentaram os mais elevados teores

Tabela 1. Concentração de fenólicos totais em resíduos de polpas de frutas.

Resíduo de polpa de fruta	Fenólicos totais (mg GAE.100 g ⁻¹ resíduo de polpa de fruta)	
	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico
Goiaba	24,63 ± 0,29 ^{dA}	46,77 ± 0,20 ^{dB}
Acerola	247,62 ± 2,08 ^{eA}	279,99 ± 3,5 ^{eB}
Abacaxi	8,60 ± 1,45 ^{bA}	9,11 ± 0,99 ^{bA}
Graviola	18,60 ± 0,80 ^{cA}	24,11 ± 0,60 ^{cB}
Bacuri	8,57 ± 0,09 ^{bA}	8,25 ± 0,20 ^{bA}
Cupuaçu	4,66 ± 0,40 ^{aA}	7,38 ± 0,50 ^{aB}

Os valores referem-se à média de três determinações ± desvio padrão; médias seguidas de letras minúsculas diferentes, nas colunas, e maiúsculas diferentes, nas linhas, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. *et al.*

destes constituintes, sendo estatisticamente diferentes dos demais ($p < 0,05$). Em seguida, vem o resíduo de polpa de goiaba com $46,77 \pm 0,20$ e $24,63 \pm 0,29$ mg.100 g⁻¹ de fenólicos totais, para os extratos hidroalcoólico e aquoso, respectivamente. O resíduo de polpa de graviola apresentou valores intermediários de compostos fenólicos totais e os resíduos de bacuri, cupuaçu e abacaxi apresentaram os menores valores desses constituintes.

Os teores de fenólicos totais do resíduo de polpa de acerola determinados neste estudo, apesar de terem sido quantificados no resíduo úmido, foram superiores aos relatados por Oliveira (2008), que analisou o conteúdo total de fenóis dos extratos metanólicos das farinhas de resíduos secos de acerola, maracujá e abacaxi, e encontrou $94,6 \pm 7,4$, $41,2 \pm 4,2$ e $9,1 \pm 1,3$ mg de equivalentes de ácido gálico.100 g⁻¹ de resíduo, respectivamente. No trabalho conduzido por Kuskoski *et al.* (2005), os quais analisaram os teores de fenólicos totais em polpas de frutas úmidas, encontraram-se $83,1$ mg.100 g⁻¹ na polpa de goiaba (*Psidium guayava*), $21,7$ mg.100 g⁻¹ na polpa de abacaxi (*Ananas sativa*) e $84,3$ mg.100 g⁻¹ na polpa de graviola (*Anona muricata*). Nesse contexto, pode-se observar que os teores de compostos fenólicos encontrados nos resíduos úmidos são inferiores aos valores encontrados nas respectivas polpas.

Pérez-Jimenez *et al.* (2008) ressaltam que, para a eficiência do processo de extração, deve-se utilizar uma extração exaustiva, utilizando-se soluções de solventes aquosos, com diferentes polaridades, de modo a extrair compostos com diferentes estruturas químicas. Comparando-se a eficiência do solvente de extração, a partir da Tabela 1, pode-se ainda constatar que a solução hidroalcoólica (80:20), água:álcool etílico, apresentou melhor poder extrator para compostos fenólicos dos resíduos de polpas de frutas de goiaba, acerola, graviola e cupuaçu ($p < 0,05$), se comparada com a água pura. Resultados semelhantes foram observados por Caetano *et al.* (2009), que realizaram a extração de compostos fenólicos totais em resíduo seco de acerola e observaram que a solução hidroetanólica (80%) extraiu maior quantidade de compostos ($p < 0,05$) que a solução aquosa.

Atualmente, não existe um método oficial para determinação da atividade antioxidante em alimentos de origem vegetal e seus subprodutos, tendo em vista os vários mecanismos antioxidantes que podem ocorrer, bem como a diversidade de compostos bioativos. A literatura descreve vários métodos antioxidantes, cada um com um princípio distinto que utilizam radicais livres e/ou padrões diversos. Dessa forma, os estudos que visam avaliar propriedades antioxidantes de extratos vegetais utilizam mais de uma metodologia para inferir, com maior segurança, se os extratos analisados poderão apresentar

também alguma atividade em combater os radicais livres formados no interior do organismo humano.

Entre as metodologias que têm sido utilizadas, destacam-se as que utilizam os radicais livres sintéticos DPPH e ABTS⁺, pela facilidade de execução e pela boa correlação com as demais metodologias antioxidantes. Neste contexto, Vedana *et al.* (2008) encontraram uma correlação positiva para a atividade antioxidante de extratos aquosos e hidroalcoólicos de uvas, da cultivar Isabel, quando avaliados pelos métodos do DPPH e ABTS⁺. Entretanto, essa regra não é geral para todos os antioxidantes, pois Villaño *et al.* (2006), constataram que os ácidos fenólicos síringico, vanílico e p-cumárico, e a procianidina B3 não reagem com o radical ABTS⁺; entretanto, apresentam elevada atividade antioxidante pelo método DPPH.

Na Tabela 2, consta a atividade antioxidante determinada pelo ensaio DPPH. Os resultados estão expressos em EC50 (µg.mL⁻¹), que corresponde à quantidade de extrato necessária para reduzir o radical DPPH em 50%; assim, quanto menor o EC50, melhor é a capacidade antioxidante do extrato. Todos os extratos dos distintos resíduos de polpas de frutas apresentaram atividade em sequestrar o radical livre DPPH. O extrato hidroalcoólico do resíduo de goiaba apresentou a maior atividade antioxidante com valores de EC50 de $142,89 \pm 4,85$ µg.mL⁻¹, seguido pelo extrato hidroalcoólico (EC50 de $308,07 \pm 0,75$ µg.mL⁻¹) e pelo extrato aquoso (EC50 de $386,46 \pm 1,41$ µg.mL⁻¹) do resíduo de acerola. Melo *et al.* (2008), avaliando a capacidade antioxidante de frutas *in natura* pelo método de captura de radicais DPPH*, classificou as frutas em: forte poder antioxidante, quando degradavam acima de 70% dos radicais DPPH, incluindo a acerola nesta categoria; moderado poder antioxidante, quando degradavam entre 50 e 70% dos radicais DPPH, e de fraca atividade antioxidante, quando degradavam menos de 50% dos radicais DPPH, incluindo a goiaba nesta última categoria. Sabe-se que o resíduo da goiaba se constitui predominantemente de sementes, e, segundo

Tabela 2. Capacidade antioxidante, expressa como EC50, dos extratos aquoso e hidroalcoólico de resíduos de polpas de frutas, utilizando o radical livre DPPH.

Resíduo de polpa de fruta	EC50 (µg.mL ⁻¹ de extrato)	
	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico
Goiaba	$556,39 \pm 6,36^c$	$142,89 \pm 4,85^a$
Acerola	$386,46 \pm 1,41^b$	$308,07 \pm 0,75^b$
Abacaxi	$7486,5 \pm 8,48^e$	$3293,92 \pm 9,89^f$
Graviola	$978,09 \pm 3,53^d$	$612,37 \pm 2,82^d$
Bacuri	$7528,0 \pm 5,65^e$	$2.506,6 \pm 4,23^e$
Cupuaçu	$325,21 \pm 2,12^a$	$554,87 \pm 2,27^c$

Os valores referem-se à média de três determinações \pm desvio padrão; e médias na mesma coluna, seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. *et al.*

Jardini e Mancini Filho (2007), em muitos frutos os compostos antioxidantes se localizam majoritariamente nas sementes.

Os extratos aquosos dos resíduos de polpa de abacaxi ($EC_{50} 7486,5 \pm 8,48 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e bacuri ($EC_{50} 7528,0 \pm 5,65 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentaram as menores atividades antioxidantes ($p < 0,05$). Oliveira (2008) observou que, na concentração de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, a farinha de resíduo de abacaxi possui atividade antioxidante inferior a 25%, enquanto que a farinha de resíduo de acerola apresenta atividade de 81,6% na mesma concentração.

Nas Figuras 1 a 12 podem ser visualizadas as curvas cinéticas de degradação do radical DPPH^{*} pelos diferentes extratos, em diferentes concentrações, dos

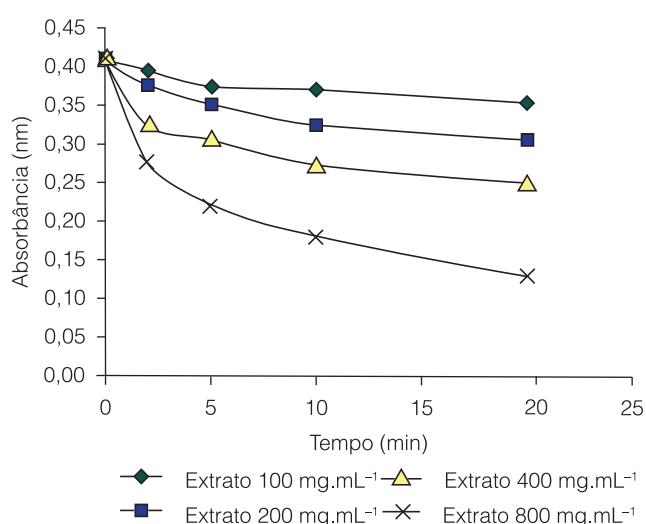


Figura 01. Cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso do resíduo de polpa de goiaba pelo método de DPPH.

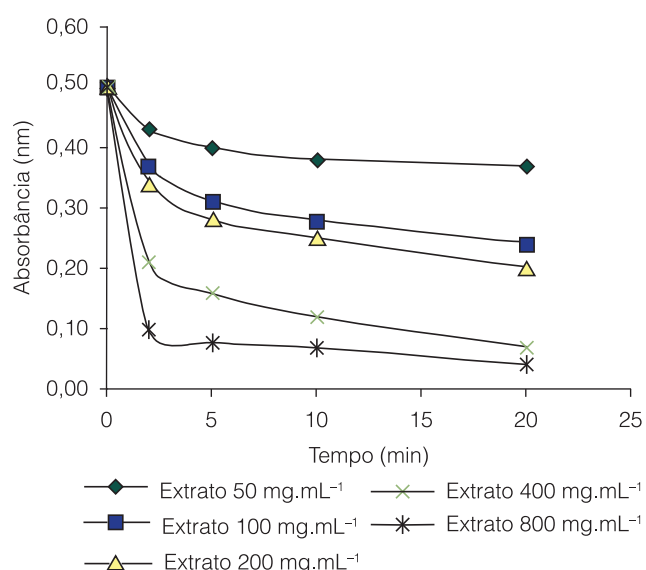


Figura 02. Cinética do potencial antioxidante do extrato hidroalcolóico do resíduo de polpa de goiaba pelo método de DPPH.

resíduos das polpas de frutas avaliados neste estudo. Cada extrato possui um comportamento distinto de acordo com a concentração testada. Os extratos de resíduo de acerola e goiaba apresentaram uma forte capacidade antioxidante nos primeiros 5 min de reação, com expressiva redução do radical DPPH. Os extratos de graviola e cupuaçu apresentaram moderada capacidade de sequestro do radical DPPH^{*}, ao longo do tempo da reação. Diferentemente, os extratos de bacuri e abacaxi exibiram baixa capacidade de redução do radical DPPH^{*} durante os 20 min de reação.

A capacidade antioxidante dos resíduos de polpas de frutas também foi avaliada pelo método de captura do radical ABTS⁺. Segundo Awika *et al.* (2003), o ABTS⁺ pode

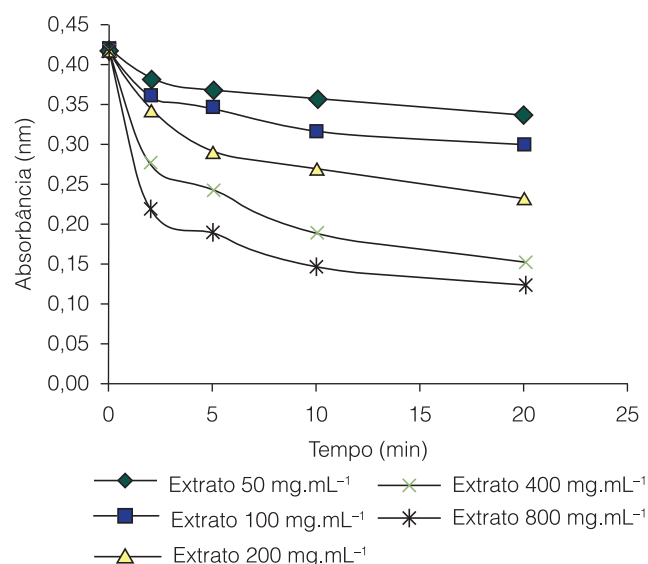


Figura 03. Cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso do resíduo de polpa de acerola pelo método de DPPH.

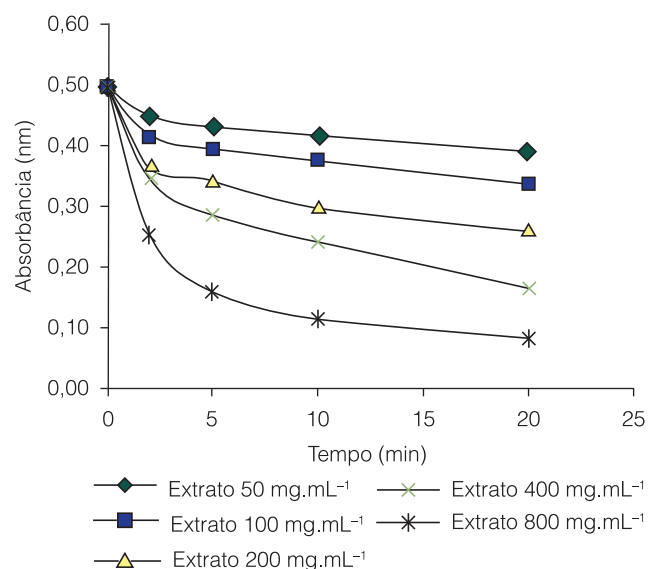


Figura 04. Cinética do potencial antioxidante do extrato hidroalcolóico do resíduo de polpa de acerola pelo método de DPPH.

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. et al.

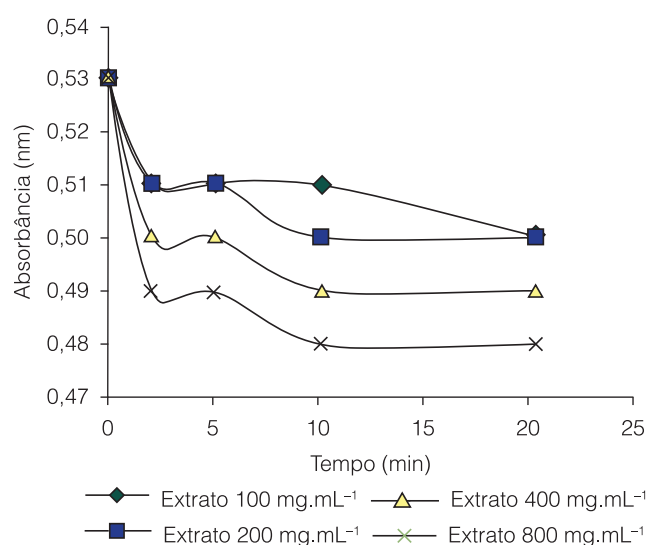


Figura 05. Cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso do resíduo de polpa de abacaxi pelo método de DPPH.

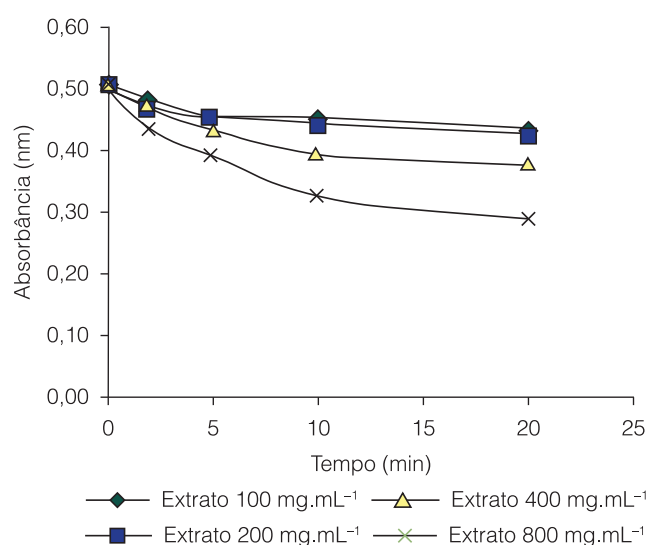


Figura 07. Cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso do resíduo de polpa de graviola pelo método de DPPH.

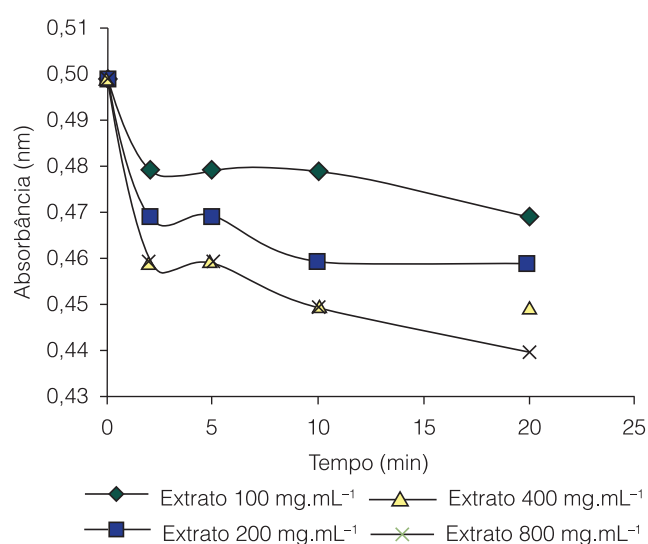


Figura 06. Cinética do potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico do resíduo de polpa de abacaxi pelo método de DPPH.

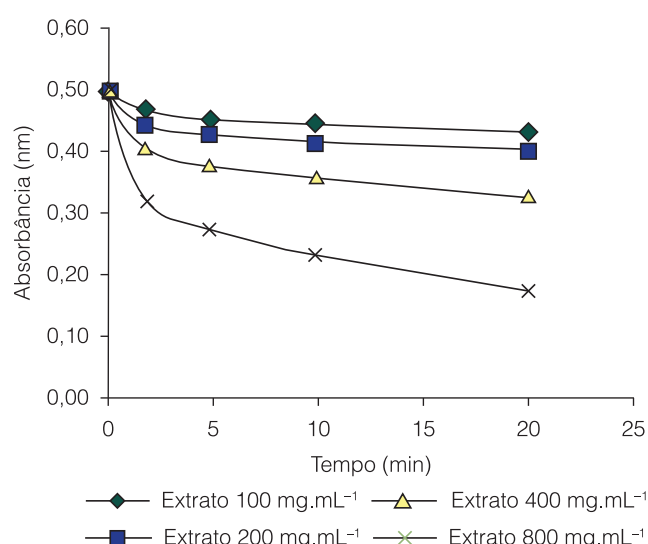


Figura 08. Cinética do potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico do resíduo de polpa de graviola pelo método de DPPH.

ser usado para soluções com diferentes valores de pH, bem como para o estudo da influência do pH nos mecanismos antioxidantes. É solúvel em solventes aquosos e orgânicos, e não é afetado por força iônica; assim, pode ser usado para determinar a capacidade antioxidante de extratos e fluidos corpóreos, hidrofílicos e lipofílicos.

Os resultados da atividade antioxidante pelo ensaio ABTS⁺ estão expressos como valor TEAC (capacidade antioxidante total do composto equivalente ao Trolox) (Tabela 3), que é definido como a concentração de Trolox que apresenta o mesmo percentual de inibição que uma concentração de 1 mM do composto de referência. Assim, quanto maior o valor TEAC, mais forte é o potencial antioxidante.

O resíduo de polpa de acerola apresentou a mais elevada capacidade antioxidante, com valores TEAC de $0,518 \pm 0,103$ e $0,743 \pm 0,127$ mM.g⁻¹ de resíduo para os extratos aquoso e hidroalcoólico, respectivamente, valores estes estatisticamente diferentes dos demais ($p < 0,05$). Já o extrato aquoso do resíduo de bacuri apresentou o menor valor TEAC ($0,0735 \pm 0,009$ mM.g⁻¹ de resíduo de polpa), ou seja, exibiu a menor capacidade antioxidante frente ao radical ABTS⁺. Não houve diferença estatística entre os resíduos aquosos de abacaxi, graviola, cupuaçu e goiaba. Quanto aos extratos hidroalcoólicos, destacaram-se, também, os resíduos de goiaba e de cupuaçu, com TEAC de $0,421 \pm 0,052$ mM.g⁻¹ de resíduo e $0,240 \pm 0,071$ mM.g⁻¹ de resíduo, respectivamente. Resultados semelhantes aos

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. et al.

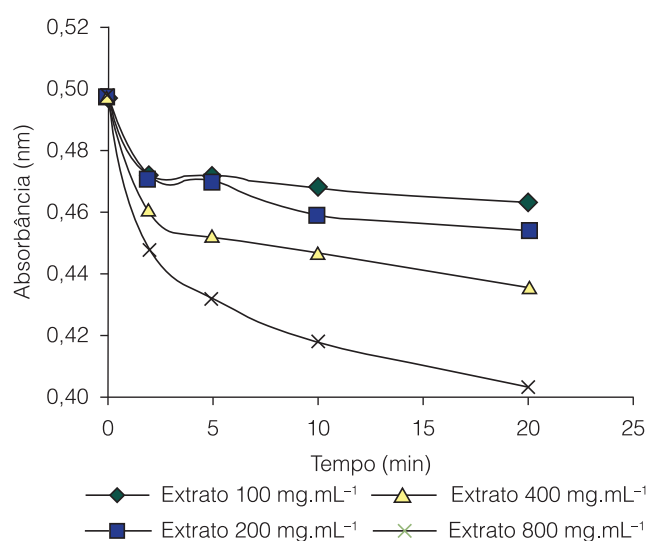


Figura 09. Cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso do resíduo de polpa de bacuri pelo método de DPPH.

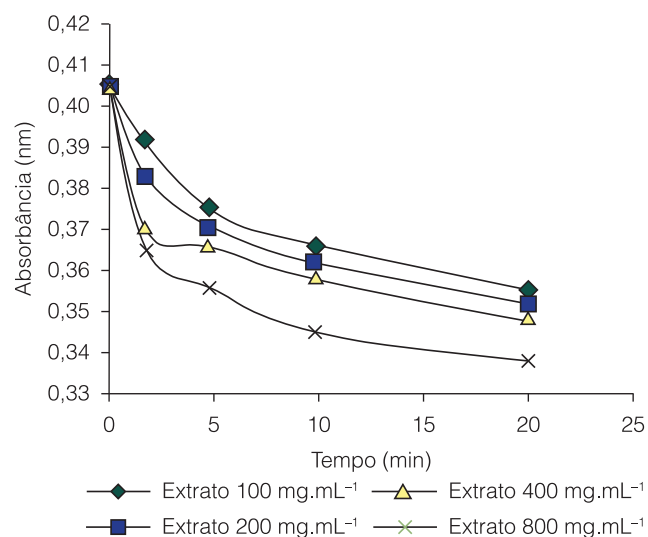


Figura 10. Cinética do potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico do resíduo de polpa de bacuri pelo método de DPPH.

encontrados neste estudo para o extrato hidroalcoólico da acerola foram encontrados por Sellapan et al. (2002), que quantificaram um valor TEAC de $0,8 \text{ mM.g}^{-1}$ para o fruto mirtilo. Já Villaño et al. (2006) encontraram um valor TEAC de $0,67 \text{ mM.mL}^{-1}$ para os vinhos brancos e de $6,93 \text{ mM.mL}^{-1}$ para os vinhos tintos. A partir desses resultados, constata-se que a atividade antioxidante *in vitro* dos resíduos de polpas de frutas utilizados nesse estudo pode ser comparada a de alimentos com reconhecida atividade antioxidante.

Comparando-se os resultados das Tabelas 2 e 3, observou-se que, apesar de os resíduos avaliados apresentarem atividade antioxidante pelos dois métodos empregados, o comportamento dos extratos foi distinto de acordo com a metodologia utilizada. O extrato

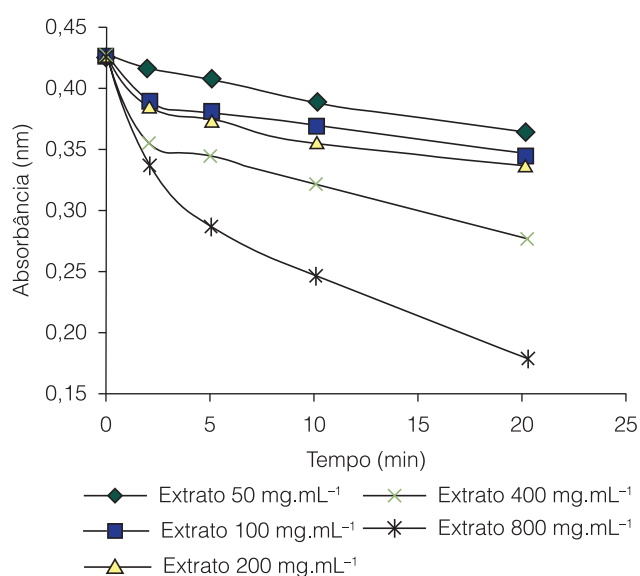


Figura 11. Cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso do resíduo de polpa de cupuaçu pelo método de DPPH.

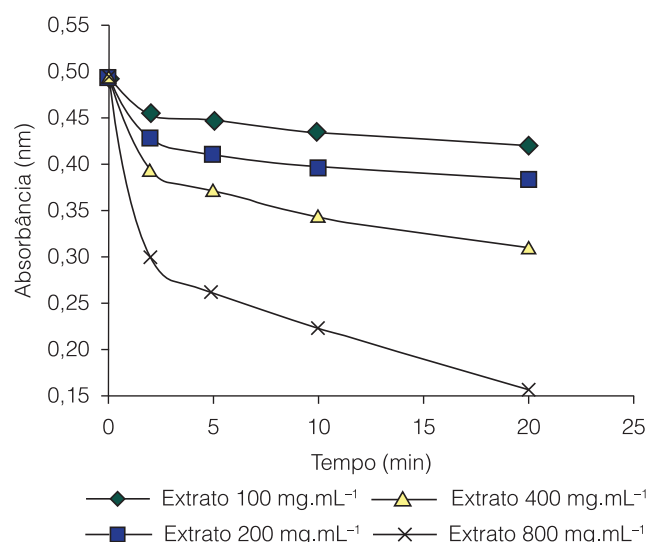


Figura 12. Cinética do potencial antioxidante do extrato hidroalcoólico do resíduo de polpa de cupuaçu pelo método de DPPH.

Tabela 3. Valor TEAC (Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao Trolox) pelo método ABTS⁺ para os extratos aquoso e hidroalcoólico dos resíduos de polpa de fruta úmida.

Resíduo de polpa de fruta	Valor TEAC (mM.g^{-1} de resíduo de polpa)	
	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico
Goiaba	$0,148 \pm 0,015^b$	$0,421 \pm 0,052^d$
Acerola	$0,518 \pm 0,103^a$	$0,743 \pm 0,127^e$
Abacaxi	$0,110 \pm 0,017^b$	$0,090 \pm 0,002^a$
Graviola	$0,115 \pm 0,023^b$	$0,136 \pm 0,061^{b,c}$
Bacuri	$0,0367 \pm 0,005^c$	$0,0735 \pm 0,009^a$
Cupuaçu	$0,177 \pm 0,048^c$	$0,240 \pm 0,071^{c,d}$

Os valores referem-se à média de três determinações \pm desvio padrão; e médias na mesma coluna, seguidas de letras diferentes, diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais

SOUSA, M. S. B. et al.

hidroalcoólico do resíduo de goiaba apresentou maior atividade antioxidante pelo método DPPH, enquanto que, pelo método ABTS⁺, o extrato hidroalcoólico do resíduo de acerola foi o que apresentou maior capacidade antioxidante. Já o extrato hidroalcoólico do resíduo de graviola apresentou comportamento semelhante pelas duas metodologias testadas, pois apresentou valores de atividade antioxidante inferiores aos extratos hidroalcoólicos dos resíduos de acerola e de goiaba, e superiores aos dos extratos hidroalcoólicos dos resíduos de bacuri e abacaxi. Comportamento semelhante foi encontrado para o extrato aquoso do resíduo de bacuri, que apresentou menor atividade antioxidante pelas duas metodologias utilizadas.

Alguns estudos também verificaram essas diferenças. Floegel et al. (2011), ao avaliarem o potencial antioxidante de 18 frutas, 13 legumes e 19 bebidas consumidas nos Estados Unidos, constataram que a capacidade antioxidante detectada pelo ABTS⁺ foi significativamente maior para os frutos, legumes e bebidas em comparação com o ensaio DPPH. Segundo os autores, os antioxidantes hidrofílicos e de alta pigmentação foram melhor refletidos pelo ensaio ABTS⁺, sugerindo que este método pode ser mais útil do que o método de DPPH* para a detecção da capacidade antioxidante em uma variedade de alimentos. Leong e Shui (2002), ao correlacionarem a capacidade antioxidante de frutas comercializadas em Singapura pelos ensaios ABTS⁺ e DPPH, reportaram uma boa correlação ($r = 0.9045$) entre a atividade antirradical livre em apenas 11 das 27 frutas analisadas. Já Thaipong et al. (2006), ao analisarem a atividade antioxidante de extratos metanólicos de goiaba pelos ensaios ABTS⁺ e DPPH, encontraram correlação significativa ($p = 0,85$) entre estes dois métodos.

4 Conclusões

Os resíduos de polpas de acerola e goiaba exibiram as maiores concentrações de compostos fenólicos totais. Todos os extratos exibiram ação antioxidante, com destaque para os extratos de polpa de acerola e goiaba, os quais se mostraram mais eficientes em sequestrar os radicais livres DPPH e ABTS.

Frente a esses resultados, os resíduos de polpas de frutas podem ser apontados como fontes promissoras de antioxidantes naturais, podendo ser utilizados como ingredientes na formulação de outros alimentos industrializados e diminuindo, dessa forma, a contaminação ambiental que o excesso desses resíduos vem causando.

Referências

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W.; WU, X.; PRIOR, R. L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Screening methods to measure antioxidant activity

of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 23, p. 6657-6662, 2003. PMID:14582956. <http://dx.doi.org/10.1021/jf034790i>

BELING, R. R. **Anuário Brasileiro de Fruticultura**. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2005. 136p.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, London, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.

CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. G.; ARAÚJO, C. R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. **Braslian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 155-160, 2009. <http://dx.doi.org/10.4260/BJFT2009800900006>

COSTA, R.P.; MENENDEZ, G.; BRICARELLO, L.P.; ELIAS, M.C.; ITO, M. Óleo de peixe, fitosteróis, soja e antioxidantes: impactos nos lipídios e aterosclerose. **Revista da Sociedade de Cardiologia**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 819-832, 2000.

FLOEGEL, A.; DAE-OK, K.; SANG-JIN, C.; SUNG, I. K.; OCK, K. C. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, Netherlands, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS – IBRAF. **Frutas brasileiras em ascensão**. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/imprensa/0901_FrutasBrasileirasAscensao.asp>. Acesso em: 15 ago. 2009.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 137-147, 2007.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolics compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 44, n.6, p. 453-464, 2004. PMID:15615428. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690490886683>

KIM, Y.; GIRAUD, D. W.; DRISKELL, J. A. Tocopherol and carotenoid contents of selected Korean fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, Netherlands, v. 20, n. 6, p. 458-465, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2007.02.001>

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, G. A.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>

LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, Oxford,

Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicaisSOUSA, M. S. B. *et al.*

v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00251-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00251-5)

LIMA, A. **Caracterização Química, Avaliação da Atividade Antioxidante In Vitro e In Vivo e Identificação dos Compostos Fenólicos Presentes no Pequi (Caryocar Brasiliense Camb.)**. 2008. 186 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

LIMA, L. M. O. **Estudo do Aproveitamento dos Bagaços de Frutas Tropicais, Visando a Extração de Fibras**. 2001. 108 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal.

LOUSADA JUNIOR, J. E.; NEIVA, J. N. N.; RODRIGUEZ, N. M.; PIMENTEL, J. C. M. P., LÔBO, R. N. B. Consumo e Digestibilidade de Subprodutos do Processamento de Frutas em Ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 34, n. 2, p. 659-669, 2005.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. A. G. L.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 193-201, 2008.

NIKI, E.; YOSHIDA, Y.; SAITO, Y.; NOGUCHI, N. Lipid peroxidation: Mechanisms, inhibition, and biological effects. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Califórnia, v. 338, n. 1, p. 668-676, 2005.

OLIVEIRA, A. C. **Capacidade Antioxidante de Farinhas de Resíduos de Frutas Tropicais**. 2008. 108 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde)-Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

PÉREZ-JIMENEZ, J.; ARRANZ, S.; TABERNERO, M. ; DÍAZ-RUBIO, M. E.; SERRANO, J.; GONI, I.; SAURA-CALIXTO, F. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant, food, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, Toronto, v. 41, n. 3, p. 274-285, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.004>

PRIOR, R. L.; CAO, G.; MARTIN, A.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, C. M. Antioxidant capacity as influenced by total phenolics and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 7, p. 2686-2693, 1998. <http://dx.doi.org/10.1021/jf980145d>

RE, R.; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M.C.FIGUEIREDO, R. W. PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açai (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. Byproducts of plant food processing as a source of functional compounds: recent developments. **Trends Food Science Technology**, Cambridge, v. 12, n. 11, p. 401-413, 2001. PMID:21299575. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00012-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00012-2)

SELLAPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolics Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 8, p. 2432-2438, 2002. PMID:11929309. <http://dx.doi.org/10.1021/jf011097r>

SWAIN, T.; HILLS, W. E. The phenolic constituents of *Punns domestica*. I. Quantitative analysis of phenolics constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 19, n. 1, p. 63-68, 1959. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.2740100110>

THAIPONG, K.; BOONPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, Netherlands, v. 19, n. 6-7, p. 669-675, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>

VASCONCELOS, S. M. L.; SILVA, A. M.; GOULART, M. O. F. Pró-antioxidantes e antioxidantes de baixo peso molecular oriundos da dieta: estrutura e função. **Nutrire**, São Paulo, v. 31, n. 3, p. 95-118, 2006.

VEDANA, M. I. S.; ZIEMER, C.; MIGUEL, O. G.; PORTELLA, A. C.; CANDIDO, L. M. B. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 2, p. 159-165, 2008.

VILLAÑO, D.; FERNANDEZ-PCHÓN, M. S.; TRONCOSO, A. M.; GARCIA-PARRILLA, M. C. Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines. **Food Chemistry**, Oxford, v. 95, n. 3, p. 394-404, 2006.