



V Encontro de Iniciação Científica e Tecnológica  
V EnICT  
ISSN: 2526-6772  
IFSP – Câmpus Araraquara  
22 e 23 de outubro de 2020



## DETERMINAÇÃO DE CURVA DE CALIBRAÇÃO E ENSAIO DE DPPH PARA A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO FRUTO CAMBUCI

Fabíola Pisciotto de Oliveira<sup>1</sup>, Vania Battestin Wiendl<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduando em Licenciatura em Química, Bolsista PIBIFSP, IFSP Campus São José dos Campos, [fabiola.pisciotta@aluno.ifsp.edu.br](mailto:fabiola.pisciotta@aluno.ifsp.edu.br).

<sup>2</sup> Engenheira de Alimentos – Professora Dra. do curso de Licenciatura em Química, IFSP, Câmpus São José dos Campos, [vbattestin@ifsp.edu.br](mailto:vbattestin@ifsp.edu.br)

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 3.06.03.00-5

**RESUMO:** Doenças crônicas relacionadas à má alimentação vêm crescendo no mundo todo. A biodiversidade brasileira é rica em alimentos nutritivos e pode ser empregada em dietas com a finalidade de prevenir doenças buscando uma melhor qualidade de vida para a população. Este trabalho teve como objetivo a determinação da atividade antioxidante (AA) do fruto Cambuci pela metodologia do composto radical livre DPPH (2,2- Diphenyl-1-picryl-hidrazil). Para a determinação da AA do Cambuci, construiu-se a curva de calibração com concentrações de 10µM a 80µM de DPPH. A melhor curva de calibração obtida foi  $y=0,0101x-0,005$  ( $R^2$  0,9994), apresentando um excelente ajuste linear.

**PALAVRAS-CHAVE:** análise, calibração, Mata Atlântica.

## INTRODUÇÃO

A biodiversidade brasileira é rica em alimentos nutritivos e pode ser empregada em dietas com a finalidade de prevenir doenças buscando uma melhor qualidade de vida (CARVALHO, OLIVEIRA e WIENDL, 2019). O Cambuci é um fruto original do cambucizeiro, é uma espécie brasileira, endêmica da Mata Atlântica ocorrendo nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Diversos estudos apontam para as qualidades desta fruta, principalmente ao que diz respeito a sua atividade antioxidante (VALLILO et al., 2005, BAGETTI, 2014).

Antioxidante é um composto que protege o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva. É muito provável que o fruto Cambuci apresente atividade antioxidante e possa ser uma importante fonte para a redução de radicais livres (DE FREITAS et al., 2004).

Neste trabalho, estudou-se a atividade antioxidante (AA) do Cambuci, espécie brasileira reportada na literatura, como um alimento rico em macronutrientes. A principal motivação foi a ampliação do conhecimento sobre espécies nativas brasileiras da Mata Atlântica onde se encontra o Cambuci, com a finalidade de agregar valor econômico através do seu potencial nutritivo. Para a determinação da AA do Cambuci, construiu-se a curva de calibração pelo método DPPH.

## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

## O Cambuci

O Cambuci ou Cambucizeiro [*Campomanesia phaea* (O. Berg.) Landrum], da família das Mirtáceas, é uma fruta originária do Brasil. Trata-se de espécie frutífera silvestre nativa da serra do Mar e Mata Atlântica, entre os estados de São Paulo e Minas Gerais. É também encontrada em outras regiões do Brasil, mas em menor proporção (BIANCHINI et al., 2016). O fruto, conhecido desde os primórdios coloniais, foi usado durante muitos anos exclusivamente como aromatizante para cachaças. Grande parte das plantações de Cambuci está localizada nas cidades do estado de São Paulo, dentre elas, a cidade de Paraibuna e São José dos Campos. A espécie está ameaçada de extinção devido à exploração predatória da sua madeira para fabricação de ferramentas e também pelo desmatamento da Mata Atlântica (SILVA, et al., 2012).

## Método do DPPH

Evidências epidemiológicas crescentes do papel de alimentos antioxidantes na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante. O método DPPH (BRAND-WILIAMS, CUVÉLIER, BERSET, 1995) é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorvância a 515 nm. O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico. Os antioxidantes podem ser de grande benefício para a melhoria da qualidade de vida, já que eles têm a capacidade de proteger um organismo dos danos causados pelos radicais livres, prevenindo ou adiando o início de várias doenças, como cardiovasculares, crônicas (câncer, aterosclerose, artrite reumática, hipertrofia muscular) e neurodegenerativas (Mal de Alzheimer) (OLIVEIRA, 2015).

Há um crescente interesse de pesquisadores no desenvolvimento de substâncias antioxidantes, principalmente a partir de produtos naturais como plantas, frutas e ervas. Assim, uma das técnicas atualmente utilizada para detectar a capacidade antioxidantes de compostos, é o método baseado na eliminação do radical livre estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) (Figura 2). A molécula de DPPH• é bastante conhecida por caracteriza-se como um radical orgânico livre estável e tem muitas vantagens, tais como uma boa estabilidade na ausência da luz, aplicabilidade e viabilidade (OLIVEIRA, 2015).

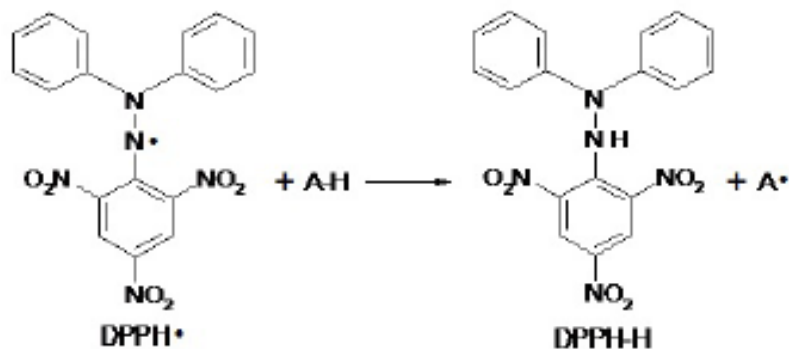


Figura 2. Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio (Fonte: OLIVEIRA, 205).

## METODOLOGIA

### Determinação da curva do DPPH

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de aproximadamente 4 mL de cada solução de DPPH (10 µM, 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM, 60 µM, 70 µM e 80 µM) para cubetas de vidro e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Utilizou-se álcool metílico, como branco, para calibrar o

espectrofotômetro. Plotou-se as concentrações de DPPH no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calculou-se a equação da reta (RUFINO et al., 2007).

### **DPPH - Avaliação da capacidade antiradicalar**

A avaliação da capacidade antiradicalar foi determinada utilizando o radical livre DPPH segundo metodologia descrita na literatura com algumas modificações (BRAND-WILIAMS, CUVELIER, BERSET, 1995). A reação foi efetuada a temperatura de 22-23°C em ambiente escuro. Foi utilizada a solução 60 µM de radical DPPH em metanol. Foram colocados em tubos de ensaio 3,7mL (370 µL) desta solução seguida de 0,3 mL (3 µL) de amostra de suco Cambuci. O controle utilizado foi a solução de 370 µL de DPPH (60µM) mais 0,3mL (3 µL) de álcool metílico (P.A.). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm, no tempo zero e após 20 minutos de reação. Os ensaios foram realizados em duplicata. A atividade antioxidante foi expressa em: Consumo de DPPH (µM).

### **Análise Estatística**

Todas as determinações foram efetuadas em duplicata e os resultados submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o programa “*Statistic for Windows*”.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O DPPH é um radical muito instável, oxidando rapidamente em presença de luz, sendo este fator muito prejudicial á análise. Vários ensaios foram realizados para se obter uma curva de calibração com bom ajuste experimental. A curva obtida neste estudo foi:  $y=0,0101x-0,005$  ( $R^2$  0,9994). O ensaio foi realizado em ambiente escuro (Figura 1), sendo este um fator de alta importância para obtenção dos dados, pois o DPPH é um radical que oxida facilmente em contato com a luz.

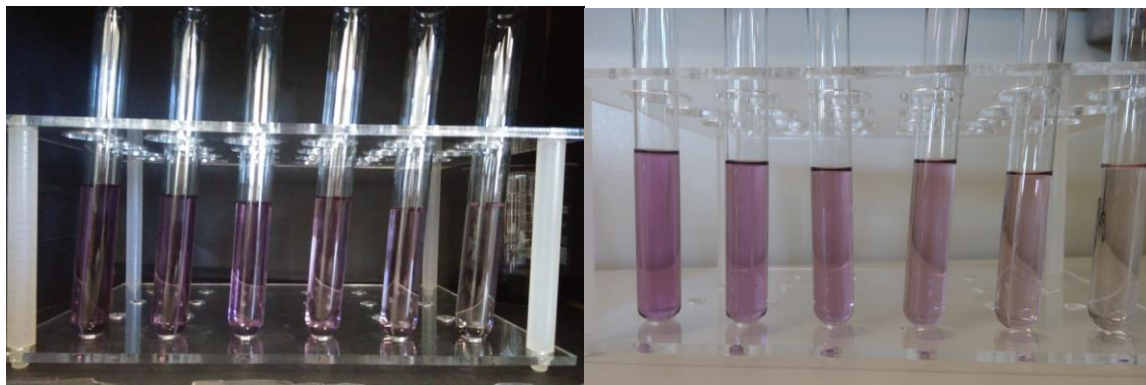


Figura 1. Ensaios para a curva de calibração com DPPH (a) reação em ambiente escuro (b) visualização do degrade de cores (Fonte: Autores).

O suco de Cambuci apresentou uma alta capacidade de captura do radical livre DPPH, apresentando valores de consumo de 10,49 µM. Existem vários estudos na literatura abordando as características bioativas desta fruta e seu alto poder antioxidante (BAGETTI, 2014).

## **CONCLUSÕES**

Foi possível obter um bom ajuste linear para as análises de DPPH através da curva de calibração e com isso determinar a atividade antioxidante desta fruta. Este trabalho é precursor de novos estudos sobre o Cambuci, suas potencialidades e uso como agente promotor de saúde e bem estar.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao IFSP pela concessão da bolsa de IC a qual permitiu o desenvolvimento deste estudo.

## REFERÊNCIAS

BAGETTI, M. **Caracterização físico-química, compostos fenólicos majoritários da fruta e atividade antioxidante da geleia de cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg.)** (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Campinas-SP: Universidade Estadual de Campinas, 2014.

BIANCHINI, F. G.; BALBI, R. V.; PIO, R.; SILVA, D. F.; PASQUAL, M.; VILAS BOAS, E. V. B. Caracterização morfológica e química de frutos de cambucizeiro. *Bragantia*, Campinas, p.10-18, 2016.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.** *Food Science and Technology*, v.28, p.25-30. 1995.

CARVALHO, P. H.; DE OLIVEIRA, F. P.; WIENDL, V. B. **Cambuci, fruto nativo da mata atlântica com potencial de prevenção de doenças crônicas.** Sínteses: Revista Eletrônica do SimTec, n. 7, p. e019148, 24 set. 2019.

De FREITAS, V.; PORTO, P.S.; ASSUNÇÃO, M.; CADETE-LEITE, A.; ANDRADE, J.P.; PAULA-BARBOSA, M.M. **Flavonoids from grape seeds prevent increased alcohol-induced neuronal lipofuscin formation.** *Alcohol & Alcoholism*, 39: 303-311, 2004.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J. SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH.** Comunicado Técnico, 127. Embrapa Agroindústria Tropical - Fortaleza, CE, 2007.

SILVA, I. G.; CORREIA, A.F. K.; BIGARAN, J. T.; BAPTISTA, C. P.; CARMO, L. F.; SPOTO, M. H. F. **Estudo da caracterização do fruto Cambuci [*Campomanesia phaea* (Berg.) Landrum] e sua aplicação no processamento de geleia.** *Boletim CEPPA*, Curitiba-SP, v.30, n.1, p.83- 90, 2012.

VALLILO, M. I; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; LAMARD, L. C. A. **A Características Físicas e Químicas dos Frutos do Cambucizeiro (*Campomanesia phaea*).** *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.27, n.2, p.241-244, 2005.

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