

CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E FENÓLICOS TOTAIS DE MAXIXE (*Cucumis anguria* L.)

**Denise Vilela PEREIRA; Angélica Veloso FERREIRA, Fátima Lidiane Viana da SILVA,
Francelina Ferreira do NASCIMENTO; Gildália Craveiro RODRIGUES; Jurandir do
Nascimento SILVA; Luanne Morais VIEIRA; Alessandro de LIMA (1);**

(1) Instituto Federal do Piauí (IFPI), Campus Teresina Zona Sul Prof. Marcílio Rangel. Avenida Pedro Freitas, 1020, São Pedro, Teresina PI, CEP: 64000-000, e-mail: alessandro@cefetpi.br

(2) Universidade Federal do Piauí – UFPI, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella - Bairro Ininga - Teresina – PI CEP: 64049-550, e-mail: luanne.morais@gmail.com

RESUMO

O objetivo desse estudo foi quantificar o teor de fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante *in vitro* nos extratos aquosos e etanólicos do maxixe (*Cucumis anguria* L.). Os extratos foram obtidos de forma sequencial, utilizando 20 g de maxixe previamente triturado e 100 mL de solvente (água e álcool). A determinação dos fenólicos totais foi pelo método de Folin-Ciocalteu, utilizando-se como padrão o ácido gálico e a atividade antioxidante *in vitro* pelo método de captura de radicais livres: DPPH (radical 1,1-diphenil-2-picrilhidrazil) e ABTS (radical 2,2'azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid). Os teores de fenólicos totais foram de $1,42 \pm 0,21$ e $4,42 \pm 0,95$ mg ácido gálico/ 100 g fruto nos extrato aquoso e etanólico, respectivamente. Já para a atividade antioxidante utilizando o radical DPPH os extratos aquosos e etanólicos apresentaram uma proteção do radical de 22% e 19%, respectivamente na concentração de 400 mg/mL e de 38 % e 35% na concentração de 800mg/mL. Quanto a atividade antioxidante utilizando o radical ABTS os valores TEAC foram de 6,1 e 18,0 mM Trolox/100g de maxixe para os extratos aquoso e etanólico. Demonstrando, dessa forma, que o maxixe possui compostos com propriedades de combater os radicais livres e seu consumo associado a uma dieta saudável trará benefícios a saúde da população.

Palavras-chave: maxixe, antioxidante, compostos bioativos, fenólicos.

1 INTRODUÇÃO

O maxixe (*Cucumis anguria* L.) é uma cultura de origem africana, bastante cultivada no norte e nordeste do Brasil. As populações brasileiras caracterizam-se pela produção de frutos sem sabor amargo e com variações quanto à espiculosidade e ao tamanho, geralmente com peso médio de 30 g. Sua forma de consumo está associada à culinária tradicional do nordeste, onde o fruto maduro é cozido com outros ingredientes, originando o prato típico denominado "maxixada". Apesar de não ser habitual, essa hortaliça também pode ser consumida *in natura* na forma de salada, substituindo com vantagem o pepino por ser menos indigesta. Sua maior potencialidade seria para o segmento de consumo em conserva na forma de pickles (MADOLO, 2003).

A sazonalidade e a forma de cultivo mostram-se como fatores restritivos ao consumo dessa hortaliça por indisponibilizá-la para mercado em qualquer época do ano e para qualquer região do país. Sabe-se que o maxixe é um produto consumido cozido ou cru, no entanto, de acordo com MODOLO e COSTA (2003), apresenta um potencial para aproveitamento na elaboração de conserva.

A constatação de que os vegetais possuem substâncias biologicamente ativas que trazem benefícios à saúde ou efeitos fisiológicos desejáveis tem impulsionado estudos sobre a sua propriedade antioxidante. O efeito antioxidante de vegetais foi, inicialmente, evidenciado por CHIPAULT *et al.* (1952) que avaliaram a ação de 32 especiarias, das quais o alecrim e a sálvia foram consideradas as mais eficazes. Posteriormente, pesquisadores constataram esta ação na soja e produtos de soja, na canela, no espinafre e repolho, na maçã, no coentro, entre outros.

Pesquisas recentes têm demonstrado que compostos fenólicos além de atuarem na captura dos radicais livres, podem estar envolvidos em outros mecanismos fisiológicos que estimulam a atividade das enzimas antioxidantes ou como sinalizadoras celulares que ativam e/ou inibem a expressão de algumas enzimas relacionadas com o processo cancerígeno (SHAHIDI, 2007). Desta forma, são de grande importância trabalhos que quantifiquem esses compostos em alimentos.

O maxixe é muito apreciado nas regiões norte e nordeste, contudo, estudos sobre suas propriedades nutricionais e sensoriais, bem como ao seu aproveitamento agroindustrial, são praticamente inexistentes e os que estão disponíveis referem-se à caracterização agrônômica desta hortaliça. Sendo necessária a caracterização da sua funcionalidade, diante disso, o objetivo do estudo foi quantificar o teor de fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante *in vitro* pelo método de captura de radicais livres.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

No organismo humano, a atividade metabólica normal produz constantemente radicais livres. Estas moléculas, geradas *in vivo*, reagem com DNA, RNA, proteínas e outras substâncias oxidáveis, promovendo danos que podem contribuir para o envelhecimento e a instalação de doenças degenerativas, como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras. A autooxidação dos ácidos graxos insaturados, componente da membrana celular, é apontada por como o processo oxidativo que ocorre mais frequentemente no organismo humano (MELO, 2006).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição a fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes. O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes que resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres tem sido chamado de estresse oxidativo. A defesa antioxidante é constituída principalmente pelas vitaminas A, C e E, e das enzimas catalase (CAT), glutatona reduzida (GSH), glutatona peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD) (TAVARES, 2000; BARREIROS et al., 2006).

Antioxidantes são substâncias capazes de inibir a oxidação, diminuindo a concentração dos radicais livres no organismo e/ou quelando íons metálicos, prevenindo a peroxidação lipídica. Entre os antioxidantes não-enzimáticos que têm recebido maior atenção por sua possível ação benéfica ao organismo, estão a vitamina C (ácido ascórbico) e E (tocoferol), os carotenóides e os flavonóides (PIENIZ, 2009).

Recentemente, há um aumento no interesse em antioxidantes naturalmente encontrados em frutos e hortaliças para uso em fitoterápicos, a fim de substituí-los pelos antioxidantes sintéticos, os quais têm uso restrito devido a seus efeitos colaterais, tais como carcinogenicidade. Além disso, os antioxidantes naturais possuem a capacidade de melhorar a qualidade e a estabilidade dos alimentos, agirem como nutracêuticos e proporcionar, ainda, benefícios adicionais à saúde dos consumidores (CATANEO, 2008).

Sabe-se que as hortaliças são fontes importantes de diversos compostos antioxidantes como vitamina C, compostos fenólicos, vitamina E e carotenóides. Esta é uma das razões porque o consumo de frutas e hortaliças vem sendo continuamente incentivado. A eficácia da ação antioxidante dos componentes bioativos depende de sua estrutura química e da concentração destes fitoquímicos no alimento, cujo teor é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação, variedade da planta, entre outros (CAMPOS, 2008; MELO, 2009).

As hortaliças são, muitas vezes, consumidas na forma crua. Mas há situações em que a cocção é necessária ou ainda preferida. Neste caso, o conteúdo e a capacidade antioxidante desses vegetais podem ser alterados. Estudos apontaram diferentes consequências da armazenagem e processamento sobre as propriedades antioxidantes de alimentos, como: perda de antioxidantes naturalmente presentes, melhora da capacidade antioxidante de compostos naturalmente presentes, formação de novos compostos com atividade antioxidante ou pró-oxidante ou, ainda, nenhuma mudança na concentração de antioxidantes naturalmente presentes (CAMPOS, 2008).

3 METODOLOGIA, RESULTADOS, ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

3.1 Material

As amostras de maxixe (*Cucumis anguria* L.) foram adquiridas em feiras livres de Teresina PI. As hortaliças foram transportadas para o Laboratório de Alimentos do Instituto Federal do Piauí – IFPI, onde foram armazenadas sob congelamento a -18 °C até o momento das análises.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparação dos extratos de maxixe

Os extratos do maxixe foram obtidos utilizando água destilada e álcool etílico P.A (98%) para a obtenção do extrato aquoso e etanólico.

Para a preparação dos extratos aquosos de maxixe, foram utilizados 100 mL de água destilada e 20 g da hortaliça, em seguida, foram homogeneizados em erlenmeyer usando o agitador magnético durante 1 hora. Depois, a mistura foi centrifugada a 3.500 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi armazenado em vidro âmbar sob refrigeração a ± 8 °C até o momento das análises. A preparação do extrato etanólico seguiu a mesma metodologia, o diferencial foi o solvente extrator, onde foi utilizado álcool etílico 98%.

3.2.2 Determinação de fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais seguiu a metodologia descrita por SWAIN e HILLS (1959). Do extrato aquoso e alcóolico de cada amostra, tomou-se 0,5 mL em tubo de ensaio e adicionaram-se 8 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin Ciocalteu. A solução foi homogeneizada e, após 3 min, acrescentou-se 1 mL de solução saturada de NaCO₃. Decorrida 1 hora de repouso, foram realizadas as leituras em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro (Coleman 33 D) a 720 nm. Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 2, 5, 10, 15 e 20 µg/mL 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 de amostra

3.2.3 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, adicionaram-se a 1,5 mL da solução metanólica de DPPH[•] (6x10⁻⁵M) uma alíquota de 0,5 mL das amostras contendo diferentes concentrações de cada extrato. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Coleman 33 D) a 517 nm, após 2, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 do início da reação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante). A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH[•]. Permitindo calcular, após o estabelecimento do equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir 50 % do radical DPPH[•] (valor EC₅₀) (BRAND-WYLLIANS et al, 1995).

3.2.4 Método 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, os quais foram incubados à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorbância de 0,70 ($\pm 0,01$). 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 (Coleman 33 D) a 734 nm, após 2, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos de reação. Como solução padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 100 a 1000 µM em etanol. Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em mM de Trolox por grama de amostra.

3.3 Resultados e discussão

Os teores de fenólicos totais dos extratos aquoso e etanólico foram de $1,42 \pm 0,21$ e $4,42 \pm 0,95$ mg ácido gálico/ 100 g hortaliça, respectivamente, estando apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Teores de fenólicos totais (expressos em equivalente de ácido gálico) de maxixe em mg/100g de hortaliça.

| Extrato de maxixe | Fenólicos Totais (mg ácido gálico/ 100 g hortaliça) |
|-------------------|--|
| Extrato aquoso | 1,42 ± 0,21 |
| Extrato etanólico | 4,42 ± 0,95 |

Segundo Carvalho (2007), a maior parte dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares. Observa-se que os compostos fenólicos do maxixe são extraídos em maior proporção quando se utiliza álcool em relação a água.

Na tabela 2 é observada a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico do maxixe pelos radicais livres DPPH. A partir dessa tabela consta-se que o extrato etanólico possui um maior poder de combater os radicais livres que o extrato aquoso, demonstrando uma correlação positiva entre o teor de fenólicos totais a atividade antioxidante por este teste. LIMA (2008) ao avaliar o extrato aquoso e etanólico de pequi encontrou valores superiores ao detectado neste estudo. Já MELO *et al*, 2006 ao avaliarem extrato aquoso de chuchu e pepino encontraram valores de proteção de 9,80% e 15,2%, portanto inferiores ao encontrados para o maxixe.

Tabela 2 – Atividade antioxidante pelo método do de captura de radicais DPPH, expressos em percentual de proteção do radical dos extratos aquoso e alcoólico de maxixe.

| Extrato | Concentração (µg/mL) | % de Proteção |
|-----------|-------------------------|---------------|
| aquoso | 400 | 22,0 |
| | 600 | 25,1 |
| | 800 | 27,0 |
| etanólico | 400 | 19,0 |
| | 200 | 32,1 |
| | 100 | 35,0 |

Na tabela 3 são observados a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico do maxixe pelo radicais livres ABTS, Consta-se que houve um comportamento semelhante ao método do DPH, pois o extrato etanólico apresentou uma maior capacidade antioxidante em relação ao extrato aquoso. Os valores encontrado neste estudo foram próximos aos encontrados por KUSKOSKI, *et al*, 2006 que encontraram valores TEAC de 15,0 para extratos etanólicos do fruto jambolão.

Tabela 3 – Atividade antioxidante pelo método do de captura de radicais ABTS, expressos como atividade antioxidante total equivalente ao trolox (TEAC) dos extratos aquoso e alcoólico de maxixe.

| Extratos | Valor TEAC (mM de trolox/g de amostra) | | | | |
|-----------|--|-------|--------|--------|--------|
| | 2 min | 5 min | 10 min | 20 min | 30 min |
| aquoso | 3,1 | 3,6 | 4,5 | 5,5 | 6,1 |
| etanólico | 8,0 | 12,0 | 15,0 | 16,0 | 18,0 |

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos, nas condições de realização dessa pesquisa, pode-se inferir que o maxixe possui quantidades consideráveis de compostos fenólicos totais e esses constituintes são capazes de degradarem radicais livres, portanto devendo ser estimulado o seu consumo pela população brasileira.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado do Piauí (FAPEPI) pela concessão de bolsas de Iniciação Científica Júnior aos cinco primeiros autores deste trabalho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, 2006.

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

CAMPOS, Flávia Milagres; MARTINO, Hércia Stampini Duarte; SABARENSE, Céphora Maria; PINHEIRO-SANT'ANA Helena Maria. Estabilidade de compostos antioxidantes em Hortaliças processadas: uma revisão. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.4, p. 481-490, out./dez. 2008.

CARVALHO, J. C. T. et al. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In. SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

CATANEO, Ciriele Boeira; CALIARI, Vinícius; GONZAGA, Luciano Valdemiro; KUSKOSKI, Eugênia Marta; FETT, Roseane. Atividade antioxidante e conteúdo fenólico do resíduo agroindustrial da produção de vinho. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 93-102, jan./mar. 2008.

CHIPAULT, J. R.; MIZUN, G. K.; HAWKINS, J. M.; LUNDBERG, W. O. The antioxidant properties of natural spices. **Food Res.**, v. 17, p. 46-55, 1952.

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. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

MADOLLO, Valéria A.; COSTA, Cyro Paulino da. Avaliação de linhagens de maxixe paulista cultivadas em canteiros com cobertura de polietileno. **Hortic. Bras.** vol.21 no.3 Brasília July/Sept. 2003.

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. 182p. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo. 2008.

MELO, Enayde de Almeida; MACIEL, Maria Inês Sucupira; LIMA, Vera Lúcia Arroxelas Galvão; LEAL, Fernanda Lídia Lemos; CAETANO, Ana Carla da Silva; NASCIMENTO, Rosilda Josefa NASCIMENTO. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 3, p. 639-644, jul.-set. 2006.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; SANTANA, A. P. M. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. **Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.**, São Paulo, SP, v. 34, n. 1, p. 85-95, abr. 2009.

PIENIZ, Simone; COLPO, Elisângela; OLIVEIRA, Viviani Ruffo de; ESTEFANEL, Valduíno; ANDREZZA, Robson. Avaliação *in vitro* do potencial antioxidante de frutas e hortaliças. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, vol.33, n.2, Mar./Apr. 2009.

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**, v.26, n.9/10, p.1231-1237, 1999.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C.M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, n.4, p.1212-1220, 2007.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punus domestica*. I quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.19, p.63-68, 1959.

TAVARES, J. T. Q. SILVA, C. L.; CARVALHO, L. A.; SILVA, M. A.; SANTOS, C. M. G. Estabilidade do ácido ascórbico em suco de laranja submetido a diferentes tratamentos. **Magistra**, Bahia, v. 12, n. 1/2, 2000.