

POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA CASCA DE JABUTICABA: UM BIORRESÍDUO RICO EM MOLÉCULAS BIOATIVAS

Pâmela Alves Castilho¹, Lais Cristina de Lima Silva², Tamires Barlati Vieira da Silva³,
Isabela Silva de Oliveira⁴, Rosane Marina Peralta⁵, Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi⁶

¹ Mestre, Universidade Estadual de Maringá – UEM. Departamento de Bioquímica. pamela.alvescastilho@gmail.com

²Mestranda, Universidade Estadual de Maringá – UEM. Departamento de Bioquímica. lf.lima.1008@gmail.com

³Doutoranda, Universidade Estadual de Maringá – UEM. Departamento de Bioquímica. tamiresbarlati93@gmail.com

⁴Mestre, Universidade Cesumar – UNICESUMAR. isabelasilva_12@hotmail.com

⁵Profa. Dra., Universidade Estadual de Maringá – UEM. Departamento de Bioquímica, rosanemperalta@gmail.com

⁶Orientadora, Profa. Dra., Universidade Estadual de Maringá – UEM. Departamento de Bioquímica, absnakanishi@uem.br

RESUMO

A jabuticaba destaca-se entre as frutas nativas brasileiras pelo alto potencial comercial devido as suas propriedades sensoriais agradáveis, além das propriedades nutricionais e funcionais, entretanto na maioria das vezes somente a polpa da fruta é utilizada enquanto a casca é descartada, porém diversos estudos tem mostrados que é a casca que concentra elevados teores de vitaminas, fibras e potencial antioxidante. Objetivo. O presente estudo teve como objetivo investigar o potencial antioxidante do extrato obtido a partir da casca da *Myrciaria jaboticaba*. Metodologia. A casca da jabuticaba foi adquirida do sítio do Belo, seca em estufa à 45°C, e triturada até obtenção de um pó fino. O extrato foi preparado na concentração de 10% em solução hidroetanólica 70%. O extrato bruto mantido em estufa a 45°C para evaporação do etanol. No final, a fase aquosa liofilizada e estocada em freezer a -20°C. O conteúdo fenólico total (CFT) do extrato foi estimado pelo método de Folin-Ciocalteu e a capacidade antioxidante foi avaliada pelo ensaio do DPPH. Resultados. Os valores de CFTs do extrato foram de 183,87 ± 15,49mg de EAG/g, sendo que os teores de flavonóides totais foram de 17,32 ± 1,41 de EAG/g. O valor do EC50 do DPPH foi de 21,38 ± 2,07 µg/mL, FRAP 1356,45± 98,70 µmol TE/mg e ORAC 1786,38±138,95 µmol TE/mg. Conclusão. Nossos resultados indicam, pelo menos em princípio, que a casca do fruto de *Myrciaria jaboticaba* pode ser aproveitada para a recuperação de moléculas antioxidantes, inclusive compostos fenólicos.

PALAVRAS-CHAVE: Atividade antioxidante; Aproveitamento de resíduos; Extrato natural; *Myrciaria jaboticaba*.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com grande diversidade de recursos naturais, com riqueza em plantas ainda desconhecidas e pouco estudadas. Várias pesquisas foram realizadas nos últimos anos, mostrando importantes atividades nutricionais e farmacológicas de diversas frutas brasileiras (PEREIRA *et al.*, 2020; TAKAO; IMATOMI; GUALTIERI, 2015). No entanto, a maioria dos estudos avalia as atividades da polpa de frutas. Em adição a indústria alimentícia, durante o preparo de sucos, geleias e licores descarta as cascas e sementes das frutas como resíduos. Estudos recentes revelam que as cascas, entretanto, contêm uma gama de bioativos, muitas vezes em quantidades ainda maiores do que às encontradas nas polpas.

A *Myrciaria jaboticaba*, pertence à família *Myrtaceae*, é uma planta frutífera nativa do Brasil e muito cultivada desde os tempos coloniais, principalmente na região Sudeste. É uma árvore semidecídua, de 3 a 6 m de altura, com casca lisa de cor pardo-clara e manchada. Os frutos são globosos, de polpa suculenta geralmente doce, e conhecida como jabuticaba. A fruta cresce diretamente no tronco principal e ramos, tem um diâmetro de 3 a 4 cm com 1 a 4 sementes grandes e uma espessa casca escura que cobre uma polpa branca doce-gelatinosa de sabor apreciável (REYNERTSON *et al.*, 2008).

A jabuticaba destaca-se entre as frutas nativas brasileiras pelo alto potencial comercial devido as suas propriedades sensoriais agradáveis, além das propriedades nutricionais e funcionais (INADA *et al.*, 2015). A sua popularidade tem sido comparada às berries dos Estados Unidos. Devido ao sabor apreciável a jabuticaba é consumida tanto *in*

natura, como na fabricação de geléias, vinhos, licores e sucos. Para isso utiliza-se apenas a polpa do fruto, sendo as cascas e sementes descartadas. Entretanto, estudos comprovam que a casca do fruto concentra elevados teores de vitaminas, fibras e um alto potencial antioxidante (ALEZANDRO *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2011). Esta última propriedade justifica o seu uso na prevenção e tratamento de algumas doenças tais como diarreia, asma, hemoptise e inflamação crônica de amígdalas (CAVALCANTI; VEGGI; MEIRELES, 2011; DINIZ *et al.*, 2010; REYNERTSON *et al.*, 2006; WU; LONG; KENNELLY, 2013).

Os radicais livres (RL) são resultados de processos naturais de organismos vivos, e auxiliam na manutenção do equilíbrio natural da vida, no entanto, existem diversas situações que podem fazer com que a produção de RL aumente, como por exemplo: estresse, mudanças de temperatura, exposição a radiações UV, patógenos, poluição, entre muitas outras (ARAÚJO *et al.*, 2013). E em níveis elevados os RL são nocivos à saúde, podendo ser responsáveis pelo aparecimento de diversas doenças, como por exemplo: câncer (DE OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Atualmente devido ao estilo de vida das pessoas, que na maioria envolve estresse, poluição, alimentação de baixa qualidade, entre outros, há um desequilíbrio entre sistemas geradores de espécies reativas de oxigênio (ROS) e sistemas antioxidantes, que neutralizam estas espécies reativas. Neste sentido, os antioxidantes naturais chamam a atenção de pesquisadores, por serem extraídos de fontes naturais, oferecerem menores riscos à efeitos adversos a saúde quando comparados à medicamentos alopáticos, e auxiliarem na proteção do organismo frente a esse excesso de radicais livres (CORRÊA *et al.*, 2017; DE OLIVEIRA *et al.*, 2009).

A atividade antioxidante de um extrato natural pode ser medida por diferentes metodologias, tanto *in vivo* quanto *in vitro*, e apesar das metodologias *in vivo* ainda obterem resultados mais semelhantes ao que ocorre no organismo humano, mas requerem o uso de modelos animais, alguns deles (como mamíferos) são caros, consomem muito tempo e atualmente existem projetos como por exemplo o programa internacionalmente reconhecido denominado de 3Rs (Reduction, Refinement, Replacement) que visa a redução dos testes *in vivo*, além de que as técnicas *in vitro* são recomendada inicialmente a fim de fazer um screening dos potenciais efeitos de extratos ainda desconhecidos (TORRE *et al.*, 2019).

Os mamíferos apresentam basicamente dois sistemas antioxidantes, enzimáticos e não enzimáticos capazes de neutralizar as ROS. De fato, há vários mecanismos capazes de neutralizar estas espécies reativas. Desse modo, é recomendado para caracterização de um extrato natural, realizar diversos ensaios antioxidantes, com intuito de procurar entender melhor, o mecanismo de ação do provável efeito antioxidante (WANG *et al.*, 2016).

Sendo assim, com o intuito de caracterizar quimicamente o extrato hidroalcoólico da casca de *Myrciaria jaboticaba* este trabalho teve como objetivo central realizar ensaios antioxidantes *in vitro* do extrato bem como quantificar as principais classes de bioativos presentes no mesmo.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 PREPARO DO EXTRATO HIDROETANÓLICO DE M. JABOTICABA

A casca da jaboticaba foi adquirida do sítio do Belo (Estado de São Paulo), seca em estufa de recirculação de ar à 45°C, e triturada até obtenção de um pó fino. O extrato foi preparado na concentração de 10% (peso de casca por volume de líquido de extração) em solução hidroetanólica 70%. A solução foi mantida sob agitação (120rpm) a temperatura ambiente (2 horas) e protegida da luz. Esta foi filtrada em papel de filtro Whatman (número 1). O resíduo foi ressuspendido em solução de extração como anteriormente e o

procedimento repetido por mais 2 vezes. O extrato bruto foi concentrado em estufa a 45°C para evaporação do etanol. E finalmente liofilizado e estocada em freezer a -20°C.

2.2.1 Avaliação dos teores de compostos fenólicos totais e de flavonóides totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Ácido gálico foi usado como padrão para construir uma curva de calibração. Já teor de flavonoides totais foi determinado de acordo com protocolo de Alothman, Bhat e Karim, (2009). Os resultados dos dois ensaios foram expressos em µg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por mg de extrato.

2.2.2 Atividade antioxidante pela redução do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

A atividade de eliminação de radicais livres DPPH foi avaliada conforme descrito por Correa *et al.*, (2017). Para calcular a porcentagem de descoloração do DPPH, foi utilizada a equação: $[(\text{Abscontrole} - \text{Absamostra}) / \text{Abscontrole}] \times 100$. A concentração do extrato (IC50, µg/mL) que forneceu 50% de atividade antioxidante foi calculada a partir do gráfico de concentrações do extrato versus atividade antioxidante. Trolox foi usado como controle positivo e água como controle negativo.

2.2.3 FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

O ensaio que avaliou a capacidade do extrato de reduzir os íons férricos foi realizado conforme Pulido, Bravo e Saura-Calixto(2000). Para o ensaio foram utilizados: tampão acetato (300 mmol/L), solução TPTZ (2,4,6 Tris /-piridil-s-triazina) (10 mmol/L) e cloreto férrico (20 mmol/L) e diferentes concentrações do extrato. A temperatura foi mantida à 37°C em ambiente protegido da luz, durante 30 minutos. Após esse intervalo a leitura foi realizada a 595 nm., e os resultados foram expressos em µM de equivalentes de Trolox (TE) por mg de extrato.

2.2.4 ORAC (oxygen radical absorbance capacity)

O ensaio ORAC foi realizado conforme descrito no trabalho de Garcia *et al.*,(2020). Foi utilizada uma placa de 96 poços, pré-incubada a 37° C por 10 minutos, contendo extrato em diferentes concentrações, tampão fosfato de sódio e fluoresceína. Após esse intervalo foi adicionado AAPH (dicloridrato de 2,2'-azobis (2 amidinopropano), a temperatura foi mantida, e foram realizadas leituras a cada 2 minutos nos comprimentos de onda de 485 nm e 520 nm até totalizar 36 leituras. Os resultados foram expressos em µM de equivalentes de Trolox (TE) por mg de extrato.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que, os componentes fenólicos são os principais fitoquímicos com atividade antioxidante e estão amplamente distribuídos na natureza e sendo assim são os mais consumidos (KOEHNLEIN *et al.*, 2016), os teores de compostos fenólicos totais

(CFTs) e de flavonóides totais do extrato hidroetanólico da casca de *M. Jaboticaba* (EHCMJ) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Conteúdo de fenólicos totais e flavonóides totais do extrato hidroetanólico da casca de *M. Jaboticaba* (EHCMJ).

Compostos fenólicos totais (mg EAG/g extrato)	183,87 ± 15,49
Compostos flavonóides totais (mg EAG/g extrato)	17,32 ± 1,41

No artigo de Correa *et al.*, (2020), foram realizadas extrações hidroetanólicas a 70% nas frutas verdes e maduras de jiló, e foram obtidos valores de 4,46 e 6,52mg GAE/g extrato respectivamente, já no trabalho de Garcia *et al.*, (2020) foram realizadas extrações hidroetanólicas das folhas da ora-pro-nobis (*P. aculeata*) e rosa-madeira (*P. grandifolia*) e foram obtidos valores de 84,07 e 49,43 µg GAE/mg extrato, demonstrando que os valores dos compostos fenólicos totais encontrados no EHCMJ são interessantes.

Tabela 2: Potencial antioxidante do extrato hidroetanólico da casca de *M. Jaboticaba* (EHCMJ).

Atividade antioxidante DPPH (EC₅₀ µg/mL)	21,38 ± 2,07
FRAP (µmol TE/mg)	1356,45 ± 98,70
ORAC (µmol TE/mg)	1786,38 ± 138,95

A Tabela 2 mostra a capacidade antioxidante do EHCMJ estimados pelos ensaios DPPH que está expresso em EC₅₀, FRAP e ORAC, todos os resultados estão expressos em capacidade antioxidante equivalente de Trolox (TEAC). No ensaio DPPH a reação é baseada na diminuição da cor que ocorre quando o elétron ímpar do átomo de nitrogênio no DPPH é reduzido ao receber um átomo de hidrogênio dos compostos antioxidantes (SCHERER; GODOY, 2009). Garcia *et al.*, (2019) realizaram estudos com extrato de polpa de Juçara, e relataram atividade sequestrante de radical DPPH de 13, 170 µmol TE /g, valores inferiores ao demonstrado na presente pesquisa, entretanto, no trabalho de Garcia *et al.*, (2020), foram avaliados extratos hidroetanólicos da ora-pro-nobis (*P. aculeata*), e rosa-madeira (*P. grandifolia*) e foram encontrados valores de 73,3 e 207,27EC₅₀ µg/mL respectivamente.

Rockenbach *et al.*, (2008) realizaram estudos com extrato do bagaço de uva de duas variedades Ancelota e Tannat, e obtiveram os seguintes resultados com maior poder redutor pelo método de FRAP (método que investiga o poder antioxidante de redução de íons férricos) de 746,7 e 684,7 µMol TEAC.g⁻¹ respectivamente em solvente acetona a 70% (v/v), valores abaixo dos apresentados em nosso trabalho. Segundo os autores Pulido, Bravo e Saura-Calixto (2000), a utilização de diferentes solventes influencia o poder redutor da amostra a ser analisada, e a eficiência antioxidante é determinada pelo método e esta depende do potencial redox dos compostos analisados. E em outro estudo realizado por Shui e Leong (2006), o valor de FRAP encontrado em resíduo de carambola foi de 510,3 µMol.g⁻¹ em peso seco. Por fim, foi realizado o ensaio de capacidade de absorção de radical de oxigênio hidrofílico (ORAC), onde obtivemos um valor de 1786,38 ± 138,95 µmol TE/mg. Inada *et al.*, (2015) avaliariam o fruto da jaboticaba por completo e em partes, e apresentaram os seguintes resultados de 36,3 ± 2,2 para fruta toda, 5,6 ± 1,6 para polpa, 82,7 ± 0,9 para casca, 65,4 ± 1,8 para sementes e 71,6 ± 5,0 para resíduos de despulpa (mmol Trolox / 100 g). Comparado com o valor obtido, houve uma diferença entre os valores, porém, essas informações indicam que a casca e o resíduo são as partes da fruta com maior capacidade antioxidante.

4 CONCLUSÃO

O conjunto de dados demonstrados neste trabalho sugere que a casca da *M. jaboticaba*, um biorresíduo geralmente descartado pela agroindústria, são fontes de compostos fenólicos com atividade antioxidante promissora, podendo ser uma potencial fonte de moléculas antioxidantes na dieta. Além disso, conforme demonstra a literatura, os extratos de casca de jaboticaba também apresentam potencial para serem utilizados como corantes naturais na indústria de alimentos, sendo assim, a combinação dessas funcionalidades, aumenta o interesse na sua exploração como fonte de ingrediente de alto valor agregado para a produção de alimentos funcionais. Além disso, as cascas de jaboticaba costumam ser descartadas durante o processamento industrial da fruta, fato que gera matéria-prima abundante e barata.

REFERÊNCIAS

- ALEZANDRO, M. R. *et al.* Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 468-477, 1 nov. 2013.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, v. 115, n. 3, p. 785-788, 1 ago. 2009.
- ARAÚJO, C. R. R. *et al.* Total antioxidant capacity, total phenolic content and mineral elements in the fruit peel of *Myrciaria cauliflora*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 4, p. 301-309, dez. 2013.
- CAVALCANTI, R. N.; VEGGI, P. C.; MEIRELES, M. A. A. Supercritical fluid extraction with a modifier of antioxidant compounds from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) byproducts: economic viability. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1672-1678, 1 jan. 2011.
- CORRÊA, R. C. G. *et al.* Stability and biological activity of Merlot (*Vitis vinifera*) grape pomace phytochemicals after simulated in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 410-417, 1 set. 2017.
- CORREA, V. G. *et al.* Effects of in vitro digestion and in vitro colonic fermentation on stability and functional properties of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) beverages. **Food Chemistry**, v. 237, p. 453-460, 2017.
- CORREA, V. G. *et al.* Antioxidant activity of hydroalcoholic extracts of green and ripe scarlet eggplants (*Solanum aethiopicum* gr. *gilo*). **International Journal of Development Research**, v. 10, n. 6, p. 37193-37196, jun. 2020.
- DE OLIVEIRA, A. C. *et al.* Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
- DINIZ, D. N. *et al.* Efeito antifúngico in vitro do extrato da folha e do caule de *Myrciaria cauliflora* berg. sobre microrganismos orais. **Rev Odontol UNESP**, v. 39, n. 3, p. 151-156, 2010.
- GARCIA, J. A. A. *et al.* Chemical composition and biological activities of Juçara (*Euterpe edulis* Martius) fruit by-products, a promising underexploited source of high-added value

compounds. **Journal of Functional Foods**, v. 55, p. 325-332, 1 abr. 2019.

GARCIA, J. A. A. *et al.* Total phenolic content and antioxidant potential of “ora-pro-nobis” leaves: an in vitro comparative study between pereskia aculeata miller and pereskia grandifolia haw. **International Journal of Development Research**, v. 10, n. 4, p. 35310–35314, 2020.

INADA, K. O. P. *et al.* Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433, 1 ago. 2015.

KOEHNLEIN, E. A. *et al.* Analysis of a whole diet in terms of phenolic content and antioxidant capacity: effects of a simulated gastrointestinal digestion. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 67, n. 6, p. 614-623, 17 ago. 2016.

LIMA, A. DE J. B. *et al.* Antocianinas, estabilidade dos pigmentos e atividade antioxidante na jaboticaba [*Myrciaria Cauliflora* (Mart.) o. berg]. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 3, p. 877-887, set. 2011.

PEREIRA, E. DOS S. *et al.* Characterization of araçá fruits (*Psidium cattleianum* Sabine): Phenolic composition, antioxidant activity and inhibition of α -amylase and α -glucosidase. **Food Bioscience**, v. 37, p. 100665, 1 out. 2020.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

REYNERTSON, K. A. *et al.* Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 8, p. 1228-1230, ago. 2006.

REYNERTSON, K. A. *et al.* Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 15 ago. 2008.

ROCKENBACH, I. I. *et al.* Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota Solvent Influence on total polyphenol content, anthocyanins, and antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera*) bagasse extracts from Tannat and Ancelota-different varieties of *Vitis vinifera* varieties. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 28, p. 238-244, 2008.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, p. 654-658, 2009.

SHUI, G.; LEONG, L. P. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. **Food Chemistry**, v. 97, p. 277-284, 2006.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, 1965.

TAKAO, L. K.; IMATOMI, M.; GUALTIERI, S. C. J. Antioxidant activity and phenolic

content of leaf infusions of Myrtaceae species from Cerrado (Brazilian Savanna). **Brazilian journal of biology** , v. 75, n. 4, p. 948–952, 1 nov. 2015.

TORRE, M. P. de. *et al.* A Simple and a Reliable Method to Quantify Antioxidant Activity In Vivo. **Antioxidants**, v. 8, n. 142, p. 1-11, 2019.

WANG, J. *et al.* Reviews on Mechanisms of In Vitro Antioxidant Activity of Polysaccharides. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, p. 1-13, 2016.

WU, S. B.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 148-159, 1 nov. 2013.