UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial

VARIAÇÕES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS EM AMOSTRAS DE AÇAÍ DOS ESTADOS DO AMAZONAS E DO PARÁ.

Bolsista: Luiz Felipe Ravazi Pereira, FAPEAM

MANAUS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB - A - 0105/2012

VARIAÇÕES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DE SUBSTÂNCIAS FENÓLICAS EM AMOSTRAS DE AÇAÍ DOS ESTADOS DO AMAZONAS E DO PARÁ.

Bolsista: Luiz Felipe Ravazi Pereira, FAPEAM

Orientador: Prof. Msc. Carlos Victor Lamarão Pereira

MANAUS

2013

Esta pesquisa, financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Amazonas – FAPEAM, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Química de Biomoléculas da Amazônia e se caracteriza como sub projeto do projeto de pesquisa Bionorte.

RESUMO

O açaí (*Euterpe precatoria* Mart. e *Euterpe oleracea* Mart.) é uma palmeira da família das Arecaceas que possui distribuição nas regiões central, ocidental e oriental da Amazônia. Produz um fruto economicamente importante principalmente para a população da região Norte do Brasil, sendo que no ano de 2011 foram movimentados cerca de R$ 305 milhões com seu comércio ao todo no país. As duas espécies possuem diferenças importantes: *E. oleracea* é comercializada e produzida na Amazônia Oriental enquanto que *E. precatoria* na Amazônia Ocidental. A primeira possui alta produtividade, perfilhamento e tolerância à luminosidade enquanto que a segunda possui os cachos mais pesados, maior rendimento de frutos e tolerância ao estresse hídrico. De tal forma, a espécie com a maior produtividade é *E. oleracea*, sendo esta também a que produz a maior quantidade de resíduos. Esses resíduos apresentam-se hoje como um problema de saúde pública ~~pois~~, pois são descartados de forma irregular. Este estudo visa ampliar a visão sobre a utilização destes resíduos na elaboração de bioprodutos. Para tal o presente trabalho objetivou-se verificar a atividade antioxidante frente aos radicais DPPH e ABTS e quantificar as substâncias fenólicas presentes em sementes e polpas de açaí das duas espécies. Desta forma comparativa pretende-se aumentar a compreensão sobre suas diferenças, já que as polpas destas espécies possuem ampla utilização em bioprodutos amazônicos nacional e internacionalmente. O material vegetal foi coletado em Coari/AM, processado, foram preparados extratos etanólicos e estes foram desengraxados em partições com hexano:metanol, para concentração das frações de fenólicos. A atividade antioxidante qualitativa frente aos radicais DPPH e ABTS não apresentou resultado significativo para amostras de polpas. Os resultados mais promissores foram para extratos etanólicos de semente e fração metanólica de sementes da espécie B (DPPH 25,27±0,09 ug/mL, ABTS 26,29±0,85 ug/mL; DPPH 17,68±0,61 ug/mL, ABTS 17,56±1,20 ug/mL, respectivamente). Quanto aos fenóis totaisde fenóis, foi observada uma maior quantidade também para os extratos etanólicos de sementes da espécie B e sua fração metanólica (34,30±1,22% e 38,57±0,74%, respectivamente), sendo que as outras amostras chegaram a, no máximo, 16,39±0,42%~~. Foi também realizada análise por espectrometria de massas das substâncias constituintes dos extratos das sementes e polpas das duas espécies, indicando a presença de vitexina em maior intensidade em sementes de A que em fração da polpa de B, quercetina hidroxilmetilglutaril-ramosideo na fração metanólica de B, e orietina ou isoorietina nas polpas da espécie B. Pelargonidina 3-O-glucosídeo e quercetina foram observadas em todas as amostras analisadas~~. De tal forma foi possível concluir que os extratos etanólicos das polpas apresentaram resultados semelhantes quanto as atividades testadas,

Formatado: Português (Brasil)

Código de campo alterado

enquanto que as sementes apresentaram diferentes resultados ~~para os mesmos~~ sendo possível assim determinar a melhor espécie para pesquisas posteriores.

Palavras-chave: açaí, atividade antioxidante, DPPH, ABTS, fenóis totais, variação comparativa entre espécies, espectrometria de massas, *Euterpe precatoria* Mart., *Euterpe oleracea* Mart.

INTRODUÇÃO ..... **8~~3~~**
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA ..... **10~~4~~**
METODOLOGIA ..... **12~~6~~**
Coleta do material vegetal ..... 12~~6~~
Obtenção dos extratos ..... 12~~6~~
Partição líquido-líquido ..... 12~~6~~
Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH ..... 12~~6~~
Análise de compostos fenólicos totais ..... 14~~7~~
RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... **15~~8~~**
Rendimento dos extratos e partições ..... 15~~8~~
Ensaios qualitativos ..... 17~~10~~
Análise de atividade antioxidante qualitativa DPPH ..... 17~~10~~
Análise qualitativa de fenólicos totais ..... 18~~10~~
Ensaios quantitativos ..... 18~~10~~
Análise da atividade antioxidante qualitativa frente ao radical DPPH ..... 18~~10~~
Análise de atividade antioxidante ABTS ..... 19~~11~~
Comparação entre atividades antioxidantes DPPH e ABTS ..... 20~~11~~
Análise quantitativa de fenólicos totais ..... 21~~12~~
REFERÊNCIAS ..... **25~~14~~**
~~INTRODUÇÃO~~ **4**

Formatado: Fonte: Negrito
Código de campo alterado
Formatado: Fonte: (Padrão) Arial
Código de campo alterado
Formatado: Fonte: (Padrão) Arial
Código de campo alterado
Formatado: Fonte: (Padrão) Arial
Código de campo alterado
Formatado: Fonte: (Padrão) Arial
Código de campo alterado
Formatado: Fonte: (Padrão) Arial
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Fonte: (Padrão) Arial

INTRODUÇÃO

O consumo de polpas de frutas tem tido um crescimento visível nos últimos anos, apresentando no mercado um grande potencial para pesquisa e investimentos. No entanto, é notável que não existem padrões para muitas frutas que estão disponíveis no mercado. Por mais que não ocorra uniformidade, o consumo só tem aumentado nos últimos anos. Algumas frutas produzem naturalmente metabólitos secundários que são amplamente utilizados pelo homem na criação de bioprodutos. Entre estes metabólitos secundários é notável a presença das substancias antioxidantes, estas são capazes de inibir ou diminuir a presença de compostos oxidantes no corpo humano.

Nos últimos anos, segundo o IBGE (2013), tem-se observado uma mudança significativa na produção de açaí no estado do Amazonas. A hegemonia paraense é ameaçada pelas políticas públicas de incentivo de produção que vigoram no Amazonas desde 2002. Um exemplo disto é a ação conjunta entre SUFRAMA e a administração municipal visando de Codajás/AM organizando a produção e o aproveitamento industrial do açaí nesta cidade. Este incentivo governamental pode ser facilmente interpretado como sendo o grande propulsor para a participação do município de Codajás~~/AM~~ no mercado de açaí brasileiro, ~~chegando a superar~~superando no ano de 2011 o domínio histórico do município paraense Limoeiro do Ajuru (HERCULANO, 2013).

Formatado: Não Realce

Nas espécies de açaí já foram relatados muitos compostos fenólicos com atividade significativa para a saúde humana principalmente com capacidade antioxidante não só na polpa como também em diferentes peças morfológicas da planta como raízes e pecíolo (RODRIGUES et al., 2006; GALOTTA et al., 2006).

Faz-se muito importante estabelecer diferenças químicas entre as duas espécies de açaí comercializadas hoje, já que estas possuem períodos produtivos inversos durante o ano, produtividade distinta, perfilhamento e tolerância à luminosidade em *E. oleracea* enquanto que *E. precatoria* possui os cachos mais pesados, maior rendimento de frutos e tolerância ao estresse hídrico (EMBRAPA, 2013). De tal forma objetiva-se neste trabalho determinar as variações da atividade antioxidante e de substâncias fenólicas em amostras de açaí-do-amazonas (*Euterpe precatoria* Mart.) e açaí-do-pará (*Euterpe oleracea* Mart.) coletadas em Coari/AM, tanto na polpa como nos resíduos gerados pelo processamento tecnológico. Esta determinação será capaz de auxiliar tanto a empresários quanto aos produtores rurais, já que

ambos irão ter uma ideia mais clara sobre estes resíduos gerados no processamento agroindustrial do açaí e de suas capacidades e limitações para elaboração de bioprodutos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O açaízeiro é uma espécie pertencente à família Arecaceae (sin.: Palmae), gênero *Euterpe*, podendo ser de duas espécies, *Euterpe oleracea* ou *Euterpe precatoria*. A principal diferença morfológica entre as duas espécies é o tipo de caule, a espécie *Euterpe precatoria* não perfilha seu caule, ao contrário de *Euterpe oleracea* que forma touceiras por sua estrutura multicaulinar. O tamanho das sementes pode variar de 0,5 a 2,5 mm de diâmetro (QUEIROZ & MOCHIUTTI, 2001). A folha possui uma bainha que envolve o estipe, constituída de pecíolo com 20 a 40 cm de comprimento e limbo distintos. As raízes são fasciculadas densas e superficiais. Durante a fase reprodutiva, surge embaixo de cada bainha foliar um ramo florífero constituído de duas brácteas, de tamanho e formatos distintos e que envolvem a inflorescência propriamente dita. As brácteas, denominadas espatas, são fusiformes coriáceas, persistentes, extremamente lisas e de coloração esverdeada quando imaturas, e amarelada quando maduras. A inflorescência é do tipo cacho, sendo formada por uma ráquis, onde estão inseridas dezenas de ráquilas e, nelas milhares de flores unissexuais, sésseis, dispostas em espiral com até 8.000 femininas e 37.000 masculinas. (HENDERSON, 2000).

O centro de origem do açaizeiro ainda não está estabelecido. Sabe-se que as maiores extensões naturais dessa espécie se encontram na região do estuário do rio Amazonas. Nessa região é espécie comum em áreas de mata de terra firme, várzea e igapó. Sobre os centro de diversidade genética do açaizeiro também não se tem registros. Mas as informações sobre o gênero *Euterpe* apontam maior diversidade em áreas com variações de altitude, distribuída em dois principais centros: Noroeste da Colômbia e a costa Ocidental úmida dos Andes e outro localizado no escudo das Guianas e alto Rio Negro (LLERAS et al., 1983). Desta forma os indícios apontam que a diversidade genética do açaizeiro esteja localizada no segundo centro, onde está situado o estuário amazônico. Ressalta-se que nesses locais as plantas possuem variações bem acentuadas quanto às características morfológicas, fenológicas, fisiológicas e agroindustriais (OLIVEIRA et al., 2002).

A produção de açaí é uma das atividades mais antigas da região Amazônica, sendo utilizada há milhares de anos pelos índios da região. Essa atividade além de gerar divisas para os estados da região Norte também é responsável pela sobrevivência de milhares de famílias. A polpa de açaí hoje tem despertado grande interesse no mercado de frutas não somente do Brasil como também no mercado mundial, sendo hoje exportado cerca de 70% da produção nacional para o mercado estrangeiro (CONAB, 2013). Estatísticas oficiais dão conta que a

produção de frutos, em 2011, foi de 215.381 toneladas, com o valor total de toneladas, com o valor total de 304,566 milhões de reais, estando hoje 60,1% da produção concentrada no estado do Pará e 33,6% no estado do Amazonas (IBGE, 2011). Em Belém, capital do Pará, o consumo diário ultrapassa 360 mil litros, no período de safra (OLIVEIRA et al., 2002), necessitando-se de 430 t/dia de frutos, o que faz dessa atividade uma das mais atrativas para os produtores e investidores, respondendo por mais de 25.000 empregos diretos e indiretos só na cidade de Belém do Pará.

As duas espécies de açaí existentes possuem diferenças morfológicas e biológicas. A espécie *E. oleracea* possui caule do tipo estipe com perfilhos, ou seja, de modo multicaulinar enquanto que a espécie *E. precatoria* possui comportamento unitário. A espécie *E. oleracea* está naturalmente adaptada para a região de várzea, enquanto que *E. precatoria* está para a região de terra firme. A diferença de conhecimentos sobre ambas as espécies é também visível. Há muitos estudos sobre a polpa do "açaí-do-pará" (*E. oleracea*), muito mais discutido em literatura e como causa disso, está o maior interesse econômico no mesmo, já que este produz mais material comestível no mesmo período produtivo do "açaí-do-amazonas" (*E. precatoria*). O regime de chuvas na região, que vai de dezembro a maio, interfere diretamente na produção de *E. oleracea*. Nos meses do chamado verão amazônico, de junho a novembro, esta espécie melhora em quantidade e qualidade. A produção de *E. precatoria* se dá no primeiro semestre do ano, chamado de inverno amazônico,

O açaí é considerado hoje um *superfood* tendo este dez vezes mais antioxidantes que as frutas vermelhas e até trinta vezes mais antocianinas que o vinho vermelho. Os compostos oxidantes, ou radicais de oxigênio, tem um papel importante nas reações bioquímicas e fisiológicas do corpo humano, no entanto quando produzidos em excesso pelo nosso corpo em quadros patológicos ou por condições ambientais adversas podem ocasionar doenças e danos profundos aos tecidos. Se torna muito importante o estudo dos antioxidantes, pois tem-se conhecimento que os processos oxidativos podem causar danos ao DNA e às macromoléculas, e isto por sua vez desencadear enfermidades cardiovasculares e circulatórias (NESS & POWLES, 1997; STOCLET et al., 2004), cataratas e até mesmo Doença de Alzheimer (MOLYNEUX, 2004; HUANG, 2005). Esta atividade antioxidante no açaí (*E. oleracea*) está também ligada ao combate a células cancerígenas, 86% das células de leucemia responderam a presença da polpa com a autodestruição (TALCOTT et al., 2006).

METODOLOGIA

Coleta do material vegetal

As amostras de *Euterpe precatoria* e *Euterpe oleracea* foram coletadas na cidade de Coari, um município brasileiro situado no interior do estado do Amazonas. A coleta do material vegetal foi realizada em uma propriedade próxima a e a exsicata foi depositada no Herbário Botânico da Universidade Federal do Amazonas com número de inserção ???-.

Obtenção dos extratos

Após a coleta, o material foi limpo, seco em estufa de circulação em uma temperatura de 40ºC em um período de 24 horas e triturado em moinho de quatro facas. Com a amostra já processada foi realizada maceração a frio tendo como solvente o 100% de etanol por este ser de baixa toxicidade e permitir uso no mercado, foram utilizados 20g de material vegetal. A evaporação do solvente foi realizada no aparelho Evaporador Rotatório a uma temperatura de banho de cerca de 50ºC, rotação por minuto em torno de 50rpm e pressão do vácuo por volta de 600 mmHg. Uma vez que o projeto apresenta interesse para o depósito de patentes os resultados foram codificados.

Partição líquido-líquido

A metodologia utilizada para elaboração da partição líquido-líquido foi a solubilização de 150mg do extrato bruto (extrato em etanol) em metanol:água (3,6:0,4), adição à um funil de separação. Foram então realizadas quatro lavagens sucessivas com hexano para separação de substâncias de baixa polaridade a seguir foi retirada a fração metanólica que se encontrava no funil de separação e levada para um frasco já pesado para posteriores análises. A fração hexânica também foi transferida para frascos já pesados para o cálculo de rendimento.

Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada por meio da capacidade sequestrante do radical estável 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), utilizando quercetina como padrão externo. A atividade inibidora de radicais livres foi verificada de forma qualitativa (Molyneux, 2004) e quantitativa (Mensor, 2001).

$I\% = [A_{branco} – A_{amostra}) / A_{branco}] \times 100$

Onde: A_{branco} é a absorbância do controle reacional (contendo todos os reagentes com exceção às amostras testadas), $A_{amostra}$ é a absorbância das amostras testadas. A concentração do

Formatado: Cor da fonte: Automática

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Realce

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Cor da fonte: Automática

extrato capaz de inibir 50% (IC_{50}) foi calculada a partir de uma porcentagem de inibição contra um gráfico de concentração do extrato.

Análise da atividade antioxidante ABTS

No método do $ABTS^{+\bullet}$, o radical monocátion, cromóforo verde/azul, é gerado pela oxidação de ABTS [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolina-6-sulfonado)] com persulfato de potássio. A adição do antioxidante ao radical cátion pré-formado o reduz novamente a ABTS, promovendo a supressão da cor da solução.

A atividade antioxidante quantitativa foi avaliada em microplaca de 96 poços. O radical $ABTS^{\cdot+}$ foi diluído em água miliQ e previamente oxidado com 1 parte de persulfato de potássio 5 mM por 16h. Uma alíquota de 30 µL das amostras em concentração de 1 mg/mL foi adicionada num poço. Foram acrescentados 270 µL da solução de $ABTS^{\bullet+}$ oxidado. Após 15 min a absorbância foi medida em leitora de microplaca a 630 nm. Os experimentos foram analisados em triplicata e partir dos resultados obtidos, determinou-se a porcentagem de $ABTS^{\bullet+}$ remanescente no meio reacional e comparados com o padrão Trolox® (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) (Re *et al*., 1998).

Análise de compostos fenólicos totais

O método de Folin–Ciocalteu foi utilizado (SINGLETON et al., 1999). Cada solução das amostras (10µL) foram reunidos com 50 µL do reagente Folin–Ciocalteu (Sigma–Aldrich Chemie, Steinheim, Germany) por 8 minutos e 240 µL de carbonato de sódio (Na2CO3) foi adicionado. Após a incubação à temperature ambiente por 3 minutos, a absorbancia da mistura de reação foi mensurado à 760 nm contra uma o metanol branco (beam Beckman Coulter, DTX 800 multimode detector UV/Visible spectrophotometer). O ácido gálico foi utilizado como padrão. O teste foi realizado em triplicata. O resultado dos fenóis totais contidos nas amostras ~~foi expresso em % e em miligrama de ácido gálico equivalente (mg GAE/100 g) de extrato.~~

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Fonte: 11 pt, Português (Brasil)

Formatado: Justificado, Recuo: Primeira linha: 1 cm, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

Formatado: Fonte: 11 pt, Português (Brasil)

Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, 11 pt, Português (Brasil)

Formatado: Fonte: Negrito

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Rendimento dos extratos e partições

Formatado: Fonte: Negrito

~~Através da aplicação da metodologia de extração, com etanol, obteve-se os resultados para rendimento os quais estão expressos na tabela a seguir:~~

Quando comparamos as peças morfológicas distintas verificamos que o rendimento nas polpas é superior, as polpas da espécie A possuem um rendimento maior que cinco vezes o rendimento das sementes, enquanto que as polpas da espécie B possui um rendimento menor que duas vezes o rendimento das sementes. Em síntese, a razão entre as substâncias de polares entre a polpa e semente é menor na espécie B, isto indica uma maior facilidade de serem extraídas substâncias polares da semente B.

~~A seguinte tabela demonstra os resultados de rendimento para a partição líquido-líquido realizada:~~

Formatado: Espaço Depois de: 0 pt

Ao se analisar comparativamente o rendimento das partições das polpas verificou-se que estas da espécie A possuem acima de duas vezes a quantidade de substâncias polares presentes nas polpas da espécie B. Verifica-se também que a quantidade de substâncias apolares (ácidos graxos por exemplo) é quase 40% maior em polpas da espécie B quando é realizada a comparação desta fração.

A análise destes resultados indica que as polpas da espécie A possuem uma quantidade muito semelhante de substâncias apolares enquanto que as polpas da espécie B possuem mais que quatro vezes substâncias apolares que substâncias polares. Quando analisamos os resultados para sementes verificamos que ambas possuem maior quantidade de substâncias polares que apolares. Principalmente na espécie B, na peça morfológica semente foi verificada uma concentração de substâncias polares maior que vinte e oito vezes a quantidade de substâncias apolares. Isto indica uma maior atividade antioxidante nas sementes já que as substâncias antioxidantes são polares.

Através de uma comparação realizada entre o rendimento do extrato etanólico e o rendimento das partições foi~~é~~ possível verificar a razão entre as substâncias polares e apolares em ambas as espécies. Quando atribuído 100g de amostra vegetal para ambas as espécies e em seguida realizada a relação entre a média dos rendimentos dos extratos etanólico e

rendimentos obtidos nas partições obteremos a seguinte tabela em gramas para a quantidade em gramas das substâncias polares e apolares:

	Espécie A (g)		Espécie B (g)	
	Polpa (P)	Semente (S)	Polpa (P)	Semente (S)
Fração Metanólica (M)	2,52	0,96	2,15	7,05
Fração Hexânica (H)	3,18	0,14	10,05	0,25
	5,7	1,1	12,2	7,3

Tabela 31: Rendimento das partições para 100g de amostra vegetal.

Ao se analisar comparativamente a polpa de ambas as espécies verificou que estas possuem concentração semelhante de constituintes polares. A polpa da espécie A possui cerca de 0,4g a mais de substâncias polares que na mesma peça morfológica da espécie B. Quando é realizada a comparação eEntre sementes, a distinção entre ambas é notável, sendo que as sementes da espécie B possuem acima de sete vezes a quantidade de substâncias polares em sua constituição que as sementes da espécie A.

Ao se analisar a fração hexânica de ambas as espécies é possível verificar que a polpa da espécie B possui acima de três vezes mais constituintes apolares que as polpas da espécie A. Analisando as sementes verificamos o mesmo comportamento em proporção distinta, as sementes da espécie B possui em sua constituição quase duas vezes a quantidade de substâncias apolares que as sementes da espécie A.

De tal modo é possível verificar que a variação entre os constituintes da polpa nas duas espécies é pouco notável, o que explica a larga utilização de ambas as espécies no mercado nacional e mundial. No entanto há uma diferença importante entre as sementes, sendo a espécie B com acima de sete vezes a quantidade em grama de substâncias polares quando é realizada a comparação com a espécie A. Esta diferença pode ser muito importante para a determinação da espécie mais viável no desenvolvimento de bioprodutos.

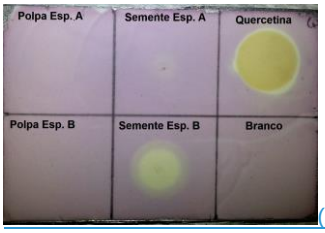
Ensaios qualitativos

Análise de atividade antioxidante qualitativa DPPH

Quando aplicada a metodologiaAplicando-se a metodologia de atividade antioxidante DPPH qualitativa para atividade antioxidante qualitativa obteve-se como presente em maior concentração em sementes da espécie B e em pequena concentração em sementes da espécie A, nas polpas de ambas espécies não foi detectada nenhuma atividade antioxidante. Estas A B al livre DPPH• (di(phenyl)-(2,4,6-

Formatado: Fonte: 10 pt
Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Formatado: Fonte: 10 pt
Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Formatado: Fonte: 10 pt
Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Formatado: Fonte: 10 pt
Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Formatado: Fonte: 10 pt
Formatado: Espaçamento entre linhas: simples
Formatado: Fonte: (Padrão) Times New Roman, Negrito
Formatado: Fonte: (Padrão) Times New Roman
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Recuo: Primeira linha: 0 cm, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Fonte: Negrito
Formatado: Espaço Antes: 0 pt, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaço Antes: 0 pt, Depois de: 0 pt, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

trinitrophenyl)iminoazanium), como padrão para atividade antioxidante foi utilizada a quercetina.



(A)

(B)

Figura 12: Teste qualitativo de atividade antioxidante (Aa) e fenóis totais (bB).
A seguir a foto do experimento:

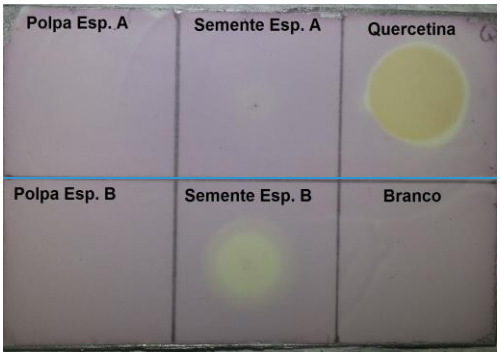


Figura 2: Teste de atividade antioxidante qualitativo em amostras.

Análise qualitativa de fenólicos totais

Quando aplicada a metodologia Napara determinação qualitativa de fenóis totais foi obtido o seguinte resultado ilustrado na Figura 2 (B) onde a amostra que demonstrou maior concentração de fenóis totais foi sementes da espécie B. Como padrão para o teste qualitativo utilizou-se ácido gálico.

Formatado: Centralizado

Formatado: À esquerda, Espaço Depois de: 0 pt, Espaçamento entre linhas: simples, Tabulações: 6,63 cm, À esquerda

Tabela formatada

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial

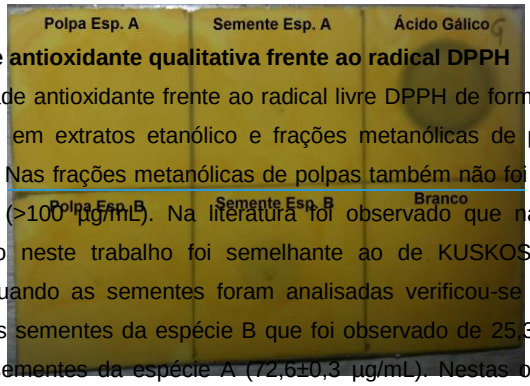
Formatado: Centralizado, Espaço Depois de: 0 pt, Espaçamento entre linhas: simples

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

Formatado: Fonte: Negrito



Análise da atividade antioxidante qualitativa frente ao radical DPPH

Para a atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH de forma quantitativa não foi encontrada atividade em extratos etanólico e frações metanólicas de polpas de ambas as espécies analisadas. Nas frações metanólicas de polpas também não foi encontrada atividade antioxidante notável (>100 µg/mL). Na literatura foi observado que na região da polpa o resultado encontrado neste trabalho foi semelhante ao de KUSKOSKI et al. (2005) de 108,5±2,6 µg/mL. Quando as sementes foram analisadas verificou-se uma atividade muito promissora, tanto nas sementes da espécie B que foi observado de 25,3±0,1 µg/mL, superior ao encontrado nas sementes da espécie A (72,6±0,3 µg/mL). Nestas o resultado se repetiu com a fração metanólica da espécie B (17,7±0,6 µg/mL) superior a fração metanólica da espécie A (23,2±2,3 µg/mL).

A seguinte tabela demonstra os resultados obtidos para os testes de atividade antioxidante DPPH, ABTS e a quantificação de fenólicos totais. Todos os resultados foram expressos de forma quantitativa.

Amostras	Atividade antioxidante (DPPH) ug/mL	ABTS (ug/mL)	Fenóis totais (%)
~~Polpa Espécie A~~	~~>100~~	~~>100~~	~~6,6±0,1~~
~~Polpa Espécie B~~	~~>100~~	~~>100~~	~~5,7±0,2~~
Semente Espécie A	72,6±0,3	75,9±0,9	9,4±0,4
Semente Espécie B	25,3±0,1	26,3±0,8	34,3±1,2
~~Fração Metanólica Polpa Espécie A~~	~~>100~~	~~>100~~	~~5,3±0,3~~
~~Fração Metanólica Polpa Espécie B~~	~~>100~~	~~>100~~	~~2,6±0,2~~
Fração Metanólica Semente Espécie A	23,2±2,3	52,4±0,6	16,4±0,4
Fração Metanólica Semente Espécie B	17,7±0,6	17,6±1,2	38,6±0,7
Padrão	7,6±0,04	6,2±0,2	100

Tabela ~~3~~24: Resultados para atividade antioxidante, fenóis totais em amostras e

Formatado: Espaço Antes: 0 pt, Depois de: 0 pt, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Tabela formatada
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas
Formatado: Fonte: Negrito

Análise de atividade antioxidante ABTS

Quando aplicada a metodologia para atividade antioxidante reativa a ABTS de forma quantitativa foi observada que as polpas, tanto extrato bruto quanto partição metanólica, não apresentaram atividade de reatividade notável (>100 µg/mL), na literatura foi reportada a atividade reativa ABTS em polpas de *Euterpe oleracea* foi de 163,4 ± 4 TEAC (KUSKOSKI et al., 2005). ~~Quando foram analisados o~~Analisando ~~s resultados d~~as sementes ~~observamos~~ promissor está novamente nas sementes da espécie B tanto no extrato bruto (26,3±0,8 µg/mL) quanto na fração metanólica (17,6±1,2 µg/mL). Para a espécie A foi verificado uma menor atividade no extrato bruto (75,9±0,9 µg/mL) quando comparado com a partição metanólica (52,4±0,6 µg/mL), isto indica que quando realizadas as partição de ambas as amostras após serem retiradas as substâncias apolares contidas, a inibição do radical livre aumentou.

Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

A análise dos resultados indica que as partições metanólicas apresentam resultados mais promissores em ambas as espécies A (23,2 ± 2,30µg/mL) e B (17,7 ± 0,6µg/mL), nos extratos brutos de polpas e na fração metanólica os resultados não foram significativos (>100) algo semelhante ao reportado em literatura 108,5±2,6 µg/mL para *Euterpe oleracea* M. (KUSKOSKI et al., 2005). Os resultados para atividade antioxidante de reatividade ABTS apontaram também para a fração metanólica da semente da espécie B (17,56 ± 1,20 µg/mL) quando comparada à fração metanólica da semente da espécie A (52,42 ± 0,62 µg/mL), nas polpas analisadas não obteve-se um resultado significativo mais uma vez (>100), também semelhante ao resultado reportado na literatura de *Euterpe oleracea* foi de 163,4 ± 4 TEAC (KUSKOSKI et al., 2005).

Os resultados semelhantes de atividade antioxidante ABTS e DPPH nas sementes analisadas demonstraram um valor muito semelhante o que indica confiabilidade em ambos os testes~~nos testes de atividade antioxidante~~. Foi verificado que nas amostras de semente da espécie A há muita semelhança com ambos os resultados, apresentando 72,6±0,3 µg/mL para o teste ~~de atividade antioxidante~~ DPPH e apresentando 75,9 ± 0,9 µg/mL para o teste ~~de atividade antioxidante~~ ABTS. Esta semelhança se fez presente também~~O mesmo ocorreu~~ para as sementes da espécie B quando foi verificada a semelhança entre os resultados, apresentando 25,3±0,1 µg/mL para o teste de atividade antioxidante DPPH e apresentando 26,3 ± 0,8 µg/mL para o teste de atividade antioxidante ABTS. Nas frações metanólicas só foi verificado que houve grande semelhança entre os resultados de frações metanólicas de

sementes da espécie B sendo o resultado para a atividade antioxidante DPPH 17,7±0,6 µg/mL e para a atividade antioxidante ABTS 17,6 ± 1,2 µg/mL.

~~As atividades antioxidantes observadas~~Observou-se que a atividade antioxidante nas sementes de açaí foi~~ram~~ superior~~es~~ às ~~atividade antioxidantes~~ reportadas na literatura para a polpa da espécie *Euterpe oleracea,* sendo as maiores ~~atividades antioxidantes de DPPH~~ vezes superior e quando comparamos a atividade antioxidante ABTS o valor é ainda maior sendo cerca de nove vezes superior. ~~A análise destes resultados aponta que as sementes da~~ pode ser utilizada na agroindústria na elaboração de bioprodutos amazônicos.

Análise quantitativa de fenólicos totais

Quando aplicada a metodologia para quantificação de compostos ~~fenolicos~~ fenólicos foi observada uma maior porcentagem destes na peça morfológica sementes da espécie B (34,30±1,22%) quando comparado às sementes da espécie A (9,39±0,37%). Entre os extratos etanólicos das sementes particionados com metanol se repetiu o resultado sendo observada uma maior quantidade de fenóis na fração metanólica de sementes da espécie B (38,57±0,74%) e menor na fração metanólica de sementes da espécie A (5,33±0,26%). A amostra que apresentou uma maior porcentagem de compostos fenólicos foi fração metanólica da espécie B com 38,57±0,74% e a amostra que apresentou menor porcentagem de compostos fenólicos encontrado está na fração metanólica da polpa de espécie B com 2,59±0,17%. Para *Euterpe oleracea* na re~~a~~gião da polpa a maior quantidade já reportada na polpa foi de 46,64±2,48% (POMPEU et al., 2009). Na região da semente não foram encontrados resultados prévios na literatura sendo este estudo pioneiro.

~~**Análise de espectrometria de massas**~~

A partir deste trabalho foi possível um aprendizado muito grande principalmente na área de conhecimento científico química, a utilização de metodologias diferentes demonstrou a dinamização da pesquisa científica que foi aqui desenvolvida. Neste trabalho foi verificado que as sementes da espécie B possuem atividade antioxidante muito promissora sendo provavelmente esta atividade superior até mesmo a atividade antioxidante encontrada nas polpas da mesma espécie, foi também verificada uma atividade antioxidante promissora nas frações metanólicas de sementes de ambas as espécies e a quantidade de fenólicos totais para as sementes da espécie B indica alta quantidade destas substâncias nas mesmas. Estes resultados apontam para uma continuidade ao trabalho aqui realizado sendo o mesmo capaz

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

Formatado: Fonte: Negrito

de gerar em um futuro bioprodutos amazônicos que auxiliem ao progresso da comunidade da Região Amazônica como um todo.

Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

Formatado: Fonte: 11 pt

Formatado: Título 1, À esquerda, Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

REFERÊNCIAS

ABDILLE, M.H. et al. Antioxidant activity of the extracts from *Dillenia indica* fruits. **Food Chem.**, v.90, p.891-896, 2005.

ENGELS, G., 2010. Açai – *Euterpe oleracea*(herb profile). **Herbalgram** 86, 1–2.

HERCULANO, F. E. B; VEIGA-JUNIOR, V. F.; PEREIRA, J. O.; PIMENTA, N. L.: Produção industrial de cosméticos: o protagonismo da biodiversidade vegetal da Amazônia. **Tese**. 146p. 2013

HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since **Agricultural and Food Chemistry** **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, n. 6, p. 1.841-1.856, 2005.

IADEROZA, M., BALDINI, V.L., DRAETTA, I., BOVI, M.L.A., Anthocyanins from fruits of açaí (Euterpe oleracea Mart.) and jucara (Euterpe edulisMart.). **Trop. Sci.** 32, 41–46, 1992.

MAIA, G. A, SOUSA, P. H. M. de, LIMA, A.S. Processamento de Sucos de Frutas Tropicais. Fortaleza: **Edições UFC**, 320p, 2007.

NESS, A.R.; POWLES, J.W. Fruit and vegetables, and cardiovascular disease: a review. **International Journal of Epidemiology** **Int J Epidemiol**, v.26, n.1, p.1-13, 1997.

OLIVEIRA, M.S.P; CARVALHO, J.E.U; NASCIMENTO, W.M.O; MULLER, C.H. Cultivo do açaizeiro para produção de frutos. Belém, Pará. **Embrapa Amazônia Oriental**, 17p, 2002.

PACHECO-PALENCIA, L.A., DUNCAN, Ch.E., TALCOT, S.T., Phytochemical composition and thermal stability of two commercial ac¸ai species,Euterpe oleraceaand Euterpe precatoria. **Food Chem.** 115, 1199–1205, 2009.

RIBEIRO, J.C., ANTUNES, L.M., AISSA, A.F., DARIN, J., VERA de ROSSO, V., MERCADANTE, A.Z., IANCHI, M., Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic effects after acute and subacute treatments with ac¸ai pulp (Euterpe oleraceaMart) on mice using erythrocytes micronucleus test and the comet assay. **Mutation Res.** 695, 22–28, 2010.

VATTEM, D.A. et al. Cranberry synergies for dietary management of *Helicobacter pylori* infections. **Process Biochem**, v.40, p.1583–1592, 2005.

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Espaçamento entre linhas: 1,5 linhas

Formatado: Fonte: Itálico, Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Fonte: Itálico

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Português (Brasil)

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Inglês (Estados

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Fonte: Negrito

Formatado: Inglês (Estados Unidos)