

**Atividade antioxidante dos extratos etanólicos e dos óleos essenciais de
Xylopia aromática e *Piper nigrum***

***Antioxidant activity of ethanolic extracts and essential oils from Xylopia
aromatica and Piper nigrum***

DOI:10.34117/bjdv7n3-481

Recebimento dos originais: 08/02/2021

Aceitação para publicação: 01/03/2021

Karoline Paulino Costa

Doutora em Produção Vegetal

Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais, Brasil

E-mail: karoline_paulino21@hotmail.com

Esther Santos Fonseca

Técnica em Química

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais

E-mail: esthersantos311@gmail.com

Ruth Emanuele Silva Andrade

Técnica em Química

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais

E-mail: ruthandrade689@gmail.com

Gabrielly Soares Ferreira

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais, Brasil

E-mail: gabysouares295@gmail.com

Livia Ines Tomaz Rodrigues

Técnica em Química

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Norte de Minas Gerais

E-mail: livihtmaz@gmail.com

Francine Souza Alves da Fonseca

Doutora em Química

Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais, Brasil

E-mail: francinefonseca@yahoo.com.br

Ernane Ronie Martins

Doutor em Produção Vegetal

Universidade Federal de Minas Gerais – Minas Gerais, Brasil

E-mail: ernane.ufmg@gmail.com

RESUMO

Xylopia aromatica é conhecida como pimenta-de-macaco, pertence à família Annonaceae, e já no século XIX, o naturalista Saint-Hilaire a considerava com potencial de uso alimentício, pois seu sabor era similar à pimenta-do-reino. A pimenta-do-reino é um condimento, que também é utilizado para conservação de carnes e extração de óleo essencial. Assim, objetivou-se com essa pesquisa comparar o teor, atividade antioxidante e composição química dos óleos essenciais de frutos de pimenta-de-macaco e pimenta-do-reino (branca e preta). A pimenta-de-macaco (PM) foi coletada em áreas do Cerrado, e as pimentas do reino branca (PB) e preta (PP) adquiridas no comércio local. Os frutos foram triturados e a extração do óleo essencial realizada pelo método de hidrodestilação utilizando aparelho de Clevenger. O teor de óleo foi determinado com base na massa de óleo extraída (g) por 100 g de frutos. A atividade antioxidante foi avaliada por meio do sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), e os resultados expressos em porcentagem de capacidade de redução de DPPH. O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo três tratamentos (PM, e PB e PP), com seis repetições. As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás, Agilent Technologies (GC 7890A), acoplado ao detector espectrômetro de massas (MS 5975C) dotado de coluna capilar HP-5 MS. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R. A PM apresentou rendimento de óleo essencial de 0,35 %, enquanto que as PP e PB apresentaram rendimento de 0,98 %, e 1,08 %, respectivamente. A capacidade de redução de DPPH foi de 21,13% para PM, e 12,68% e 5,48% para as PP e PB, respectivamente. Na análise química dos óleos essenciais, considerando compostos que representavam mais de 1% de abundância no óleo da PM, foram detectados 82 compostos, enquanto que nas PP e PB foram detectados 57 e 47 respectivamente. O composto mais abundante na PM (29,5%) e PB (39,7%) foi o Limoneno, já na PP (11,2%) este foi segundo composto com maior abundância, sendo o Cariofileno (46,2%) o principal para a PP. Diante dos resultados a pimenta-de-macaco apresenta rendimento de óleo menor que as pimentas do reino branca e preta, no entanto, sua capacidade de redução de DPPH é maior que as demais pimentas avaliadas, tendo também maior número de compostos detectados.

Palavras-chave: pimenta-de-macaco, pimenta-do-reino, metabólito secundário, DPPH

ABSTRACT

Xylopia aromatica is known as monkey pepper, belongs to the Family Annonaceae, and already in the 19th century, the naturalist Saint-Hilaire considered it with potential for food use, as its flavor was similar to black pepper. Black pepper is a condiment, which is also used for meat preservation and oil extraction essential. Thus, the objective of this research was to compare the content, activity antioxidant and chemical composition of essential oils from monkey and black pepper fruits (white and black). Monkey pepper (PM) was collected in Cerrado areas, and white (PB) and black (PP) black peppers purchased in the local market. The fruits were crushed and the essential oil was extracted by the hydrodistillation method using Clevenger apparatus. The oil content was determined on the basis of the mass of oil extracted (g) per 100 g of fruit. The activity antioxidant was evaluated by sequestering the free radical 2,2-diphenyl-1-picrilhidrazil (DPPH), and the results expressed as a percentage of capacity reduction DPPH. The statistical design used was completely randomized, with three treatments (PM, and PB and PP), with six repetitions. Chromatographic analyzes were gas chromatograph, Agilent Technologies (GC 7890A), coupled to the mass spectrometer detector (MS 5975C) equipped with an HP-

5 MS capillary column. At statistical analyzes were performed in the statistical program R. The PM presented essential oil yield of 0.35%, while PP and PB presented 0.98%, and 1.08%, respectively. The ability to reduce DPPH was 21.13% for PM, and 12.68% and 5.48% for PP and PB, respectively. In the analysis chemistry of essential oils, considering compounds that represented more than 1% abundance in PM oil, 82 compounds were detected, while in PP and PB were detected 57 and 47 respectively. The most abundant compound in PM (29.5%) and PB (39.7%) was Limonene, whereas in PP (11.2%) it was the second compound with greater abundance, with Karyophylene (46.2%) being the main one for PP. Faced with results monkey pepper has lower oil yield than peppers of the white and black kingdom, however, its DPPH reduction capacity is greater than the other peppers evaluated, also having a greater number of compounds detected.

Keywords: black pepper, black pepper, secondary metabolite, DPPH

1 INTRODUÇÃO

A pimenta-de-macaco (*Xylopia aromática*) é uma espécie característica do Cerrado (Lorenzi, 1992). Seus frutos moídos são comumente usados como condimentos culinários, em especial, na conservação de carnes. Essa espécie contém óleos essenciais em suas folhas e frutos e existem relatos na literatura de seu uso para fins medicinais (Ministério do Meio Ambiente, 2016). Além de seus frutos, que possuem certo valor comercial, a *Xylopia aromática* tem também valor ambiental, pois pode ser empregada no reflorestamento e recuperação de áreas degradadas (Socolowski et al., 2012).

O sabor e o cheiro da pimenta-de-macaco são popularmente comparados com os da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), uma planta originária do sudeste Asiático (Garcia et al., 2000). Suas sementes, inteiras ou moídas, são utilizadas principalmente como condimentos, preservadora de carnes e seu óleo essencial é usado em indústrias de perfumaria (Ravindran, 2000). Além de ser importante para a medicina (Garcia et al., 2000), o óleo essencial de suas sementes contém alto teor de piperina, alcaloide responsável pelo intenso aroma (Cardoso et al., 2005) além de ser um constituinte pungente (Meghwal; Goswami, 2013). É também uma especiaria que tem seus frutos comercializados de diferentes formas, sendo elas: preta, branca e verde (Embrapa, 2004). Investigações fitoquímicas revelam que a pimenta-do-reino possui metabólitos que apresentam ações biológicas importantes, tais como, anti-inflamatória e antioxidante (Lian Ee et al., 2010) sendo esta última, principalmente pela presença de compostos fenólicos (Rice-Evans et al., 1996).

A pimenta-do-reino é uma espécie de grande estima comercial há séculos, e a pimenta de macaco, por apresentar semelhanças, tem potencial pra ser inserida no mercado

como uma especiaria de grande valor econômico. Entretanto, trabalhos que estudem as potencialidades químicas e biológicas das espécies, e que busquem justificar suas similaridades organolépticas devem ser explorados. Conhecer as características químicas da pimenta-de-macaco e da pimenta-do-reino, tais como presença de óleo essencial e metabólitos secundários que possuam potencial antioxidante, antimicrobiano, agregam às espécies valor comercial e acadêmico. Assim, o objetivo desse trabalho foi determinar a atividade antioxidante nos extratos etanólicos e óleos essenciais dos frutos da pimenta-de-macaco (PM), pimenta-do-reino preta (PRP) e pimenta-do-reino branca (PRB).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Processamento das pimentas

A pimenta-de-macaco (PM) e a pimenta-do-reino preta (PRP) foram adquiridas respectivamente em comércios locais das cidades de Januária e Montes Claros, ambas situadas em Minas Gerais, Brasil. Já a pimenta-do-reino branca (PRB) foi doada por produtor local. Todas as espécies foram adquiridas *in natura* e secas. Os frutos da PM foram separados dos resíduos presentes; enquanto alguns frutos foram cortados ao meio para a extração dos óleos essenciais, outros foram triturados para o preparo dos extratos. Os frutos da pimenta-do-reino foram triturados num moinho de facas.

Extração e teor do óleo essencial

Os óleos essenciais foram extraídos no Laboratório de Plantas Medicinais do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG. Dos frutos processados foram pesados 70g da PM, e 50g das PRB e PRP. Essas porções foram transferidas para balões de fundo redondo (1000mL) e combinadas com água (500mL). Os óleos foram extraídos por hidrodestilação utilizando-se aparelho de Clevenger, o processo ocorreu por uma hora após início da extração. O volume do óleo foi mensurado e o armazenamento feito sob refrigeração de -4°C.

Preparo dos extratos etanólicos

Os frutos triturados foram pesados (1,5g) e transferidos para tubos cônicos de polipropileno. A cada tubo, foi adicionado etanol (10mL), após, foram homogeneizados manualmente e levados ao banho-maria (35°C por 20 minutos). Em seguida, os tubos foram agitados em um vortex mixer (30s), submetidos ao banho ultrassônico (35°C por 15 minutos) e armazenados ao abrigo da luz por 72 horas.

Determinação da atividade antioxidante dos óleos essenciais

Para a análise da atividade antioxidante das amostras dos óleos essenciais foram combinados 1 ml da solução metanólica do reagente DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) 0,04 mg·mL⁻¹, 3 mL da solução metanólica de óleo essencial 1 mg·mL⁻¹. Além desses, foram preparados um branco (4mL de metanol absoluto) e um controle negativo (1mL da solução metanólica de DPPH e 3mL de metanol absoluto). As amostras de óleos essenciais foram armazenadas em um ambiente sem a incidência de luminosidade por 40 minutos. Após o tempo de reação, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 515 nm. Com as absorvâncias determinadas pelo espectrofotômetro, foram calculadas as porcentagens de sequestro de radicais dos óleos essenciais através da equação utilizada por Zarai *et al.* (2013) em seu estudo sobre atividade antioxidante e antimicrobiana da pimenta-do-reino.

$$\text{Sequestro}(\%) = \left[\frac{(Abs_{controle} - Abs_{amostra})}{Abs_{controle}} \right] \times 100$$

Ab_{Scontrole} - absorvância do controle negativo = solução metanólica de DPPH

Ab_{Samostra} - absorvância das amostras de óleos essenciais = solução metanólica de DPPH + óleos essenciais.

Determinação da atividade antioxidante dos extratos

Para a determinação da análise antioxidante, foi utilizado o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) diluído em etanol absoluto (250 µL, 0,2 mg·mL⁻¹), acrescidos dos extratos etanólicos dos frutos. Foram preparadas cinco concentrações diferentes dos extratos que variavam de 1,24 mg·mL⁻¹ até 6,00 mg·mL⁻¹ para PRP e PRB e de 1,24 mg·mL⁻¹ até 2,24 mg·mL⁻¹ para PM. Depois de uma hora de armazenamento sem a incidência de luz, as amostras foram analisadas em espectrofotômetro a 517 nm. A porcentagem de sequestro foi calculada de acordo com a equação citada acima e utilizada para obtenção da curva de calibração, possibilitando a obtenção das equações que possibilitaram a determinação do CE₅₀ (concentração eficiente à 50%). O IAA (índice de atividade antioxidante) foi determinado por meio do método desenvolvido por Scherer and Godoy (2009) tendo como base os resultados do CE₅₀ obtidos e a concentração de DPPH.

$$IAA = \frac{DPPH}{CE_{50}}$$

DPPH – Concentração inicial da solução e DPPH = 0,2 mg·mL⁻¹.

CE_{50} – Concentração eficiente à 50% obtidas através de equações geradas por uma curva de calibração com as cinco concentrações diferentes de extratos. Para cálculo, $Y= 50\%$ e $X=$ a concentração eficiente, conforme equações da tabela 2.

Análise estatística

O delineamento inteiramente casualizado foi o adotado, sendo três tratamentos (PM, PRP e PRB) com seis repetições. As análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico Rstudio (versão 3.2.4).

3 RESULTADOS

Determinação do teor e atividade antioxidante do óleo essencial

Tabela 1: Teores e atividade antioxidante de óleos essenciais de pimenta-de-macaco (PM), pimenta-do-reino preta (PRP) e pimenta-do-reino branca (PRB).

Tipos de pimenta	Rendimento do óleo essencial ($g100g^{-1}$)	Consumo de DPPH (%)
PM	0,35 a*	21,13
PRP	1,08 b	12,68
PRB	0,98 b	5,48

PM: pimenta-de-macaco; PRB: pimenta-do-reino branca; PRP: pimenta-do-reino preta. * As letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Determinação da atividade antioxidante dos extratos

Tabela 2: Equações para cálculo do CE_{50} da pimenta-de-macaco (PM), pimenta-do-reino preta (PRP) e pimenta-do-reino branca (PRB).

Tipo de pimentas	Equação	R^2
PM	$Y=31,889x-1,9463$	0,97
PRB	$Y=11,83x+23,132$	0,94
PRP	$Y=13,367x+12,295$	0,98

Tabela 3: Análise antioxidante de extratos etanólicos de pimenta-de-macaco (PM), pimenta-do-reino preta (PRP) e pimenta-do-reino branca (PRB): sequestro de radical DPPH (%), CE_{50} ($mg \cdot mL^{-1}$) e IAA (%).

Tipos de Pimenta	Sequestro de Radical (%)	CE_{50} ($mg \cdot mL^{-1}$)	IAA (%)
PM	81,16*	1,63 a	0,1232 a
PRB	92,4	2,26 b	0,0897 b
PRP	74,4	2,81 c	0,0710 c

IAA: índice de atividade antioxidante; CE_{50} : concentração eficiente à 50%; PM: pimenta-de-macaco; PRB: pimenta-do-reino branca; PRP: pimenta-do-reino preta. * As letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística significativa, pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

4 DISCUSSÃO

No seu trabalho com a atividade antioxidante e antimicrobiana da pimenta-do-reino, Zarai (2013) observou que a extração com etanol resultou em maior rendimento na

quantidade de compostos extraíveis totais. Segundo Rockenbach et al. (2008), o potencial antioxidante dos extratos pode depender de diversos aspectos, incluindo o tipo e quantidade de interações que o solvente estabelece com a matriz de compostos do material de extração. Pode-se dizer, então, que as ligações que o etanol estabelece com a PM, PRP e PRB favorecem a eficiência da extração.

Foi observado que a atividade antioxidante dos óleos essenciais dos frutos das pimentas foi baixa, sendo que a pimenta-de-macaco apresentou maior sequestro de radicais em relação às pimentas-do-reino. Isso pode ser justificado pela baixa ocorrência de metabólitos secundários com caráter antioxidante na composição química dos frutos. Como observado por Pereira e Cardoso (2012), os metabólitos secundários que possuem maior potencial antioxidante, são, em geral, carotenoides, flavonoides e os compostos fenólicos, enquanto que, na composição química dos óleos essenciais da pimenta-do-reino, os compostos de maior abundância são limoneno, sabineno e óxido de cariofileno (Costa *et al.*, 2010). Com a pimenta-de-macaco ocorre de maneira semelhante, pois, como caracterizado por Silva *et al.* (2015) em seu trabalho com os óleos essenciais das folhas da pimenta, os principais compostos são limoneno, biciclogermacreno, β -pineno e α -pipeno, metabólitos, que não têm caráter antioxidante.

Foi constatado que o potencial antioxidante dos extratos etanólicos dos frutos das pimentas foram baixas, mesmo sendo possível calcular o IAA dos mesmos. Novamente, pimenta-de-macaco apresentou maior sequestro de radicais em relação às pimentas do reino. Enquanto que, na composição química dos frutos da pimenta-do-reino, o composto de maior abundância é a piperina (Embrapa, 1995). Na pimenta-de-macaco, como caracterizado por Silva *et al.* (2015) em seu trabalho com extratos etanólicos, os principais compostos são xylopiena, xylomatenina, aromina, aromicina, venezenina e xylopianina, metabólitos desprovidos de caráter antioxidante.

5 CONCLUSÕES

As atividades antioxidantes dos óleos essenciais, de acordo com as condições estabelecidas neste experimento, não atingiram sequestro de radical suficiente para cálculo do IAA, sendo assim muito baixa. Enquanto os extratos etanólicos, de acordo com o cálculo do IAA, apresentaram baixo potencial antioxidante.

REFERÊNCIAS

- Cardoso, J, F, R.; Wardini, A, B.; Evangelista, D, W.; Viana, E, B.; Lima, M, E, F.; Soares, A, B.; Junior, C, B, B.; Brito, M, F.; Mazur, C.; Danelli, M, G, M. 2005. Avaliação do efeito tóxico da piperina isolada da pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*) em camundongos. Rev. Univ. Rural 25: 85-91.
- Costa, J.G.M.; SANTOS, P.F.; Brito, S.A.; Rodrigues, F.F.G.; Coutinho, H.D.M.; Botelho, M.A.; Lima, S.G. 2010. Composição Química e Toxicidade de Óleos Essenciais de Espécies de Piper Frente a Larvas de *Aedes aegypti L.* (Diptera: Culicidae). Latin American Journal of Pharmacy.29: 463-467.
- Costa, L.C.B; Corrêa R.M.; Cardoso, J.C.W.; Pinto J.E.B.P.; Bertolucci S.K.V; Ferri, P.H. 2015. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. Horticultura Brasileira 23: 956-959.
- EMBRAPA. Coleção plantar: pimenta-do-reino. 3 ed. Brasília: Textonovo Editora e Serviços Editoriais Ltda., 1995. 59 p.
- EMBRAPA. Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura da Pimenta-do-Reino. 1 ed. Brasília: CV Design., 2004. 65 p.
- Garcia, J.; Kamada, T.; Jacobison, B, K, T.; Curado, A, M.; Oliveira, M, S. 2000. Superação de dormência em sementes de pimenta-do-reino (*Piper nigrum L.*). Pesquisa Agropecuária Tropical 30(2): 51-54.
- Lian Ee, C, G.; Lim, M, C.; Rahmani, M.; Shaari, K.; Bong, C, F, J. 2010 Pellitorine, a Potential Anti-Cancer Lead Compound against HL60 and MCT-7 Cell Lines and Microbial Transformation of Piperine from *Piper Nigrum*. Molecules 15: 2398-2404.
- Lorenzi, H, 1992. Árvores Brasileiras.1. ed. Plantarum, Nova Odessa, SP, Brasil.
- Meghwal, M.; Goswami, T, K. 2013. Piper nigrum and Piperine: An Update. Phytotherapy Research 27: 1121–1130.
- Ministério do Meio Ambiente [MMA]. 2016. Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial. 1. ed. MMA, Brasília, DF, Brasil.
- Pereira, R.J.; Cardoso M.G. 2012. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. Journal of Biotechnology and Biodiversity 3: 146-152.
- Ravindran, P, N. 2000. Black Pepper. 1. ed. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles. Kozhikode, Kerala, India.
- Rice-Evans, A, C.; Miller, J, N.; Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Elsevier 20: 933-956.
- Rockenbach, I.I.; SILVA, G.L.; Rodrigues, E.; Kuskoski E.G. e FETT, R. 2008. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de

extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 28: 238-244

Scherer, R. e Godoy, H.T. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112: 654-658.

Silva, L.E.; Reis, R.A.; Moura, E.A.; Amaral, W. e Sousa, J.P.T. 2015. Plantas do Gênero *Xylopi*a: Composição Química e Potencial Farmacológico. *Rev. Bras. Pl. Med*, 17: 814-826.

Socolowski, F.; Cicero, M, S.; Vieira, M, C, D. 2012. Viability of recently harvested and stored *Xylopi*a *aromatica* (Lam.) Mart. (Annonaceae) seeds. *Revista Brasileira de Sementes* 34: 408-415.

Zarai, Z.; Boujelbene, E.; Salem, N.B ; Gargouri, Y.; Ayari, A. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT - Food Science and Technology* 50: 634-641.