



11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012
16-19 Setembro

Atas

ISBN
978-972-745-141-8

Flores e frutos imaturos de *Crataegus monogyna* revelam elevado potencial antioxidante

Sandra Rodrigues^a, João C.M. Barreira^{a,b,*}, Ana Maria Carvalho^a, Isabel C.F.R. Ferreira^a

^aCIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança

^bCentro de Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto

Keywords: *Crataegus monogyna*; actividade antioxidante; compostos fenólicos

RESUMO

A espécie *Crataegus monogyna*, conhecida vulgarmente como espinheiro, escaramunheiro ou pilriteiro, está entre as plantas do Nordeste de Portugal mais recomendadas pela medicina tradicional. As suas bagas são comumente consumidas por serem consideradas nutritivas e saudáveis, podendo também ser utilizadas como suplemento alimentar, sobretudo para crianças, devido ao seu elevado conteúdo vitamínico [1]. O espinheiro é reconhecido como tendo propriedades bioativas de interesse elevado, em particular na prevenção de doenças cardiovasculares e gastrointestinais. De forma a compreender melhor o potencial terapêutico do espinheiro, a atividade antioxidante de diferentes partes da planta (botões e brácteas florais, flores e frutos) foi avaliada através de diferentes métodos químicos e bioquímicos. Os extratos etanólicos demonstraram maior potencial antioxidante que os extratos aquosos, mas os resultados foram muito satisfatórios em ambos os casos, revelando o potencial do espinheiro para ser incluído em formulações terapêuticas ou produtos dietéticos de referência.

1. INTRODUÇÃO

Em diferentes regiões de Portugal, o espinheiro é reconhecido como tendo propriedades de prevenção e controlo de doenças relacionadas com a idade (por exemplo, doenças cardiovasculares, arteriosclerose, artrite ou hipertensão. Além do mais, alguns estudos documentam a utilização das flores e frutos de espinheiro no tratamento de doenças cardiovasculares e gastrointestinais. Os frutos são também utilizados em produtos alimentares processados (enlatados, compotas, geleias, bebidas) [2].

Neste trabalho foram utilizadas diferentes partes do espinheiro: botões e brácteas florais (corimbos); flores durante a antese, incluindo folhas expandidas na base do pedúnculo da inflorescência; frutos verdes correspondendo à fase de senescência floral; frutos maduros (pomos vermelhos no final do estio); frutos em sobrematuração (frutos de cor vermelha escura do final do Outono). Para compreender o potencial antioxidante destas diferentes partes da planta, foram feitas extrações com solventes de baixa toxicidade (água e etanol), sendo os extratos submetidos a ensaios químicos e bioquímicos utilizando homogeneizados

de células animais: efeito captador de radicais livres, poder redutor e inibição da peroxidação lipídica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

Para a preparação dos extratos, as amostras liofilizadas de *Crataegus monogyna* foram reduzidas a um pó fino (20 mesh; ~1 g), submetidas a extração com 50 mL de etanol (extratos etanólicos) ou água (extratos aquosos), a 25 °C e 150 rpm durante 1 h e filtradas através de papel Whatman No. 4. O resíduo obtido foi extraído uma segunda vez nas mesmas condições. Os extratos foram depois concentrados sob pressão reduzida a 35 °C, redissolvidos no solvente respetivo a 10 mg/mL, e armazenados a 4 °C para posterior avaliação da atividade antioxidante.

2.2. Avaliação da atividade antioxidante

2.2.1. Atividade de captação do radical DPPH

Esta metodologia foi feita utilizando um leitor de microplacas ELX800 (Bio-Tek Instruments, Inc.) e seguindo uma metodologia previamente estabelecida [3]. A atividade anti-radicalar (RSA) foi calculada como percentagem de descoloração do DPPH utilizando a equação:

$$\% \text{ RSA} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{S}})/A_{\text{DPPH}}] \times 100 \quad (1)$$

em que A_{S} é a absorvância de uma solução com uma determinada concentração de extracto e A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH. A concentração capaz de captar 50% dos radicais DPPH (EC_{50}) foi calculada por interpolação a partir do gráfico de %RSA em função da concentração.

2.2.2. Poder redutor

Este procedimento foi executado no leitor de microplacas descrito em 2.2.1. e seguindo uma metodologia previamente estabelecida [3]. A concentração correspondente à solução final com 0,5 de absorvância (EC_{50}) foi calculada a partir do gráfico da absorvância a 690 nm em função da concentração da amostra.

2.2.3. Inibição da descoloração do β -caroteno

Esta metodologia foi elaborada segundo um protocolo já descrito [3]. As medições foram efetuadas num espectrofotómetro UV-Vis (AnalytikJena 200-2004), sendo a percentagem de inibição da descoloração do β -caroteno (%IB) calculada através da fórmula (2):

$$\% \text{ IB} = \frac{\text{conteúdo em } \beta\text{-caroteno após 2 h}}{\text{conteúdo em } \beta\text{-caroteno inicial}} \times 100\% \quad (2)$$

A concentração da solução com 50% de atividade antioxidante (EC_{50}) foi calculada a partir do gráfico da inibição da descoloração do β -caroteno em função da concentração da amostra.

2.2.4. Inibição da peroxidação lipídica pelas substâncias reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Este procedimento seguiu uma metodologia previamente aplicada [3], sendo as análises efectuadas no espectrofotómetro descrito em 2.2.3. A percentagem de inibição da formação de TBARS (%IT) calculada através da fórmula (3):

$$\%IT = \frac{A - B}{A} \times 100\% \quad (3)$$

em que A e B são respetivamente as absorvâncias do controlo e de cada uma das amostras estudadas. A concentração da solução com 50% de atividade antioxidante (EC_{50}) foi calculada a partir do gráfico da inibição da formação de TBARS em função da concentração da amostra.

2.2.5. Determinação do conteúdo em antioxidantes

Para os fenóis totais, foi seguido o método de Folin-Ciocalteu com modificações [3]. Os resultados foram calculados como mg de equivalentes em ácido gálico (GAE) por g de amostra.

Para os flavonóides, seguiu-se um procedimento previamente estabelecido [3]. Os resultados foram calculados como mg de equivalentes em catequina (CE) por g de amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos etanólicos de rebentos florais em conjunto com as brácteas (FIB) e de frutos verdes (UF) apresentaram a maior atividade de captação de radicais DPPH; os extratos etanólicos das flores (FI) demonstraram o máximo poder redutor, enquanto os extratos aquosos de FI e UF revelaram a maior atividade de inibição da descoloração do β -caroteno. Os extratos etanólicos em todas as partes botânicas apresentaram maior atividade de inibição de formação das TBARS (Tabela 1).

As diferenças observadas na atividade antioxidante tiveram correspondência em termos do conteúdo em fenóis e flavonóides, embora só se tenha verificado uma correlação linear forte entre a atividade de captação de radicais DPPH e o conteúdo em fenóis (figura 1).

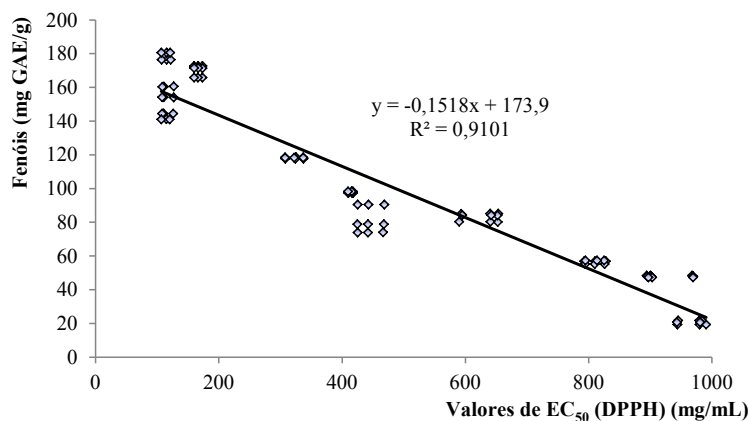
Em geral, foram quantificadas maiores quantidades de compostos antioxidantes nos extratos etanólicos em comparação com os extratos aquosos. Em relação às partes botânicas do espinheiro, os botões (nos extratos etanólicos) e os frutos verdes (nos extratos aquosos) apresentaram os maiores conteúdos de fenóis e flavonóides.

Tabela 1. Atividade antioxidante (valores EC₅₀, µg/mL), fenóis (mg GAE/g) e flavonóides (mg CE/g) nos extratos preparados a partir de partes diferentes de *Crataegus monogyna* (n=9)^a.

		Captação de DPPH	Poder redutor	Inibição da descoloração do β-caroteno	Inibição das TBARS	Fenóis	Flavonóides
FIB	Etanólico	115±9 i	72±2 g	125±4 b	9.9±0.2 d	153±7 b	45±1 b
	Aquoso	415±4 f	453±21 c	74±1 c	61±1 c	98±1 d	23±1 cd
FI	Etanólico	167±6 h	110±4 f	153±7 c	9.0±0.3 d	170±3 a	31±2 c
	Aquoso	811±14 c	959±5 a	59±6 e	79±2 b	56±1 f	17±2 de
UF	Etanólico	114±6 i	232±4 e	68±8 de	8±1 d	166±19 a	108±8 a
	Aquoso	323±13 g	466±16 c	57±11 e	72±6 b	118±1 c	54±3 b
RF	Etanólico	629±28 d	276±5 d	74±21 d	9.1±0.3 d	83±2 e	51±14 b
	Aquoso	922±35 b	931±23 b	185±8 a	81±6 b	48±1 f	9±1 ef
ORF	Etanólico	445±19 e	259±1 d	79±8 c	8.9±0.2 d	81±7 e	12±2 ef
	Aquoso	970±20 a	934±23 b	70±2 de	137±18 a	21±1 g	6±1 f

FIB- botões e brácteas; FI- flor; UF- frutos verdes; RF- frutos maduros; ORF- frutos sobre-amadurecidos

^aAs letras diferentes em cada coluna indicam diferenças significativas entre os valores médios ($P < 0.001$). Estas diferenças foram classificadas usando o teste de Tamhane's T2, dado que as amostras apresentaram distribuições heteroscedásticas.

**Figura 1.** Correlação entre a atividade de captação do radical DPPH e o conteúdo em fenóis.

Em conclusão, os extratos etanólicos provaram ser mais eficientes, embora os resultados para os extratos aquosos tenham sido também muito satisfatórios. Em relação às diferentes partes botânicas, as flores e os frutos imaturos apresentaram a maior atividade antioxidante. Os resultados obtidos comprovaram o potencial do espinheiro para ser utilizado como suplemento alimentar ou como fonte de nutraceuticos, nomeadamente antioxidantes importantes contra algumas das doenças crónicas mencionadas anteriormente.

Agradecimentos:

Projeto PEst-OE/AGR/UI0690/2011 financiador do CIMO. João C.M. Barreira agradece à FCT, POPH-QREN e FSE pela bolsa de pós-doutoramento (SFRH/BPD/72802/2010).

Referências

- [1] AM Carvalho. Etnobotânica del Parque Natural de Montesinho. Plantas, tradición y saber popular en un territorio del nordeste de Portugal, Madrid: 2005.
- [2] L Barros, AM Carvalho, ICFR Ferreira, Phytochem Anal, 2010, 22, 181-188.
- [3] JCM Barreira, S Rodrigues, AM Carvalho, ICFR Ferreira. Ind Crops Prod, 2013, 42, 175-180.