

INFLUÊNCIA DOS DIFERENTES SOLVENTES NA AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE FRUTOS E SEMENTES DE PITAIA (*Hylocereus polyrhizus*)

NEHRING, P.¹, SERAGLIO, S. K. T.¹; GONZAGA, L. V.¹, FETT, R.¹; COSTA, A. C. O.¹

¹ Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

E-mail para contato: priscilanehring@yahoo.com.br

RESUMO – A pitáia (*Hylocereus polyrhizus*) é um fruto que tem ganhado destaque devido as características peculiares deste fruto e aos compostos bioativos em sua composição. Portanto, o presente trabalho buscou verificar o conteúdo de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de frutos e sementes de pitáia produzidos e coletados em Santa Catarina, buscando avaliar solventes e sistemas de extração. No preparo das amostras, as sementes foram desidratadas trituradas e as sementes lavadas, secas e trituradas. Em seguida, foram submetidas a dois sistemas de extração, agitação por rotação em geladeira e ultrassom, ambos por 1h e utilizados dois solventes diferentes, acetona 80% e metanol 0,1% HCl. Para o fruto inteiro, observa-se que para fenólicos totais e capacidade antioxidante não houve diferença significativa entre os métodos de extração em relação ao solvente metanol 0,1% HCl. Já entre diferentes solventes observa-se que os maiores valores foram para metanol 0,1% HCl, indicando ser o solvente de extração mais eficiente para o fruto pitáia. Já para a semente desidratada, os teores de fenólicos totais não diferiam estatisticamente entre os métodos de extração para cada solvente, sendo que os maiores valores foram para metanol 0,1% HCl. Para capacidade antioxidante por ambos os métodos, o melhor sistema de extração foi ultrassom e a acetona 80%. Os maiores valores de fenólicos totais e capacidade antioxidante foram encontrados para semente desidratada.

Palavras-chave: pitáia, extração, compostos bioativos.

1. INTRODUÇÃO

A pitáia (*Hylocereus polyrhizus*) é originária do México e seu cultivo vem se destacando no Brasil nos últimos anos. Estudos mostram que os frutos pitáia apresentam elevados teores de compostos com capacidade antioxidante (DEMBITSKY *et al.*, 2011), apresentando grande potencial comercial. Pertencente a família Cactaceae, a pitáia também é conhecida também como fruta do dragão e cultivada em larga escala na Malásia, Vietnã, Tailândia, Taiwan (HOR *et al.*, 2012; MUHAMMAD *et al.*, 2014). Este fruto tem ganhado destaque, não somente devido a coloração vermelho-púrpura, mas principalmente pelas propriedades bioativas (HOR *et al.*, 2012), nutricional e alto valor econômico (WANITCHANG *et al.*, 2011).

Os frutos pitáia apresentam diferentes variedades, *Hylocereus undatus* (epicarpo vermelho, mesocarpo branco), *Hylocereus megalanthus* (epicarpo amarelo, mesocarpo branco), *Hylocereus polyrhizus* (epicarpo vermelho, mesocarpo vermelho-rosa) e *Hylocereus costaricensis* (epicarpo vermelho, mesocarpo vermelho) (MUHAMMAD *et al.*, 2014).

Recentemente, *Hylocereus polyrhizus* tem se destacado como fonte de pigmentos naturais aplicados em uma ampla variedade de alimentos e a polpa dos frutos são processadas como suco, a fim de aumentar a comercialização do fruto. (MUHAMMAD et al., 2014)

Portanto, o presente trabalho buscou comparar a eficiência de diferentes sistemas de extração de compostos bioativos através da quantificação de compostos fenólicos totais (FT) e da determinação da capacidade antioxidante *in vitro* (CA) de frutos *in natura* (FI) e sementes de pituaia desidratada (SD), avaliando sistemas de solventes (acetona 80%; metanol 0,1% HCl) e mecanismos de extração (1 hora em ultrassom; 1 hora com agitação magnética em geladeira).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo da Amostra

Os frutos inteiros (FI) maduros foram coletados em Florianópolis-SC, acondicionados em embalagens de polietileno e transportados em caixas isotérmicas. Após o recebimento das amostras no laboratório, as sementes (SM) foram lavadas com água desionizada, desidratadas em estufa com circulação forçada de ar em temperatura de 50°C, durante 16 horas. As sementes e os frutos inteiros foram triturados em moinho de bancada (IKA modelo A49, SP, Brasil) e armazenados em temperatura de $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ até o momento das análises.

Para os frutos inteiros foram pesados 10g da amostra e utilizado 2,5 mL de solvente. Para o hibisco desidratado foram pesados 0,5g e utilizado 50 mL de solvente. Para a semente da pituaia, foram pesados 1g da amostra e utilizado 50 mL de solvente. As amostras foram então submetidas a dois sistemas de extração de compostos antioxidantes, o primeiro em acetona 80% e o segundo em metanol 0,1% de HCl, sendo mantidos em dois sistemas de extração, ultrassom e agitação em geladeira ambos por 1 hora.

2.2 Quantificação do Conteúdo de Fenólicos Totais

O conteúdo total de compostos fenólicos foi determinado de acordo com o método colorimétrico de reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), onde uma alíquota de 100 µL da amostra foi misturada com 4 mL de água deionizada, posteriormente adicionado 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu e agitado vigorosamente. Depois de 30 segundos e antes de 8 minutos, foi adicionado 1,5 mL da solução de carbonato de sódio (20%, v/v) em balão volumétrico de 10 mL, agitando com vigor e avolumado com água desionizada. Posteriormente, os balões foram colocados em ambiente escuro por 2 horas em temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a leitura da absorbância no comprimento de onda 765 nm em espectrofotômetro Hewlett-Packard modelo HP 8452A (CheadleHeath, Stockport, Cheshire, UK). Os resultados foram expressos em mg equivalentes em ácido gálico (EAG) por 100 g de fruta *in natura* /semente desidratada.

2.3 Capacidade Antioxidante *in vitro* pelo Método de Captura do Radical DPPH

A capacidade antioxidante foi determinada através da capacidade dos antioxidantes presentes nos extratos em sequestrar o radical estável DPPH de acordo com o método descrito

por Brand Williams *et al.*, (1995), onde um volume de 2,9 mL do radical DPPH (100 µmol) foi adicionado em cubetas de vidro. Em seguida, a leitura da absorbância do radical foi feita em espectrofotômetro modelo Hewlett-Packard modelo HP 8452A (CheadleHeath, Stockport, Cheshire, UK) no comprimento de onda 515 nm. Posteriormente, foi adicionado 100 µL do extrato à cubeta contendo o radical DPPH e este permaneceu em abrigo da luz por 30 minutos. Em seguida foi realizada uma nova leitura da absorbância da cubeta. Através da interpolação da porcentagem de inibição final do radical DPPH em curva padrão de ácido ascórbico, os resultados foram expressos em µmol de capacidade antioxidante equivalente ao ácido ascórbico (EAA) por 100 g de fruta *in natura* /semente desidratada.

2.4 Capacidade Antioxidante *in vitro* pelo Método de Potencial Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP)

A avaliação do potencial antioxidante redutor de ferro (FRAP) foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Benzie e Strain (1996). Um volume de 0,2 mL de solução de cloreto férrico 3 mmol foi adicionado no tubo de ensaio de 10 mL. Em seguida, 0,2 mL do extrato foi adicionado ao tubo de ensaio, homogeneizado em vórtex e acondicionado em banho maria a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 30 minutos. Posteriormente, foi adicionado 3,6 mL de solução de TPTZ (2,4,6-tripiridyl-s-triazine) ao tubo de ensaio e este permaneceu em repouso em temperatura ambiente por 10 minutos. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro modelo Hewlett-Packard modelo HP 8452A (CheadleHeath, Stockport, Cheshire, UK) no comprimento de onda 620 nm. Os valores do potencial de redução foram calculados através da interpolação da absorbância final em curva padrão de ácido ascórbico e expressos em µmol de capacidade antioxidante equivalentes ao ácido ascórbico (EAA) por 100 g de fruta *in natura* /semente desidratada.

2.5 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas em triplicata e para identificar diferenças significativas entre as médias, foram utilizadas as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey pelo *software* gratuito Assistat 7.7 beta. Diferenças entre as médias no nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas significativas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com estudos realizados com *Hylocereus polyrhizus*, os solventes de extração dos compostos bioativos mais utilizados para determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* nesta matriz foram metanol e acetona. Com base nestes dados, a acetona 80% e o metanol 0,1% HCl foram os solventes selecionados para a realização deste estudo. Os mecanismos de extração utilizados neste estudo foram ultrassom, por apresentar um maior contato entre amostra e solvente e o segundo, geladeira com agitação mecânica, sendo este mecanismo com maior colisão entre as moléculas do solvente e amostra.

3.1 Conteúdo de Fenólicos Totais e Capacidade Antioxidante

De acordo com a Tabela 1, para o fruto inteiro, observa-se que para FT e CA não houve diferença significativa entre os mecanismos de extração em relação ao solvente metanol 0,1% HCl. Já entre diferentes solventes observa-se que os maiores valores para fenólicos totais e capacidade antioxidante foram para metanol 0,1% HCl, indicando ser o solvente de extração mais eficiente para o fruto pitaia.

Para semente desidratada, o conteúdo de fenólicos totais não diferiu estatisticamente entre os diferentes métodos de extração para cada solvente, sendo que os maiores valores foram observados quando utilizado solvente metanol 0,1% HCl. Para a capacidade antioxidante por ambos os métodos aplicados, o mecanismo de extração mais efetivo foi ultrassom e a acetona 80%, o melhor solvente extrator.

Portanto, a partir dos dados obtidos, observa-se que para a extração dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante para o fruto pitaia, o solvente metanol 0,1% HCl apresentou maior eficiência, por apresentar maior afinidade da amostra com este solvente. Já para semente desidratada é possível indicar o melhor solvente extrator metanol 0,1% HCl para fenólicos totais independente do mecanismo de extração e para capacidade antioxidante nos dois métodos aplicados, a acetona apresentou como melhor solvente extrator e melhor mecanismo de extração o ultrassom.

Tabela 1 – Conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de frutos pitaia e semente desidratada submetidos a diferentes solventes e métodos de extração

Amostra	Sistema de Extração	Solvente	Fenólicos totais*	FRAP**	DPPH**
FI	Geladeira	Acetona	20,9 ± 0,3 ^b	38,1 ± 1,3 ^b	105,1 ± 0,9 ^b
		Metanol	29,4 ± 1,1 ^a	72,0 ± 2,1 ^a	117,5 ± 1,9 ^a
	Ultrassom	Acetona	16,2 ± 0,7 ^c	30,9 ± 0,1 ^c	65,5 ± 2,8 ^c
		Metanol	29,0 ± 0,9 ^a	71,3 ± 1,2 ^a	121,1 ± 2,1 ^a
SD	Geladeira	Acetona	404,3 ± 14,8 ^b	1562,5 ± 6,8 ^b	3157,1 ± 6,5 ^b
		Metanol	734,6 ± 39,1 ^a	765,6 ± 14,5 ^d	818,8 ± 15,0 ^c
	Ultrassom	Acetona	469,4 ± 0,7 ^b	1934,6 ± 44,3 ^a	3561,2 ± 240,0 ^a
		Metanol	770,6 ± 34,8 ^a	1204,1 ± 35,5 ^c	954,7 ± 53,3 ^c

Resultados expressos em média ± DP de três repetições. ^{a-f} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística (p<0,05) pelo Teste de Tukey. *Valores expressos em mg EAG 100g⁻¹ de fruto *in natura*/semente desidratada. ** Valores expressos em µmol EAA 100g⁻¹ de fruto *in natura*/semente desidratada.

Na extração de compostos fenólicos em amostras vegetais, diversos métodos e sistemas de solventes vêm sendo utilizados. A solubilidade destes compostos é diretamente influenciada pela polaridade dos solventes, gerando dificuldades no desenvolvimento de procedimento de extração apropriado para todos os fenólicos (NACZK; SHAHIDI, 2006; MIGLIATO et al., 2011).

Diferentes solventes, tempo de extração, temperatura, pH, proporção sólido-líquido e tamanho das partículas são fatores que influenciam na disponibilidade de compostos fenólicos. Além disso, a proporção amostra/solvente também influencia principalmente na recuperação dos compostos fenólicos das plantas (NACZK; SHAHIDI, 2004)

Existem vários sistemas de extração e diferentes solventes para serem empregados, entretanto não existe sistema e solvente que seja adequado para o isolamento de todos ou classe específica de antioxidantes naturais. Na extração destes compostos, os solventes mais utilizados

são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, hexano, dimetilformaldeído e suas combinações (SOUZA-SARTORI et al., 2013). Em relação aos solventes orgânicos, o metanol, por apresentar uma extração elevada de compostos bioativos, tem sido o mais indicado para plantas por ser mais eficaz (OLIVEIRA; VALENTIM; GOULART, 2009).

Estudos para extração dos compostos fenólicos totais utilizando o metanol como solvente extrator, já foi utilizado para duas espécies de pitaia, *Hylocereus polyrhizus* e *Hylocereus undatus* (CHOO; YONG, 2011) e também para frutos mirtilo, amora (SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002), figo (SOLOMON et al., 2006), uva (ORAK; 2007) e goiaba (THAIPONG et al., 2006)

4. CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos, observa-se que os maiores valores do conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante foram encontrados para semente desidratada. Para o fruto inteiro, pode-se indicar como o solvente mais eficiente o metanol 0,1% HCl para fenólicos totais e capacidade antioxidante, independente do método de extração. Este desempenho também é observado para a semente desidratada para o conteúdo de fenólicos totais. Já para capacidade antioxidante, em ambos os métodos aplicados, a acetona 80% se mostrou o solvente mais eficiente e a extração por ultrassom o método mais efetivo para essa amostra.

Entretanto, buscando definir o solvente extrator mais efetivo para todas as amostras, para determinação de fenólicos totais e capacidade antioxidante pelo método FRAP e DPPH é o metanol 0,1% HCl. Já em relação ao mecanismo de extração, observou-se que este não apresentou influência significativa sobre a extração dos compostos analisados, podendo ser adotado os dois mecanismos de extração propostos neste trabalho.

Por fim, notou-se ainda que a semente desidratada apresentou os maiores valores de fenólicos totais e capacidade antioxidante em ambos os mecanismos e solventes utilizados em relação as amostras dos frutos. Estes resultados mostram que o processo de desidratação possui uma grande influência na extração dos compostos bioativos e capacidade antioxidante da pitaia, fortalecendo a proposta no incentivo na produção de produtos desidratados que apresentam maior vida de prateleira em relação aos frutos *in natura* e potencializa os compostos bioativos em sua composição que promovem saúde.

5. REFERÊNCIAS

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP assay. *Anal. Biochem.*, v. 239, p. 70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm Wiss. Technol.*, v. 28, p. 25-30, 1995.

DEMBITSKY, V. M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H. LEONTOWICZ, M.;

- VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; GORISTEIN, S. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolites. *Food Res. Int.*, v.44, p. 1671-1701, 2011.
- HOR, S. Y.; AHMAD, M.; FARSI, E.; YAM, M. F.; HASHIM, M. A.; LIM, C. P.; SADIKUN, A.; ASMAWI, M. Z. Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Acute and subchronic toxicity studies. *Regul. Toxicol. Pharm.*, v. 63, p. 106-114, 2012.
- MIGLIATO, K. F.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N.; TOGNOLLI, J. O.; SACRAMENTO, L. V. S.; MELLO, J. C. P. de; GIANINI, M. J. S. M.; ALMEIDA, A. M. F.; PIZZOLITTO, A. C. P. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* L. Skeels. *Quim. Nova*, v. 34, p. 695-699, 2011.
- MUHAMMAD, K.; ZAHARI, N. I. M.; GANNASIN, S.P.; MOHD, N.; BAKAR, A. J. High methoxyl pectin from dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel. *Food Hydrocolloids.*, v. 42, p. 289-297, 2014.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. *J. Chromatograf.A*, v. 1054, p. 95-111, 2004.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, v. 41, p. 1523-1542, 2006.
- OLIVEIRA, A. C. de.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Quim. Nova*, v. 32, p. 689-702, 2009.
- ORAK, H.H. Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Sci. Hort.*, v. 111, p. 235-241, 2007.
- SELLAPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J. Agr. Food Chem.*, v. 50, p. 2432-2438, 2002.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.*, v. 16, p. 144-158, 1965.
- SOLOMON, A., GOLUBOWICZ, S., YABLOWICZ, Z. GROSSMAN, S.; BERGMAN, M.; GOTTLIEB, H. E.; ALTMAN, A.; KEREM, Z.; FLAISHMAN, M. A. Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). *J. Agr. Food Chem.*, 54, 7717-7723, 2006.
- SOUZA-SARTORI, J. A. de; SCALISE, C.; BAPTISTA, A. S.; LIMA, R. B.; AGUIAR, C. L. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com capacidade antioxidante total. *Biosci. J.*, v. 29, p. 297-307, 2013.

- 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. *J. Food Compos. Anal.*, v. 19, p. 669–
675, 2006.
- WANITCHANG, J.; TERDWONGWORAKUL, A.; WANITCHANG, P.; NOYPITAK, S.
Maturity sorting index of dragon fruit: *Hylocereus polyrhizus*. *J. Food Eng.*, v. 100, p.
409-416, 2010.