

AVALIAÇÃO DO MÉTODO QUECHERS DE EXTRAÇÃO PARA A INVESTIGAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE EM FOLHAS DE MOSTARDA (*BRASSICA JUNCEA*)

Bruna Cristina Bernardi (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Carina Alexandra Rodrigues (Co-orientadora), Antonio Eduardo Nicácio, Jesuí Vergílio Visentainer, Liane Maldaner (Orientadora), e-mail: brunaacbernardi@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas/ Maringá, PR

Ciências Exatas e da Terra / Química / Química Analítica

Palavras-chave: d-SPE, sorvente, conteúdo fenólico.

Resumo:

Neste projeto, avaliou-se a atividade antioxidante a partir dos métodos DPPH[•], ABTS^{•+} e ORAC e também o conteúdo fenólico total (TPC) de folhas de mostarda (*Brassica juncea*). Para a extração dos compostos antioxidantes foi empregada a versão acetato do método QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe), seguida de uma etapa de limpeza baseada na extração em fase sólida dispersiva (d-SPE, do inglês, *dispersive solid phase extraction*). A avaliação da eficiência da etapa de limpeza foi realizada a partir da análise espectrofotométrica dos extratos submetidos a d-SPE empregando-se diferentes sorventes. O método QuEChERS acetato seguido da etapa de limpeza d-SPE, 25 mg de terra diatomácea (TD) e 5 mg de carbono grafitizado (GCB), foi a condição que apresentou os melhores resultados de extração dos compostos antioxidantes, bem como de remoção de interferentes presentes na matriz. A partir dos resultados de atividade antioxidante (DPPH[•], ABTS^{•+} e ORAC) e de TPC pode-se concluir que as folhas de mostarda são uma fonte natural que possui atividade antioxidante e que o método QuEChERS forneceu resultados confiáveis de atividade antioxidante, uma vez que extraiu os compostos antioxidantes e removeu os interferentes. Além disso, o estudo sugere que o método QuEChERS pode ser aplicado com sucesso na determinação de atividade antioxidante de outras amostras vegetais.

Introdução

As frutas e as hortaliças são considerados contribuintes importantes para uma dieta rica em compostos antioxidantes e a ingestão desses compostos é extremamente útil para reduzir o excesso de espécies reativas geradas no organismo, que estão associadas ao risco de desenvolvimento de inúmeras doenças (CAMPOS *et al.*, 2008). Apesar da sua eficiência, o sistema antioxidante endógeno não é suficiente, e os seres humanos dependem de vários tipos de compostos antioxidantes que estão presentes na dieta alimentar para manter as concentrações desses radicais livres baixas (OLIVEIRA *et al.*, 2009). A mostarda, pertence ao gênero *Brassica*, sendo as

espécies *Brassica alba* (mostarda amarela), *Brassica juncea* (mostarda marrom) e *Brassica nigra* (mostarda preta) as mais conhecidas. As mesmas apresentam grande emprego na produção de molhos e temperos, assim como para a extração de óleo (DOWNEY, 2003), no entanto, pouco se sabe sobre as propriedades e o consumo de suas folhas. Visto isso, para a extração dos compostos antioxidantes em amostras de alimentos, na maioria dos trabalhos publicados, são empregadas técnicas de extração convencionais, baseadas em extrações líquido-sólido como a extração com Soxhlet, agitação mecânica e extração assistida por ultrassom (SILVA *et al.*, 2010). Entretanto, essas técnicas de extração apresentam como desvantagens tempos longos de extração, uso de volumes elevados de solventes orgânicos e ausência de uma etapa de limpeza. Desse modo, este estudo teve como objetivo principal avaliar a atividade antioxidante pelos métodos DPPH[•], ABTS^{•+}, ORAC e o TPC em folhas de mostarda (*B. juncea*). Os extratos foram obtidos a partir do emprego do método QuEChERS, seguido de uma etapa de limpeza (d-SPE), visando uma extração efetiva de compostos antioxidantes, bem como a remoção de interferentes.

Materiais e métodos

As folhas de mostarda (variedade *Florida Broad Leaf*) foram adquiridas na Central de Abastecimento Sociedade Anônima (CEASA) em Maringá-PR. As folhas foram lavadas em água corrente, trituradas, homogeneizadas, embaladas sobre vácuo e armazenadas em freezer a temperatura de -18°C até a realização das análises. Para a extração dos compostos antioxidantes foram adicionados 10 g de amostra em um tubo de centrifuga de 50 mL. Em seguida, foram adicionados 10 mL de acetonitrila acidificada com 1% de ácido acético (v/v), para a etapa de extração, e os tubos foram agitados em vórtex durante 1 min. Na etapa de partição, foram adicionados 4 g de sulfato de magnésio anidro (MgSO₄) e 1 g de acetato de sódio (CH₃COONa) e os tubos foram agitados novamente em vórtex por 1 min e imediatamente centrifugados por 10 min a 5000 rpm. Por fim, 1 mL do sobrenadante foi utilizado para as otimizações dos diferentes sorventes na etapa de limpeza empregando a d-SPE. O extrato foi agitado por 1 min em vórtex e centrifugado por 10 min a 5000 rpm. Os sorventes utilizados, bem como suas quantidades e combinações foram: 25 mg de amina primária e secundária (PSA), 25 e 50 mg de octadecilsilano (C18), 10 e 25 mg de terra diatomácea (TD), 10 mg de carbono grafitizado (GCB), 25 mg de TD + 2,5 mg de GCB, 25 mg de TD + 5 mg de GCB e 50 mg de C18 + 2,5 mg de GCB. Por fim, a alíquota resultante foi utilizada para a avaliação da atividade antioxidante (DPPH[•], ABTS^{•+} e ORAC) e TPC, e para a avaliação da eficiência de limpeza por análise espectrofotométrica com varredura no intervalo de comprimento de onda de 200 a 800 nm.

Resultados e Discussão

Para avaliar a atividade antioxidante e o TPC das folhas de mostarda, os

extratos obtidos a partir do emprego do método QuEChERS acetato seguido de cada um dos testes de limpeza avaliados (d-SPE), foram submetidos a avaliação da atividade antioxidante e do TPC. Os mesmos extratos foram submetidos a análise espectrofotométrica para avaliar a eficiência dos diferentes sorventes na remoção dos interferentes, especialmente os pigmentos, uma vez que a amostra possui elevada quantidade de pigmentos (1,7 mg/g de clorofilas). Sendo assim, na Figura 01, pode-se observar de modo geral que, o método QuEChERS acetato combinado com os diferentes testes de limpeza foi eficiente para a extração dos compostos antioxidantes, uma vez que, todos os testes apresentaram atividade antioxidante para todos os métodos avaliados e TPC. Pode-se observar também que os valores da atividade antioxidante e de TPC foram muito similares para a maioria das limpezas testadas (C18, TD, GCB e suas combinações), com exceção para o teste que corresponde ao emprego do PSA, no método ORAC. A diminuição da atividade antioxidante no método ORAC quando empregando o PSA é um indicativo de que houve interação dos compostos antioxidantes com o sorvente. Por fim, o emprego dos sorventes TD e C18 combinados com GCB apresentaram resultados ligeiramente superiores para o ensaio de DPPH[•] e TPC, sendo um indicativo que a combinação dos sorventes não promoveu a retenção dos compostos antioxidantes em análise.

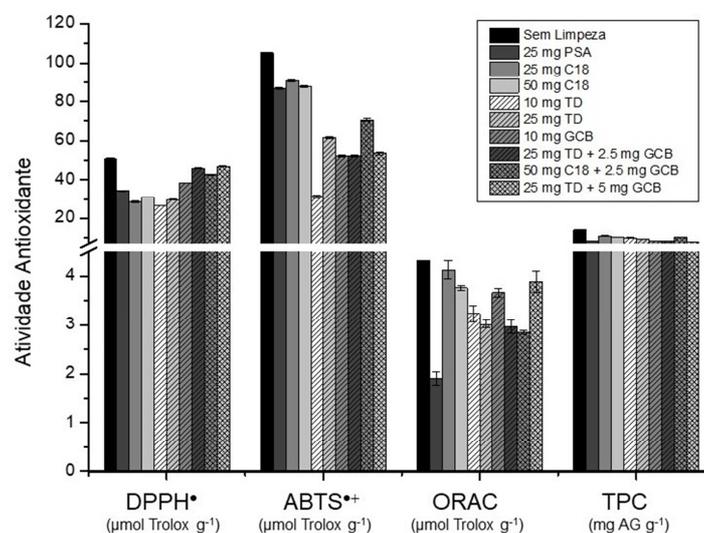


Figura 01 - Atividade antioxidante antes e após a limpeza dos extratos no método QuEChERS acetato com diferentes sorventes. O radical DPPH, o radical catiônico ABTS e o método ORAC são expressos em $\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$ de peso fresco. O TPC é expresso em $\text{mg ácido gálico (AG) g}^{-1}$ de peso fresco.

Na Figura 02 estão apresentados os resultados da análise espectrofotométrica dos extratos sem limpeza e após a etapa de limpeza. Analisando-se os resultados apresentados, nota-se que todos os extratos apresentaram absorvância nas faixas de 428 a 469 nm e 642 a 660 nm, que correspondem às absorvâncias máximas da clorofila a e b, respectivamente,

no entanto, a redução mais significativa foi obtida para os extratos em que o sorvente GCB foi utilizado individualmente ou combinado, com destaque para a combinação de 25 mg TD + 5 mg GCB, sendo o teste de limpeza mais eficiente para a remoção de pigmentos.

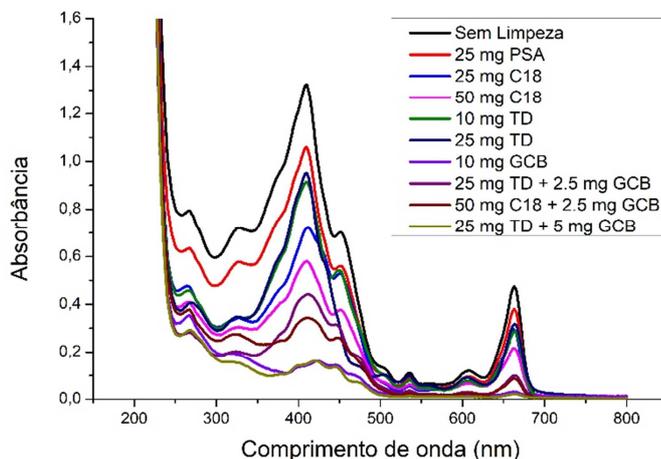


Figura 02 - Análise espectrofotométrica dos extratos antes e após a etapa da limpeza do método QuEChERS acetato.

Conclusões

Concluiu-se de modo geral que, o método de extração QuEChERS acetato combinado com a limpeza de 25 mg de TD e 5 mg de GCB mostrou-se eficiente para a extração dos compostos antioxidantes e remoção de pigmentos. A partir dos resultados de atividade antioxidante e de TPC pode-se concluir que as folhas de mostarda são uma fonte natural que possui atividade antioxidante e que o método QuEChERS forneceu resultados confiáveis de atividade antioxidante, uma vez que extraiu os compostos antioxidantes e removeu os interferentes.

Agradecimentos

Agradeço à UEM, CAPES, CNPq, Fundação Araucária, APLE-A e DQI-UEM.

Referências

CAMPOS, F. M., MARTINO, H. S. D., SABARENSE, C. M., PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alimentos & Nutrição**, v.19, N°4, p.481-490, 2008.

DOWNEY, R.K. Mustard. **Encyclopedia of Food and Culture**. New York, Scribner, 2003.

OLIVEIRA, A. C., VALENTIM, I. B., GOULART, M. O. F., SILVA, C. A., BECHARA, E. J. H., TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32, N°3, p.689-702, 2009.

SILVA, M. L. C., COSTA, R. S., SANTANA, A. S., KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v.31, N°3, p.669-682, 2010.