



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

Atividade antioxidante do açafrão-da-terra: influência de solventes hidroetanólicos

Antioxidant activity of turmeric: influence of hydroethanolic solvent

Maria Clara Maranhão Franco*, Lilian Tatiani Dusman Tonin†,

RESUMO

O açafrão-da-terra (*Curcuma longa*) é uma especiaria muito utilizada na culinária. Diversos estudos confirmaram que seus extratos têm importantes atividades biológicas, entre elas a antioxidante. Seu potencial antioxidante justifica seu uso em uma gama de aplicações, incluindo alimentos, cosméticos e medicamentos. Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antioxidante pelos métodos de sequestro dos radicais livres ABTS e DPPH dos extratos do açafrão-da-terra cultivado em Apucarana-PR, avaliando a influência do solvente extrator. Foram avaliados os solventes hidroetanólicos nas proporções de 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 95:5 (v/v). Pelo método ABTS os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram o EtOH/H₂O 70:30 (72,74%) e 90:10 (71,99%), não apresentando diferença significativa entre seus valores ($p < 0,05$) e pelo método DPPH foi o extrato EtOH/H₂O 95:5 (97,17%). Observou-se a influência da polaridade do solvente na atividade antioxidante. A quantidade extraída dos principais constituintes químicos do açafrão, curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina, pode estar diretamente relacionada com o potencial antioxidante dos extratos, visto que o modo como os compostos fenólicos reagem com os radicais depende de sua concentração. Os resultados nos motivam a estudos futuros, visando avaliar tempo e temperatura de extração, habilidade de quelar metais (Fe^{2+}) e quantificar a curcumina extraída.

Palavras-chave: *Curcuma longa*, maceração dinâmica, DPPH, ABTS.

ABSTRACT

Turmeric (*Curcuma longa*) is a spice widely used in cooking. Several studies have confirmed that their extracts have important biological activities, including antioxidant. Its antioxidant potential justifies its use in a range of applications, including food, cosmetics and medications. Thus, this work aimed to evaluate the antioxidant activity by ABTS and DPPH free radical scavenging methods of turmeric extracts cultivated in Apucarana-PR, evaluating the influence of the extracting solvent. The hydroethanolic solvents were evaluated in the proportions of 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 95:5 (v/v). According to the ABTS method, the extracts that showed the highest antioxidant activity were EtOH/H₂O 70:30 (72.74%) and 90:10 (71.99%), with no significant difference between their values ($p < 0.05$) and by the DPPH method was the extract EtOH/H₂O 95:5 (97.17%). The influence of solvent polarity on antioxidant activity was observed. The amount extracted from the main chemical constituents of turmeric, curcumin, desmethoxycurcumin and bisdesmethoxycurcumin, may be directly related to the antioxidant potential of the extracts, since the way phenolic compounds react with radicals depends on their concentration. The results motivate us for future studies, aiming to evaluate extraction time and temperature, ability to chelate metals (Fe^{2+}) and quantify the extracted curcumin.

Keywords: *Curcuma longa*, dynamic macerated, DPPH, ABTS.

* Engenharia Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil; mariafranco@alunos.utfpr.edu.br

† Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Apucarana; liliandusman@utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

A *Curcuma longa*, planta do sudeste asiático e pertencente à família Zingiberaceae, é conhecida como cúrcuma, açafrão-da-terra, açafrão ou açafrão-da-Índia. Utilizada como especiaria culinária na forma de pó, apresenta aroma e sabor picante e cor amarelo à laranja intenso. A presença de saponinas, taninos, flavonoides, antocianinas, antraquinonas, chalconas, alcaloides, carboidratos, cumarinas, fenóis, esteroides, diterpenos, proteínas e glicosídeos foram detectados pela análise fitoquímica do açafrão (PATIL et al., 2019; SAWANT & GODGHATE, 2013). Seu componente principal é o composto fenólico curcumina, presente nos rizomas em concentração de 2,8 a 8%, e os compostos secundários desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina. A curcumina tem recebido considerável interesse como potencial agente terapêutico para a prevenção de várias doenças (ZHOU, BEEVERS; HUANG., 2011).

Diversos estudos confirmaram que os extratos do açafrão-da-terra têm poderosas atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, antibacteriana, antidepressiva, antidiabética, antitumoral, no tratamento da doença de Alzheimer e distúrbios cardíacos. Seu potencial antioxidante justifica seu uso em uma gama de aplicações, incluindo alimentos, cosméticos, nutracêuticos e fitomedicamentos (HEWLINGS & KALMAN, 2017).

Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que atrasa ou inibe a oxidação de um substrato oxidável, diminuindo a concentração dos radicais livres no organismo e/ou quelando íons metálicos, prevenindo a peroxidação lipídica. Os radicais livres atacam moléculas biológicas, levando a doenças degenerativas, câncer, inflamação, aterosclerose e envelhecimento precoce. Compostos com atividade antioxidante são responsáveis por diminuir a concentração de radicais livres no organismo, reduzindo a incidência destas doenças, além de apresentar-se como uma alternativa para prevenir a deterioração oxidativa dos alimentos (SHAHIDI, 1996; MELO & GUERRA, 2002).

Encontrar métodos e condições eficientes na extração de produtos naturais são importantes para a obtenção de um produto final com elevados teores de substâncias ativas. A extração é um dos processo de obtenção de compostos bioativos, na qual um solvente age na estrutura celular do vegetal, retirando os compostos de interesse. Entre os métodos convencionais estão a maceração dinâmica, método influenciado pelo tipo e polaridade do solvente, temperatura, tempo, pH e razão massa da amostra/volume do solvente (WANG & WELLER, 2006).

Desse modo, este trabalho teve como objetivo avaliar solventes hidroetanólicos na extração dos compostos bioativos do açafrão-da-terra, cultivado em Apucarana - Paraná, avaliando sua atividade antioxidante pelos métodos de sequestro dos radicais livres ABTS e DPPH.

2 MÉTODO

2.1 Amostras

Os rizomas do açafrão foram obtidos na Feira do produtor em Apucarana (Figura 1a). A amostra foi higienizada e submetida à desidratação em estufa de circulação de ar à 40 °C até massa constante. Após a secagem, os produtos desidratados foram triturados (Figura 1b) e armazenados em geladeira para a realização das análises químicas.



Figura 1 - a) Rizomas de *Curcuma longa* in natura. b) Rizomas de *Curcuma longa* após secagem.



Fonte: Autoria Própria, 2021

2.2 Extração

A extração foi realizada por meio de maceração mecânica (EMD). Pesou-se 1,0000 g de pó de açafrão e adicionou-se 100 mL dos solventes: EtOH:H₂O 60:40; EtOH:H₂O 70:30; EtOH:H₂O 80:20; EtOH:H₂O 90:10; EtOH:H₂O 95:5 (v:v), em duplicata. As amostras foram agitadas em shaker a 300 rpm, durante 4 horas em temperatura 25 °C. As amostras foram filtradas, aferiu-se o volume em balão volumétrico de 100 mL com etanol e estocadas sob refrigeração, em frasco âmbar.

2.3 Determinação da atividade antioxidante pelo método do sequestro do cátion Radicalar ABTS⁺

A atividade antioxidante dos cinco extratos foi determinada pelo método de sequestro do cátion radicalar ABTS⁺ segundo a metodologia de Rufino et al. (2007). O radical ABTS foi preparado a partir da reação entre 5,0 mL da solução estoque de ABTS (192,0 mg de ABTS em 50,0 mL de água destilada) e 88 µg mL⁻¹ da solução de persulfato de potássio (378,4 mg de persulfato de potássio em 10,0 mL de água). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente, por 16 horas. A seguir a mistura foi diluída até obter uma absorbância entre 0,8 e 0,9 a 734 nm.

Em uma cubeta adicionou-se 3,0 mL da solução do radical ABTS e 33,0 µL de extrato. Um controle foi conduzido nas mesmas condições, contendo 3,0 mL do radical ABTS e 33,0 µL de etanol. Devido à coloração amarela dos extratos, foi conduzido um branco para cada extrato substituindo o radical ABTS por 3,0 mL de etanol. Após 6 minutos de reação foram realizadas as leituras da absorbância em espectrofotômetro (Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-VIS) a 734 nm. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a Equação (1), na qual A_c representa a absorbância do controle, A_a representa a absorbância do extrato e A_b a absorbância do branco do extrato.

$$AA\% = \frac{A_c - (A_a - A_b)}{A_c} \times 100 \quad (1)$$

2.4 Determinação da atividade antioxidante pelo método do sequestro do radical livre DPPH



Em uma cubeta adicionou-se 2,0 mL da solução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) 60 μ M e 1,0 mL de extrato. Um controle foi conduzido nas mesmas condições, substituindo o extrato por 1,0 mL de metanol. Devido à coloração amarela dos extratos, foi conduzido um branco para cada extrato substituindo o radical DPPH por 2,0 mL de etanol.

Após 30 minutos de reação as leituras das absorvâncias foram realizadas em espectrofotômetro (Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-VIS) a 517 nm (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a Equação 1.

3 RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os resultados de porcentagem de atividade antioxidante (%AA) obtidos pelos métodos colorimétricos de sequestro dos radicais livres ABTS e DPPH, para os extratos do açafraão-da-terra obtidos com solventes hidroetanólicos em diferentes proporções de etanol/água.

Observa-se a influencia da polaridade do solvente extrator para os dois métodos analisados. Pelo método ABTS os extratos que apresentaram maior atividade antioxidante foram o EtOH/H₂O 70:30 e 90:10, não apresentando diferença significativa entre seus valores ($p < 0,5$). Já para o método DPPH o extrato que apresentou maior atividade antioxidante foi o EtOH/H₂O 95:5.

Chen et al. (2008) relataram a atividade antioxidante para o extrato metanólico do açafraão e obtiveram uma porcentagem de sequestro do radical livre DPPH de 72,10%, valor inferior a todos os extratos deste trabalho.

Tabela 1 – Porcentagem de atividade antioxidante obtidas pelos métodos ABTS e DPPH para os extratos de açafraão-da-terra.

Solvente	AA% ABTS	AA% DPPH
EtOH:H₂O 60:40	48,10 \pm 0,74 ^b	91,31 \pm 0,13 ^c
EtOH:H₂O 70:30	72,74 \pm 0,38 ^a	91,83 \pm 0,15 ^{b, c}
EtOH:H₂O 80:20	45,11 \pm 0,56 ^c	92,44 \pm 0,18 ^b
EtOH:H₂O 90:10	71,99 \pm 0,55 ^a	78,17 \pm 0,18 ^d
EtOH:H₂O 95:05	49,41 \pm 0,38 ^b	97,17 \pm 0,17 ^a

Fonte: Autoria Própria, 2021

Os dados foram analisados de forma estatística expressos como média \pm desvio padrão ($n=6$). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Em trabalho publicado por Tonin et al. (2021), que estudou a influencia dos solventes hidroetanólicos e hidrometanólicos na atividade antioxidante do açafraão-da-terra cultivado em Maringá – Paraná, o solvente EtOH/H₂O 95:5 apresentou valor de %AA frente o DPPH de 96,06%, semelhante ao encontrado neste trabalho, e os extratos MeOH/H₂O 95:5 e 70:30 apresentaram valores semelhantes aos demais extratos hidroetanólicos deste estudo, demonstrando que o etanol, solvente menos tóxico que metanol, extrai os compostos bioativos de interesse, sendo necessário apenas otimizar a porcentagem a ser utilizada.

Martinez-Correa et al. (2017) demonstraram que o uso de etanol fornece extratos com maior atividade antioxidante quando comparado com o extrato aquoso. Seus estudos também demonstraram a influencia do solvente na extração dos compostos bioativos do açafraão-da-terra.



Os principais constituintes químicos do açafrão-da-terra são os compostos fenólicos curcumina, desmetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina. A quantidade extraída destes compostos pode estar diretamente relacionada com o potencial antioxidante do extrato do açafrão, visto que o modo como os compostos fenólicos reagem com os radicais depende de sua concentração e ainda podem agir de forma sinérgica, aditiva ou antagonista para inibir os radicais livres (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996). Estudos de quantificação da curcumina serão realizados posteriormente.

Apesar dos métodos utilizados neste trabalho envolverem transferência de elétrons e redução dos radicais livres, os extratos mais ativos foram diferentes, sendo importante a determinação da atividade antioxidante por outra metodologia, como por exemplo a habilidade quelante de ferro (II), que será realizada posteriormente.

4 CONCLUSÃO

Os extratos hidroetanólicos do açafrão, principalmente o EtOH/H₂O 70:30 e 90:10 pelo método ABTS e 95:5 (v/v) pelo método DPPH, mostraram-se com potencial antioxidante, incentivando estudos futuros de aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Multiusuário de Apoio à Pesquisa da UTFPR Câmpus Apucarana (LAMAP).

REFERÊNCIAS

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CHEN, I.N., et al. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Zingiberaceous Plants in Taiwan. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 63, p. 15-20, 2008.
- HEWLINGS, S. J.; KALMAN, D. S. Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. **Foods**, v. 6, p. 1-11, 2017.
- MARTINEZ-CORREA, H. A., et al. Composition and antimalarial activity of extracts of *Curcuma longa* L. obtained by a combination of extraction processes using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 122-129, 2017.
- MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 36, p. 1-11, 2002.
- PATIL, V. V.; SURWASE, S. R.; BELURE, A. S.; SURYAWANSHI, A. G.; MANE, D. V. Phytochemical analysis and antibacterial evaluation of *Curcuma longa* and *Curcuma aromatica*



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

- against enteric poultry pathogens. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, p. 2000-2003, 2019.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, p. 933-956, 1996.
- RUFINO, M. S. M.; et al. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{*+}. **Metodologia Científica. EMBRAPA**, v. 128, p. 1-4, 2007.
- SAWANT, R. S.; GODGHATE, A. G. Qualitative phytochemical screening of rhizomes of *Curcuma longa* Linn. **International Journal of Science and Technology**, v. 2, p. 634 – 641, 2013.
- SHAHIDI, F. Natural Antioxidants: An Overview. Em: **Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects and Applications**. AOCS Press: Champaign, Illinois, 1-11, 1996.
- TONIN, L. T. D.; DE OLIVEIRA, T. F. V.; DE MARCO, I. G.; PALIOTO, G. F.; DÜSMAN, E. Bioactive compounds and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of extracts of *Curcuma longa*. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 3752-3760, 2021.
- WANG, L.; WELLER, C. L. Recent advances in extraction of from plants. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, p. 300-312, 2006.
- ZHOU, H.; BEEVERS, C. S.; HUANG, S. The targets of curcumin. **Current Drug Targets**, v. 12, p. 332–347, 2011.