

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Clima Temperado
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**VII Encontro Sobre Pequenas Frutas e Frutas Nativas do Mercosul
Resumos expandidos**

22 a 24 de novembro de 2016 - Pelotas, RS

Márcia Vizzotto
Rodrigo Cezar Franzon
Luis Eduardo Correa Antunes
Editores Técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2017-

EXTRATOS DE POLPA E DE SEMENTE DE ARAÇÁ INIBEM ALFA-GLICOSIDASE COM DIFERENTE INTENSIDADE ⁽¹⁾

Elisa dos Santos Pereira⁽²⁾; Juliana Rocha Vinholes⁽³⁾; Márcia Vizzotto⁽⁴⁾; Gabriel Dalmazzo⁽⁵⁾; Leonardo Nora⁽⁶⁾

(1) Trabalho executado com recursos da Embrapa e Ufpel (2) Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas, RS. lisaspereira@gmail.com (3) Bolsista de Pós-Doutorado; Embrapa Clima Temperado; Pelotas, RS. julianarochavinholes@gmail.com (4) Pesquisadora; Embrapa Clima Temperado; Pelotas, RS. marcia.vizzotto@embrapa.br (5) Bolsista de Pós-Doutorado; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas, RS. gdalmazo@yahoo.com.br (6) Professor; Universidade Federal de Pelotas; Pelotas, RS. l.nora@me.com

INTRODUÇÃO

O araçá (*Psidium cattleianum*) é uma planta da família mirtácea, com origem botânica no sul do Brasil. Seus frutos podem ser consumidos *in natura*, têm sabor diferenciado, elevado teor de vitamina C e de outros antioxidantes, e ainda compostos antimicrobianos e antiproliferativos (GALHO et al., 2007; FRANZON et al., 2009; JACQUES, et al., 2009; MEDINA et al., 2011).

O Diabetes mellitus é uma desordem metabólica bem conhecida, a qual se caracteriza por um aumento anormal de glicose no sangue após as refeições (pós-prandial), sendo o controle da hiperglicemia importante como forma de tratamento. A alfa-glicosidase é uma enzima secretada pelo epitélio intestinal, responsável pela degradação de carboidratos. Seus inibidores desaceleram o processo de digestão e absorção de carboidratos pelo bloqueio competitivo da atividade da glicosidase. Conseqüentemente, o pico pós-prandial de concentração de glicose no sangue é reduzido e a concentração de glicose no sangue mantida sob controle (YIN et al., 2014).

Vários inibidores de alfa-glicosidase, tais como acarbose e voglibose obtidos de fontes naturais, podem efetivamente controlar a concentração de glicose no sangue após as refeições e têm sido usados clinicamente no tratamento do diabetes mellitus. Há poucos inibidores de glicosidase disponíveis comercialmente, e todos contêm derivados de açúcar em sua estrutura, são de difícil síntese química e clinicamente associados com sérios efeitos colaterais gastrointestinais (YIN et al., 2014). Assim, a descoberta de inibidores de glicosidase a partir de fontes naturais tem recebido grande atenção, devido a grande abundância de compostos na natureza e de suas promissoras atividades biológicas.

Extratos etanólicos integrais de frutos de araçá, incluindo a epiderme, a polpa e as sementes, de diferentes genótipos, já foram avaliados quanto à capacidade de inibição de alfa-amilase e os resultados foram promissores (PACHECO, 2015; VINHOLES et al., 2015). No entanto, as moléculas responsáveis por esta inibição e sua localização no fruto ainda não foram determinadas.

Nesse trabalho, dois diferentes extratos alcoólicos, do fruto desprovido de sementes e das sementes, de frutos de três diferentes genótipos, foram avaliados quanto à capacidade de inibição de alfa-glicosidase.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de três diferentes genótipos de araçá, com fruto amarelo (Bicudo) e vermelho (acessos 44 e 87), fisiologicamente maduros, foram coletados no Campo Experimental da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. Após seleção para eliminação de frutos avariados, os mesmos foram cortados ao meio e as sementes foram separadas do restante do fruto, resultando em duas frações, correspondentes à polpa com epiderme e às sementes, com resquícios de polpa aderida às mesmas. As frações foram armazenadas a - 80 °C e posteriormente liofilizadas.

Após a liofilização, as frações de araçás foram trituradas em moinho de bolas para obtenção de amostras desidratadas em pó. Estas amostras foram mantidas em tubos herméticos, protegidos da luz, a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, até serem analisadas.

Os extratos consistiram na dispersão de 20 mg de amostra de cada fração em 10 mL de etanol à 50 %, com auxílio de um vórtex. A extração ocorreu durante aproximadamente 2 minutos à temperatura ambiente (aproximadamente $20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Ao final o extrato foi filtrado em papel filtro quantitativo, 12,5 cm de diâmetro, e a fase solúvel imediatamente utilizada no ensaio de inibição enzimática.

A inibição da alfa-glicosidase foi realizada através de método espectrofotométrico (FERRERES et al., 2013) com leituras de absorbância a 405 nm. 20 μL de cada extrato foram adicionados a 100 μL de solução da enzima alfa-glicosidase. A seguir foram adicionados 100 μL de substrato (4-nitrofenil α -D-glucopiranosídeo), em seguida, a amostra foi incubada por 10 min à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ao final da incubação foram adicionados 600 μL de carbonato de sódio (1 M) para interromper a reação. A porcentagem de inibição foi calculada através da fórmula: % inibição = $(\text{Abs controle} - \text{Abs amostra} / \text{Abs controle}) \times 100$. A acarbose foi utilizada como controle positivo na mesma concentração das amostras.

Os dados foram submetidos à análise de variância empregando-se o teste F ($p \leq 0,05$) e as médias de tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A análise estatística foi realizada através do sistema de análise estatística Winstat – versão 2.11.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os extratos de polpa de araçá, a uma mesma concentração final de $181\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, exibiram 100 % de inibição de alfa-amilase, não havendo diferenças significativas entre os extratos de polpa de diferentes genótipos (Figura 1A).

Esta atividade pode ser justificada pela presença de compostos na polpa, que possuem a característica de inibição de enzimas glicosidases, como os compostos fenólicos (COSTA et al., 2008) e os iminoaçúcares (VAN AMEIJDE et al., 2006).

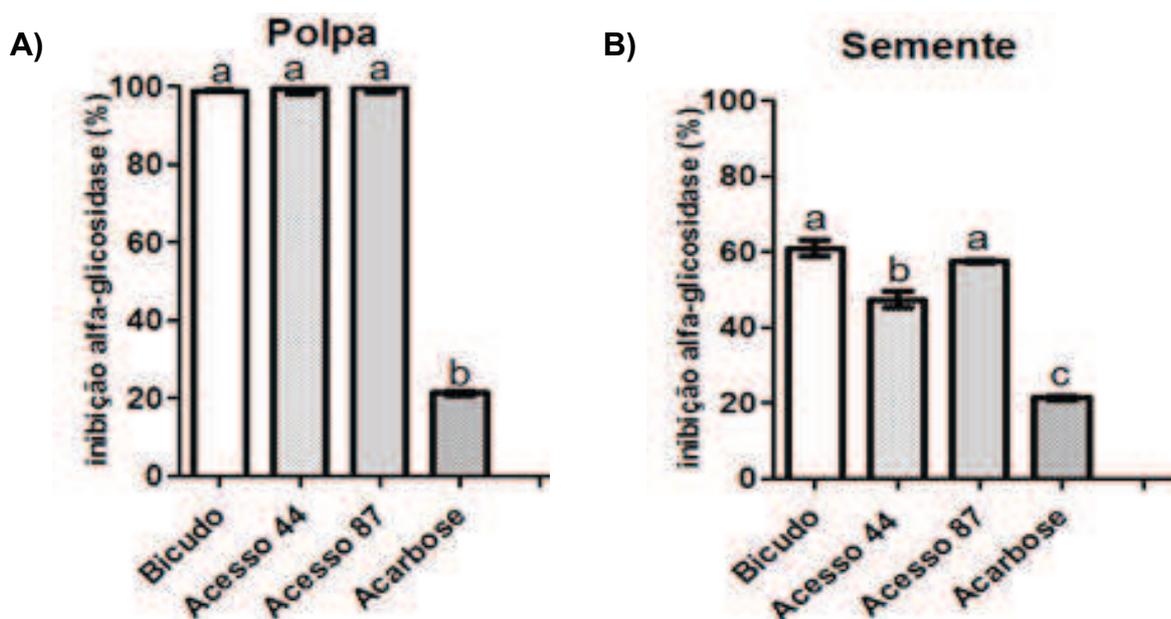


Figura 1. Atividade inibitória de extratos de polpa (A) e semente (B) de araçá sob a enzima alfa-glicosidase. Barras com letras diferentes diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os extratos de sementes de araçá apresentaram capacidade de inibição da enzima que variou entre 45 a 64%. O extrato das sementes do acesso 44 apresentou menor atividade, sendo estatisticamente diferente dos demais (Figura 1B).

Os extratos das polpas e das sementes de araçá apresentaram maior capacidade para inibir a enzima alfa-glicosidase que o medicamento utilizado para este fim, a acarbose. A acarbose apresentou uma inibição de 20% da enzima na mesma concentração dos extratos testados neste estudo (181 µg/mL).

Foi observada uma menor capacidade de inibição da alfa-glicosidase dos extratos das sementes, quando comparados com os extratos da polpa para a mesma concentração testada (Figura 1B). Este resultado evidencia que a polpa possui compostos com maior atividade inibitória desta enzima que a semente. Resultado semelhante foi demonstrado por Adefegha et al. (2015), que avaliou inibição da alfa-glicosidase pelas diferentes partes do fruto de graviola, obtendo maior inibição pelo pericarpo, seguido da polpa e semente. Esta diferença pode estar associada ao conteúdo e a natureza dos compostos presentes nas diferentes partes dos frutos. É sabido que os compostos fenólicos exercem efeito de inibição da alfa-glicosidase, o que pode justificar a inibição da enzima pelos extratos de araçá avaliados neste estudo. No entanto, foi observado que a atividade inibitória da polpa foi mais elevada que a atividade da semente, fato que pode estar relacionado pela maior concentração de compostos fenólicos na polpa (COSTA et al., 2013).

Outro estudo avaliou os mesmos genótipos de araçá utilizados neste trabalho, porém foi verificado maior potencial de inibição de enzimas digestivas nos acessos de cor vermelha, sendo uma opção para modulação da hiperglicemia (PACHECO, 2015).

CONCLUSÕES

O extrato das frutas de araçá (acessos Bicudo, seleções 44 e 87), com o sem sementes, podem inibir a alfa-glicosidases.

O extrato de polpa do fruto foi mais efetivo na inibição de alfa-glicosidase do que o extrato de sementes do fruto, independentemente do genótipo;

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq pela concessão das bolsas de Mestrado e Pós-doutorado.

REFERÊNCIAS

- ADEFEGHA, S. A.; OYELEYE, S. I.; OBOH, G. Distribution of Phenolic Contents, Antidiabetic Potentials, Antihypertensive Properties, and Antioxidative Effects of Soursop (*Annona muricata* L.) Fruit Parts *In Vitro*. **Biochemistry research international**, v. 2015, p. 1-8, dez. 2015.
- COSTA, A. B.; OLIVEIRA, A. M. C. D.; SILVA, A. M. D. O. E.; MANCINI-FILHO, J.; LIMA, A. D. Antioxidant activity of the pulp, skin and seeds of the noni (*Morinda citrifolia* Linn). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 2, p. 345-354, jun. 2013.
- COSTA, C. T. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; VIEIRA, L. S. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 4, p. 108-116, 2008.
- FERRERES F.; VINHOLES J.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; GONÇALVES, R. F.; ANDRADE, P. B. In vitro studies of α -glucosidase inhibitors and antiradical constituents of *Glandora diffusa* (Lag.) D.C. Thomas infusion. **Food Chemistry**, London, v. 136, n. 3-4, p. 1390-1398, fev. 2013.

- FRANZON, R. C.; CAMPOS, L. D. O.; PROENÇA, C. E. B.; SOUSA-SILVA, J. C. **Araçás do Gênero Psidium: principais espécies, ocorrência, descrição e usos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2009. 49 p. (Documento, 266)
- GALHO, A. S.; LOPES, N. F.; BACARIN, M. A.; LIMA, M. G. S. Chemical composition and growth respiration in *Psidium cattleianum* Sabine fruits during the development cycle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 1, p. 61-66, abr. 2007.
- JACQUES, A. C.; PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T.; ZAMBIAZI, R. C. Bioactive compounds in small fruits cultivated in the southern region of Brazil. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123–127, jul./set. 2009.
- MEDINA, A. L.; HAAS, L. I. R.; CHAVES, F. C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R. C.; DA SILVA, W. P.; NORA, L.; ROMBALDI, C. V. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, London, v. 128, n. 4, p. 916-922, out. 2011.
- PACHECO, S. M. **Frutos da família Myrtaceae: Caracterização físico-química e potencial inibitório da atividade das enzimas digestivas**. 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- VAN AMEIJDE, J.; HORNE, G.; WORMALD, M. R.; DWEK, R. A.; NASH, R. J.; JONES, P. W.; EVINSON, E. L.; FLEET, G. W. J. Isolation synthesis and glycosidase inhibition profile of 3-epi-casuarine. **Tetrahedron-Asymmetry**, v. 17, n. 18, p. 2702-2712, out. 2006.
- VINHOLE, J. R.; LEMOS, G. S.; KONZGEN, E. A.; FRANZON, R. C.; VIZZOTTO, M. Atividade antiglicêmica e antioxidante em araçá amarelo e vermelho. In: SIERGEALC - SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE, 10., 2015, Bento Gonçalves. **Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e o Caribe: anais**. Bento Gonçalves, 2015. p. 275.
- YIN, Z.; ZHANG, W.; FENG, F.; ZHANG, Y.; KANG, W. α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. **Food Science and Human Wellness**, v. 3, n. 3-4, p. 136-174, set./dez. 2014.