

Atividade Antioxidante de Extratos Metanólicos de Barrabás e Substratos Orgânicos: Comparação entre Duas Metodologias do DPPH

Josué M. Gonçalves¹ (IC)*, Andreiane R. Oliveira¹ (IC), Lúcia Betânia da S. Andrade¹ (PQ), Hécio S. Santos² (PQ), Murilo Sérgio da S. Julião¹ (PQ) E-mail: josuefiscoquimico@hotmail.com

¹Grupo de Pesquisa de Moléculas Bioativas – Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA/CE)

²Laboratório de Química de Produtos Naturais – Universidade Estadual Vale do Acaraú (UVA/CE)

Palavras Chave: Antioxidante, Métodos, DPPH.

Introdução

A atividade antioxidante (capacidade ou potencial antioxidante) é um parâmetro utilizado vastamente para caracterizar diferentes materiais biológicos¹. Os métodos mais comuns para se determinar a atividade antioxidante de modo prático, rápido e sensível são aqueles envolvendo um radical cromóforo que simulam as espécies reativas de oxigênio (EROs). A presença de antioxidantes leva ao desaparecimento da cor destes radicais, sendo um dos mais utilizados o radical DPPH* (α - α -difênil- β -picrilhidrazil)¹. Segundo Brand-Williams *et al.*² o uso deste radical fornece uma forma rápida tanto para analisar a atividade antiradicalar de antioxidantes como também para construir possíveis modelos cinéticos das reações.

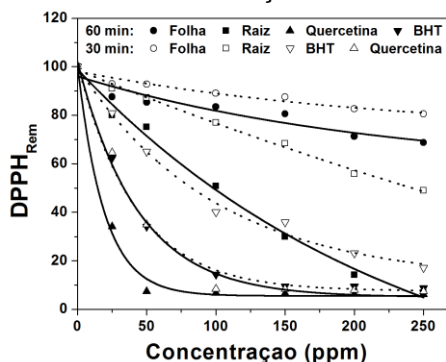
Neste trabalho, os resultados de atividade antioxidante obtidos em extratos metanólicos de folhas e raízes de *Euphorbia cotinifolia* L. (barrabás) e substratos orgânicos foram comparados por meio de 2 metodologias^{2,3} via sequestro do radical DPPH* a fim de se mostrar a importância da cinética reacional para esse tipo de atividade biológica.

Resultados e Discussão

A avaliação da atividade antioxidante foi realizada em extratos metanólicos obtidos de folhas e raízes de *Euphorbia cotinifolia* L. (barrabás) e dos substratos orgânicos: butil-hidroxi-tolueno (BHT) e quercetina, geralmente usados como controle positivo nesse tipo de avaliação. Foram empregadas duas metodologias utilizando-se o reagente DPPH. Na primeira, uma solução metanólica de DPPH 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foi misturada às soluções dos extratos metanólicos das substâncias testes nas concentrações de 25, 50, 100, 150, 200 e 250 $\mu\text{g/mL}$. Após 30 min. de reação, as absorbâncias das soluções foram medidas em cubetas de 1,0 cm em um espectrofotômetro UV-Vis (Micronal B582) a 517 nm. Na segunda metodologia, o mesmo procedimento descrito anteriormente foi realizado. Porém, as medidas de absorbância foram registradas no 1º, 5º e 10º minuto, após este tempo as absorbâncias foram registradas em intervalos de 10 minutos até completar-se 1 hora de reação.

A concentração eficiente (CE_{50}) foi determinada a partir de uma curva exponencial de 1ª ordem, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra ($\mu\text{g/mL}$) ou do substrato orgânico (controle positivo) e na ordenada, a porcentagem de DPPH remanescente⁴ (Figura 1).

Figura 1. Perfil da atividade antioxidante dos extratos metanólicos de folhas e raízes de barrabás e dos substratos orgânicos: BHT e quercetina obtida após 30 e 60 minutos de reação.



De acordo com a Tabela 1, é possível afirmar que no método em que se adota o tempo de 60 minutos, a reação entre o radical livre DPPH* e as espécies antioxidantes é completamente finalizada, pois os resultados de EC_{50} obtidos por essa metodologia são sempre inferiores, (2,5 vezes) aos obtidos quando se utiliza um tempo menor de reação (30 min.) e uma única leitura.

Tabela 1. Atividade antioxidante de extratos metanólicos avaliada por duas metodologias via sequestro de DPPH*.

| Extrato Metanólico | EC_{50} (ppm) 30 min. | EC_{50} (ppm) 60 min. |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|
| Folhas de barrabás | — | — |
| Raízes de barrabás | 242 | 98,1 |
| BHT | 82,6 | 33,1 |
| Quercetina | 33,4 | 14,5 |

Conclusões

Deve ser ressaltado que, quando não se conhece os metabólitos secundários presentes nos extratos não-aquosos obtidos a partir de plantas, é aconselhável o uso da segunda metodologia.

Os resultados deste estudo ratificam a importância de se considerar a cinética das reações envolvidas na avaliação da atividade antioxidante de metabólitos secundários a fim de não subestimar o real valor desse parâmetro e não incorrer em erros metodológicos

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq e à FUNCAP pelas Bolsas de Produtividade e Interiorização (BPI).

¹Arnao, M. B. *Trends in Food Science & Technology*, **2000**, *11*, 419.

²Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. *LWT - Food Sci. Technol.*, **1995**, *28*, 25.

³Hatano, T. *et al. Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, *37*, 2016.

⁴Sousa, C. M. M. *et al. Química Nova*, **2007**, *30*, 351.