

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DE RESÍDUO AGROINDUSTRIAL DE AMORA-PRETA (*RUBUS SPP.*)

V. F. Glovacki¹, J. B. Ghisleri¹, D. L. Mazur¹, E. R. L. R. Watanabe¹

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Ponta Grossa, Brasil
(vanessaglovacki@alunos.utfpr.edu.br)

O resíduo agroindustrial de amora-preta (*Rubus spp.*) é rico em compostos bioativos. Este trabalho objetivou determinar o teor de fenóis totais e a atividade antioxidante do extrato aquoso obtido por ultrassom. Utilizou-se os métodos de Folin-Ciocalteu (fenóis totais) e DPPH (atividade antioxidante). Os resultados revelaram elevado teor de fenóis totais (3364,0 mg EAG/100 g) e atividade antioxidante moderada ($IC_{50} = 1100,33$ mg/L). Conclui-se que o resíduo de amora-preta é fonte promissora de antioxidantes naturais.

Palavras-chave: Amora-preta; compostos fenólicos; atividade antioxidante; DPPH; resíduo agroindustrial.

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por alimentos funcionais e ingredientes naturais tem impulsionado a pesquisa científica voltada à caracterização de compostos bioativos provenientes de resíduos agroindustriais. A amora-preta (*Rubus spp.*) destaca-se pela elevada concentração de metabólitos secundários com reconhecida bioatividade (Fredes et al., 2014).

Entre os compostos bioativos presentes na amora-preta, os fenóis e polifenóis, especialmente antocianinas, flavonoides e ácidos fenólicos, são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante atribuída a essa fruta (Moraes et al., 2020). Essas substâncias atuam como neutralizadores de radicais livres, protegendo biomoléculas contra danos oxidativos, associados a doenças crônicas não transmissíveis (Nascimento et al., 2020).

Grande parte da produção de amora-preta é destinada ao processamento industrial (sucos, geleias, polpas), gerando resíduos como cascas, sementes e polpa remanescente, que, apesar de ricos em compostos bioativos, são frequentemente descartados de forma inadequada.

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivos determinar o teor de compostos fenólicos totais no extrato aquoso do resíduo agroindustrial de amora-preta (polpa e casca) pelo método de Folin-Ciocalteu e avaliar sua capacidade antioxidante pelo ensaio

DPPH, calculando a concentração inibitória média (IC_{50}).

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação dos extratos

O resíduo agroindustrial de amora-preta (*Rubus spp.*), constituído por polpa triturada e cascas, foi seco em estufa com circulação de ar a 40°C até atingir peso constante. Em seguida, o material seco foi triturado em liquidificador industrial e peneirado em conjunto de peneiras com malhas 20 e 32 mesh, obtendo-se partículas com granulometria padronizada entre 0,500 mm e 0,850 mm, garantindo homogeneidade ao processo extrativo.

A extração dos compostos bioativos foi realizada em banho ultrassônico (modelo HXBuc, frequência de 40 kHz), adotando-se a proporção de 1 g de amostra para 5 mL de água destilada. A mistura foi submetida à extração sob temperatura controlada de 50°C durante 60 minutos. Após esse período, o extrato foi filtrado em papel filtro qualitativo (110 mm de diâmetro) e armazenado sob refrigeração a 4°C até o momento das análises.

Atividade antioxidante — método DPPH

A capacidade antioxidante foi avaliada pelo método do sequestro do radical livre DPPH. O princípio do método baseia-se na redução do radical DPPH• (coloração púrpura, absorção máxima em 515 nm) à sua forma reduzida (2,2-difenil-1-picril-hidrazina,

coloração amarelada) por substâncias antioxidantes doadoras de hidrogênio ou elétrons.

Preparou-se uma solução estoque de DPPH (24 mg em 100 mL de etanol absoluto) e, a partir desta, uma solução de uso (diluição 1:10). O extrato de amora-preta foi testado em triplicata. A reação foi conduzida em ambiente escuro, com 150 µL do extrato ou padrão (Trolox) adicionados a 5.850 µL da solução de DPPH. Após 30 minutos de repouso, mediu-se a absorbância a 515 nm em espectrofotômetro. O percentual de inibição foi calculado pela Equação (1):

$$\% \text{ Inibição} = (\text{Abs controle} - \text{Abs amostra}) / \text{Abs controle} \times 100 \text{ (1)}$$

A curva padrão foi construída com soluções de Trolox nas concentrações de 50 a 2000 µM. O valor de IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% dos radicais livres) foi obtido por interpolação linear da curva de percentual de inibição em função da concentração do extrato, utilizando a equação da reta gerada a partir dos dados experimentais da própria amostra.

Quantificação de fenóis totais — método de Folin-Ciocalteu

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, baseado na redução, em meio alcalino, do reagente (mistura de ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico) pelos fenóis presentes, formando complexos de coloração azul proporcional à concentração.

Construiu-se uma curva de calibração com soluções padrão de ácido gálico nas concentrações de 5 a 160 mg/L ($R^2 = 0,999$). O extrato foi diluído (2 mL do extrato puro para 5 mL com água destilada). Em tubos de ensaio protegidos da luz, adicionaram-se 0,25 mL do extrato diluído (ou padrão), 2,75 mL do reagente de Folin-Ciocalteu a 3% e, após 5 minutos, 0,25 mL de carbonato de sódio a 10%. Após 60 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, a absorbância foi lida a 765 nm. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g de amostra (base úmida) e foi realizado conforme a equação (2).

$$\text{Fenóis totais} \left(\text{mg} \frac{\text{EAG}}{100\text{g}} \right) = \frac{C \cdot Fd \cdot V}{m} \text{ (2)}$$

Onde:

C = concentração obtida pela curva (mg EAG/L) = 134,56 mg/L

Fd = fator de diluição = 2,5 (2 mL para 5 mL)

V = volume total de extrato (L) = 0,005 L (5 mL)

m = massa seca da amostra (g) = 0,5 g (considerando 1 g de amostra seca em 5 mL de água, e utilizando-se alíquota de 0,25 mL na análise)

Assim:

Concentração no extrato puro = $134,56 \times 2,5 = 336,40 \text{ mg EAG/L}$

Massa de extrato = $336,40 \text{ mg/L} \times 0,005 \text{ L} = 1,682 \text{ mg EAG}$

Teor = $1,682 \text{ mg} / 0,5 \text{ g} = 3,364 \text{ mg EAG/g} = 3364,0 \text{ mg EAG/100 g}$

Os resultados foram expressos em base seca.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Curvas de calibração

Para garantir a confiabilidade e a exatidão das análises quantitativas, curvas de calibração foram construídas tanto para o método de Folin-Ciocalteu (fenóis totais) quanto para o ensaio DPPH (atividade antioxidante).

A Figura 1 apresentou a curva de calibração para a quantificação de fenóis totais utilizando ácido gálico como padrão. Observou-se excelente linearidade na faixa de concentração de 5 a 160 mg/L, com coeficiente de determinação $R^2 = 0,999$, indicando forte correlação entre a absorbância a 765 nm e a concentração de equivalentes de ácido gálico. Esse elevado R^2 atestou a precisão do método e a qualidade dos dados experimentais.

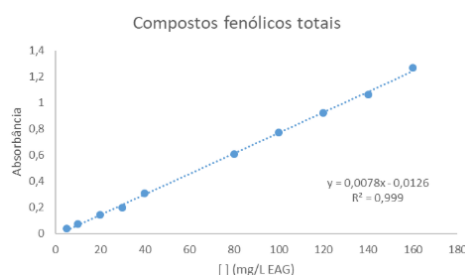


Figura 1. Curva de calibração para a concentração de Fenólicos Totais

A Figura 2 mostrou a curva de calibração para o ensaio de atividade antioxidante (DPPH) utilizando Trolox como padrão na faixa de concentração de 50 a 2000 µM. O coeficiente de determinação obtido foi $R^2 = 0,9929$, demonstrando boa correlação linear entre a concentração de Trolox e a absorbância a 515

nm. Esse valor, embora ligeiramente inferior ao da curva de fenóis totais, foi considerado excelente para bioensaios, garantindo a confiabilidade no cálculo da IC50.

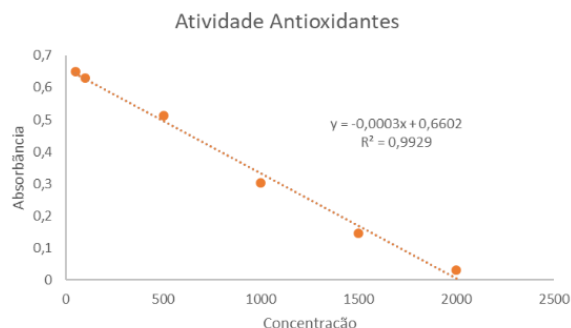


Figura 2. Curva de calibração para a Atividade Antioxidante

Teor de compostos fenólicos totais

A curva de calibração do ácido gálico apresentou excelente linearidade ($R^2 = 0,999$), conferindo alta confiabilidade aos resultados. A absorbância média do extrato de amora-preta foi de 1,037. Utilizando a equação da reta ($y = 0,0078x - 0,0126$), obteve-se uma concentração de 134,56 mg EAG/L. Após aplicação do fator de diluição ($2,5\times$), a concentração no extrato puro foi calculada em 336,40 mg EAG/L. Considerando a massa de amostra e o volume de extrato, o teor de fenóis totais em base úmida foi de 3364,0 mg EAG/100 g (Tabela 1).

Tabela 1. Teor de fenóis totais no extrato de resíduo de amora-preta.

Amostra	Absorbância média (765 nm)	Fenólicos totais (mg EAG/100 g b.u.)
Amora-preta	1,037	3364,0

Esse valor está em plena concordância com estudos prévios que posicionam a amora-preta como uma das frutas com maior concentração de compostos fenólicos entre as frutas de clima temperado. Fredes et al. (2014) relataram valores entre 2500 e 4000 mg EAG/100 g para diferentes cultivares chilenas, enquanto Moraes et al. (2020) encontraram teores semelhantes para a cultivar BRS Xingu. Esse elevado teor é atribuído principalmente à presença de antocianinas (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo) e ácidos fenólicos (elágico e gálico), compostos com reconhecido poder redutor.

Atividade antioxidante (DPPH)

A curva de calibração do DPPH apresentou boa correlação linear ($R^2 = 0,9929$). A absorbância média da amostra a 515 nm foi de 0,267, enquanto o

controle (DPPH sem extrato) apresentou absorbância de 0,6602. O percentual de inibição calculado foi de 59,56%. A partir da equação da reta, determinou-se a concentração inibitória média: IC50 = 1100,33 mg/L (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antioxidante do extrato de resíduo de amora-preta.

Amostra	Absorbância média (515 nm)	% Inibição	IC50 (mg/L)
Amora-preta	0,267	59,56%	1100,33

A análise integrada dos resultados revela um aspecto cientificamente relevante: apesar do elevado teor de fenóis totais (3364,0 mg EAG/100 g), a atividade antioxidante frente ao radical DPPH foi apenas moderada (IC50 de 1100,33 mg/L). Essa aparente contradição não invalida o potencial da amora-preta, mas sim aponta para a importância do perfil qualitativo dos compostos fenólicos.

Conforme discutido por Oliveira (2015), o método de Folin-Ciocalteu quantifica a capacidade redutora total, ou seja, todos os compostos capazes de transferir elétrons em meio alcalino, incluindo açúcares redutores e algumas vitaminas, além dos fenóis. Já o ensaio DPPH é mais específico para a capacidade de sequestro de radicais livres em meio orgânico. Portanto, é possível que a matriz da amora-preta contenha grande quantidade de fenóis com alto poder redutor (detectados por Folin), mas com menor afinidade específica pelo radical DPPH, ou que efeitos de sinergismo/antagonismo entre os compostos presentes tenham influenciado o resultado.

Estudos complementares de Pereira et al. (2022) e Nascimento et al. (2020) também relataram correlações nem sempre diretas entre fenóis totais e atividade DPPH, reforçando a necessidade de identificar individualmente os compostos bioativos por técnicas como cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou espectrometria de massas. Apesar da atividade moderada frente ao DPPH, o IC50 de 1100,33 mg/L ainda é considerado promissor para aplicações industriais, especialmente quando comparado a outros resíduos agroindustriais já estudados.

CONCLUSÃO

O resíduo agroindustrial de amora-preta (polpa e casca) constitui uma matriz vegetal de elevado valor

fitoquímico, confirmando sua relevância como fonte de compostos bioativos mesmo após o processamento industrial. O resíduo apresentou expressiva capacidade redutora, atribuível à presença majoritária de compostos fenólicos, o que o qualificou como matéria-prima promissora para a obtenção de extratos ricos em antioxidantes naturais. O extrato do resíduo apresentou capacidade real de neutralização de radicais livres, ainda que com eficiência moderada frente ao radical DPPH específico, sendo essa uma característica inerente ao perfil qualitativo dos compostos presentes. Observou-se uma não proporcionalidade direta entre a quantidade de fenóis totais e a eficiência antioxidante, o que reforçou a importância de investigar não apenas o conteúdo, mas também a identidade e a estrutura molecular dos compostos bioativos. O aproveitamento do resíduo de amora-preta representou uma estratégia sustentável e de valor agregado, alinhada aos princípios da economia circular, com potencial de aplicação tecnológica nas indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Campus Ponta Grossa pelo suporte institucional e pela infraestrutura laboratorial disponibilizada.

REFERÊNCIAS

FREDES, C. et al. Comparação do conteúdo fenólico total, conteúdo de antocianina total e atividade antioxidante de frutas ricas em polifenóis cultivadas no Chile. **Ciencia e Investigación Agraria**, Santiago, v. 41, n. 1, p. 49-60, 2014.

MARJANOVIC, A. et al. Multivariate analysis of polyphenolic content and in vitro antioxidant capacity of wild and cultivated fruits from Bosnia and Herzegovina. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 19259, 2021.

MORAES, D. P. et al. Characterization of a new blackberry cultivar BRS Xingu: Chemical composition, phenolic compounds, and antioxidant capacity in vitro and in vivo. **Food Chemistry**, v. 322, p. 126783, 2020.

NASCIMENTO, A. L. A. A. et al. Chemical characterization and antioxidant potential of native fruits of the Cerrado of northern Minas Gerais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, p. e2019296, 2020.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

PEREIRA, K. et al. Atividade antioxidante e determinação de fenólicos totais de produtos naturais da flora brasileira. **Revista de Ciências Farmacêuticas Aplicadas e Pesquisa**, v. 3, p. 47-50, 2022.