

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

NAIANE ARAUJO DOTTO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA**

**Itaqui
2014**

NAIANE ARAUJO DOTTO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Orientador: Tiago André Kaminski

Co-orientadora: Paula Ferreira de Araujo Ribeiro

**Itaqui
2014**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

D725a Dotto, Naiane Araujo

Avaliação da Estabilidade de Compostos Fenólicos e
Capacidade Antioxidante de Extrato Aquoso de Alcachofra /
Naiane Araujo Dotto.

21 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -- Universidade
Federal do Pampa, BACHARELADO EM NUTRIÇÃO, 2014.

"Orientação: Tiago André Kaminski".

1. Cynara scolymus L.. 2. capacidade antioxidante. 3. luz.
4. refrigeração. I. Título.

NAIANE ARAUJO DOTTO

**AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Nutrição da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 11 de agosto de 2014.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Tiago André Kaminski
Orientador
UNIPAMPA

Prof^ª. Dra. Paula Ferreira de Araujo Ribeiro
Co-orientadora
UNIPAMPA

Prof^ª. Dra. Aline Tiecher
UNIPAMPA

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por todas as bênçãos e oportunidades.

Agradeço aos meus pais Terezinha Araujo e Sinalir Dotto por todo apoio, confiança e incentivo ao estudo que sempre me proporcionaram, por me motivarem a lutar sempre em minha vida por tudo que acredito, apesar das dificuldades. Essa conquista também é de vocês!

À minha irmã Naielle, pelo carinho, dedicação, amizade e paciência. Amo você!

À minha vó Nayr, fonte inesgotável de apoio, amor e compreensão durante toda a minha graduação.

A Professora Paula Ribeiro, pela orientação, confiança e incentivo. Agradeço por todo o amadurecimento profissional proporcionado ao longo destes anos de trabalho.

Ao meu orientador Professor Tiago Kaminski, por toda a atenção, compreensão, disponibilidade e prontidão em ajudar.

À Mariana Saucedo e Ingrid Espindola pela ajuda nos experimentos, apoio e amizade.

Às minhas amigas: Yasmin Fanti, Patrícia Simões, Tailise Lima, Thaís Folletto, Laura Virgili, pelos momentos de descontração, amizade, compreensão e apoio nas horas difíceis. Vocês foram fundamentais nesta caminhada. Amo todas e sentirei saudades.

Ao meu amigo e cunhado Alvisé Martini Neto, pelo transporte das amostras. Muito obrigado!

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	MATERIAL E MÉTODOS	8
2.1	MATÉRIA-PRIMA	8
2.2	EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS	8
2.2.1	Método de extração.....	8
2.2.2	Determinação de compostos fenólicos totais	8
2.3	ESTABILIDADE DO EXTRATO AQUOSO POLIFENÓLICO DE ALCACHOFRA .	9
2.3.1	Elaboração do extrato	9
2.3.2	Determinação de compostos fenólicos totais	9
2.3.3	Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> : teste do ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado) – ensaio TEAC	9
2.3.4	Determinação da capacidade antioxidante <i>in vitro</i> : teste do FRAP (Método de Redução do Ferro)	10
2.4	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	10
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	10
4	CONCLUSÃO.....	14
	REFERÊNCIAS.....	15
	ANEXOS	19

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA

NAIANE ARAUJO DOTTO*
MARIANA FERREIRA DE MENEZES SAUCEDA*
PAULA FERREIRA DE ARAUJO RIBEIRO**
TIAGO ANDRÉ KAMINSKI***
INGRID GEOVANNA SAMANHO ESPINDOLA****

Algumas propriedades benéficas da alcachofra (*Cynara scolymus* L.) têm sido relacionadas aos compostos fenólicos presentes e à capacidade antioxidante que os mesmos podem apresentar. Assim, objetivou-se com este estudo identificar o solvente mais adequado para a extração dos polifenóis da alcachofra, avaliar a estabilidade dos mesmos em extrato aquoso armazenado em diferentes condições de temperatura e luminosidade e, determinar a capacidade antioxidante *in vitro*, por diferentes métodos. Para o teste de extração, foram utilizadas amostras parcialmente secas e testados dois solventes (metanol e etanol), ambos em solução aquosa 70%. O teor de compostos fenólicos totais foi estimado por metodologia espectrofotométrica, utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Para a avaliação da estabilidade dos compostos fenólicos, o experimento contou com três tratamentos, que consistiram em diferentes condições de armazenamento (temperatura de refrigeração na ausência de luz - RE, temperatura ambiente na ausência de luz - TE e temperatura ambiente na presença de luz - TL), sendo os extratos avaliados durante 35 dias com intervalos de 05 e 10 dias. Para a determinação da capacidade antioxidante *in vitro* utilizaram-se os métodos ABTS e FRAP. Com isso, foi possível observar que o extrato aquoso de alcachofra constituiu-se de uma fonte promissora de compostos fenólicos e que o solvente mais eficiente na extração dos mesmos foi solução aquosa de metanol 70%. A luz foi a condição que promoveu maior degradação destes, considerando o tempo de armazenamento do extrato (35 dias). Sob refrigeração e na ausência de luz os extratos mantiveram a estabilidade dos compostos fenólicos e a capacidade antioxidante.

PALAVRAS-CHAVE: *Cynara scolymus* L., CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, LUZ, REFRIGERAÇÃO.

* Graduanda em Nutrição, Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Campus Itaqui, RS (e-mail: naiane_dotto@hotmail.com; saucedamariana@gmail.com).

** Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos, professora adjunta nível I da UNIPAMPA, Campus Itaqui, RS (e-mail: pr.unipampa@gmail.com).

*** Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos, professor adjunto nível I da UNIPAMPA, Campus Itaqui, RS (e-mail: tiagoandrekaminski@hotmail.com).

**** Graduanda em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UNIPAMPA, Campus Itaqui, RS (e-mail: ingridgse@hotmail.com).

1 INTRODUÇÃO

A alcachofra (*Cynara scolymus* L.), planta herbácea perene que pertence à família *Asteraceae*, é uma hortaliça amplamente cultivada em todo o mundo. Costuma ser cultivada devido a sua parte comestível ser considerada uma fonte rica em compostos bioativos, fibras e minerais (FILGUEIRA, 2008; SAUCIER, 2013). Apresenta um tufo de folhas alongadas, onde a parte comestível é constituída por inflorescências imaturas formadas a partir de brácteas imbricadas com base carnosa, que se inserem em receptáculo também carnoso. A parte utilizável para o consumo consiste na base tenra das brácteas e no receptáculo (FILGUEIRA, 2008).

Suas propriedades benéficas têm sido relacionadas aos compostos fenólicos presentes e, à capacidade antioxidante que os mesmos podem apresentar. Os derivados do ácido cafeoilquínico são os principais compostos fenólicos presentes na cabeça da alcachofra, sendo o mais abundante destes o ácido clorogênico. Outros polifenóis, como os flavonóides apigenina e luteolina, também foram identificados (IZQUIERDO et al., 2001; LLORACH et al., 2002; LOMBARDO et al., 2010).

O consumo de alimentos de origem vegetal tem sido associado à redução do risco de uma série de doenças crônicas não transmissíveis (ESCRIG et al., 2003). As células estão continuamente expostas a oxidantes, de fontes endógenas e exógenas, e a produção de radicais livres é parte comum do metabolismo. Entretanto, o organismo também possui compostos antioxidantes, de fontes endógenas e exógenas, participando, em conjunto, na manutenção do balanço entre oxidantes e antioxidantes (WALTER, 2009). A ação dos compostos fenólicos é principalmente devido à sua propriedade redox, que lhes permite atuar como agentes de redução, doadores de hidrogênio e supressores de oxigênio singlete (LOMBARDO et al., 2010). Essas características permitem que os mesmos possam bloquear o efeito danoso dos radicais livres e com isso, diminuir o risco de incidência de algumas doenças crônicas não transmissíveis. Diferentes estudos sobre a alcachofra demonstraram o seu potencial benéfico à saúde, especialmente suas atividades hepatoprotetoras, anticarcinogênicas e hipocolesterolêmicas (WANG et al., 2003; SCHÜTZ et al., 2006; AZZINI et al., 2007; FRATIANNI et al., 2007).

Em comparação com outras hortaliças, a alcachofra é uma fonte promissora de compostos antioxidantes e contém bons níveis de polifenóis totais na sua parte comestível (LOMBARDO et al., 2010). Em muitos estudos realizados até agora, as folhas da alcachofra têm sido utilizadas, principalmente, como matéria-prima em preparações farmacêuticas, como chás, cápsulas e comprimidos, apresentando efeitos que incluem promoção da circulação do sangue, mobilização das reservas energéticas, inibição da biossíntese de colesterol e da oxidação do LDL (lipoproteína de baixa densidade) (SCHÜTZ et al., 2006; FRATIANNI et al., 2007).

Além disso, os princípios ativos presentes na mesma, entre eles os polifenóis, também podem ser extraídos e veiculados na forma de extrato. Dessa forma, o método de extração, bem como as condições de acondicionamento e armazenamento são os principais fatores que podem influenciar na quantidade e estabilidade desses compostos nesse tipo de produto.

Assim, objetivou-se com este estudo identificar o solvente mais adequado para a extração dos polifenóis da alcachofra, avaliar a estabilidade dos mesmos em extrato aquoso armazenado em diferentes condições de temperatura e luminosidade e, determinar a capacidade antioxidante *in vitro*, por diferentes métodos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATÉRIA-PRIMA

Foram utilizadas alcachofras em estágio de maturação ideal (caracterizado pela coloração arroxeadada das brácteas) adquiridas no Mercado Público de Porto Alegre, RS. Previamente ao transporte até o local das análises (Laboratório de Química da Universidade Federal do Pampa, campus Itaqui), a matéria-prima foi acondicionada em embalagens de polietileno e congelada em freezer vertical a -18°C . O transporte foi realizado em bolsa térmica, ao abrigo da luz e com as cabeças da alcachofra congeladas.

2.2 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS

2.2.1 Método de extração

Inicialmente, a amostra foi parcialmente seca em estufa com circulação de ar a 40°C por 72 horas, de acordo com a metodologia proposta por SAUCIER (2013), onde se observou melhor extração dos compostos da alcachofra a partir da amostra nessas condições. Para verificar a eficiência de extração dos compostos fenólicos, foram testados dois tipos de solução extratora: metanol e etanol em solução aquosa a 70% (v/v). A extração foi realizada a partir de 5 g de amostra parcialmente seca com 70 mL de solução extratora. O pH do extrato foi ajustado com ácido clorídrico concentrado para 4,0 e a suspensão obtida foi deixada em repouso, sob refrigeração ($4 \pm 1^{\circ}\text{C}$) e em ausência de luz, por 24 horas. O pH 4,0 foi escolhido a partir de estudos prévios realizados com pH 2,0 e 4,0, onde verificou-se uma maior extração dos polifenóis da alcachofra com o sistema em pH 4,0. Após, as amostras foram filtradas a vácuo em papel Whatman nº 1, através de funil Büchner, e o volume completado para 100 mL com a solução extratora.

Após se verificar qual o sistema extrator mais eficiente na extração dos compostos fenólicos da alcachofra (solução aquosa de metanol ou etanol), preparou-se o extrato para o estudo de estabilidade.

2.2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi estimado utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a metodologia espectrofotométrica proposta por SINGLETON e ROSSI (1965). Em um tubo de ensaio foram adicionados 600 μL de amostra e 3 mL do reagente de Folin-Ciocalteu diluído 10 vezes com água destilada, sendo o tubo agitado em agitador vortex. Os tubos foram deixados em repouso por 3 minutos e após adicionou-se 2,4 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%. Os tubos permaneceram em repouso por mais uma hora ao abrigo da luz e a temperatura ambiente. A leitura espectrofotométrica da solução final foi realizada a 760 nm e o teor de compostos fenólicos foi calculado com base em curva padrão de ácido gálico e expresso em mg AGE (ácido gálico equivalente) por 100 g de amostra.

2.3 ESTABILIDADE DO EXTRATO AQUOSO POLIFENÓLICO DE ALCACHOFRA

2.3.1 Elaboração do extrato

Primeiramente, foram preparados 5 litros de extrato, a partir de lotes de 5 g de amostra parcialmente seca para cada 100 mL de solução extratora (conforme metodologia descrita no item 2.2.1), sendo o sistema mais eficiente para extração dos compostos fenólicos da alcachofra, apresentado na Tabela 1. Após, o extrato foi submetido à evaporação rotativa a 40°C e rotação de 120 RPM, para a obtenção do sistema aquoso. A estabilidade dos compostos fenólicos foi avaliada a partir de três tratamentos, que consistiram de diferentes condições de armazenamento: refrigeração e ausência de luz (RE); temperatura ambiente e ausência de luz (TE); e temperatura ambiente em presença de luz (TL). Os extratos foram avaliados durante 35 dias com intervalos de cinco e dez dias.

Os tratamentos armazenados a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) foram mantidos em B.O.D. (Biochemical Oxigem Demand) durante todo o período de experimento. Aqueles que além da temperatura ambiente, também necessitavam de luz foram acondicionados em frascos de vidro branco e os que necessitavam de ausência de luz foram acondicionados em frascos de vidro âmbar cobertos com papel alumínio. No tratamento mantido sob refrigeração a 4°C, o extrato foi acondicionado em frasco âmbar coberto com papel alumínio.

2.3.2 Determinação de compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais foram determinados conforme metodologia descrita no item 2.2.2 deste trabalho, sendo os resultados expressos em mg AGE (ácido gálico equivalente) por litro de extrato.

2.3.3 Determinação da capacidade antioxidante *in vitro*: teste do ABTS (2,2'-azinobis-3-etil-benzotiazolina-6-sulfonado) – ensaio TEAC

O cátion ABTS^{•+} foi formado a partir da reação de soluções aquosas de 7 mM de ABTS e 2,45 mM de persulfato de potássio (1:1), incubadas a temperatura ambiente ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) e na ausência de luz, por 12 a 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol 80% até uma absorbância de 0,700 ($\pm 0,05$) a 734 nm, conforme RE et al. (1999). O antioxidante padrão utilizado foi o Trolox.

Para a realização do ensaio TEAC, foram realizadas diluições das amostras e do padrão, com o objetivo de se elaborar curvas de amostra e de padrão – ABTS vs concentração. O procedimento de reação entre antioxidante/radical e amostra/radical foi realizado através da mistura de 0,5 mL de cada diluição da amostra ou do antioxidante padrão com 3,5 mL da solução do radical. Os tubos foram reservados ao abrigo da luz até estabilização da reação, correspondendo ao tempo de 6 minutos (RE et al., 1999). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 734 nm e o resultado final do teor de compostos fenólicos no extrato foi expresso em μM equivalente de Trolox por litro de extrato.

2.3.4 Determinação da capacidade antioxidante *in vitro*: teste do FRAP (Método de Redução do Ferro)

A determinação foi realizada conforme metodologia descrita por BENZIE e STRAIN (1996), com modificações. Primeiramente foi preparada diluição do extrato em triplicata. Após, 90 µL da diluição do extrato foram transferidos para tubos de ensaio, juntamente com 270 µL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP (25 mL de tampão acetato 0,3 M; 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM – 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina – e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM), sendo a mistura mantida em banho-maria a 37°C. Após 30 minutos de reação, foram realizadas leituras espectrofotométricas a 595 nm.

A determinação da capacidade antioxidante foi calculada com base em curva padrão de sulfato ferroso. O resultado final foi expresso em µM sulfato ferroso/L de extrato.

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com três repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância em programa Statistica, versão 8.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 estão expressos os resultados do estudo de extração dos compostos fenólicos da alcachofra. Pode-se observar que a melhor solução extratora foi a solução de metanol aquoso 70% (v/v), com 159,67 mg AGE/100 g de amostra parcialmente seca, enquanto que a solução de etanol obteve apenas 60% do poder de extração da anterior.

TABELA 1 – EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DA ALCACHOFRA A PARTIR DE DIFERENTES SOLVENTES

Solução extratora	Compostos fenólicos totais
	mg AGE/100 g de alcachofra*
Metanol aquoso 70%	159,67 ± 6,11 ^a
Etanol aquoso 70%	96,18 ± 0,77 ^b

Os valores representam as médias de três repetições ± desvio padrão; *AGE: ácido gálico equivalente.

Rocha et al. (2011) estudaram plantas nativas do cerrado, onde avaliaram o teor de compostos fenólicos nas mesmas em relação ao solvente utilizado para extração, utilizando como solução extratora acetona 70%, etanol 95% e metanol P.A. A acetona 70% foi o melhor solvente extrator de compostos fenólicos para a maioria das frutas analisadas. Em um trabalho realizado com o bagaço de maçã Gala, Soares et al. (2008) também testaram diferentes sistemas de solventes para a extração de compostos fenólicos totais, utilizando as seguintes soluções aquosas: etanol, metanol e acetona a 0, 25, 50, 75 e 100% (v/v). O solvente acetona nas concentrações de 75% e 100% apresentou maior poder de extração.

Os resultados de Vieira et al. (2009) corroboram com os achados neste estudo, pois analisando o conteúdo de polifenóis totais de extratos de pó de erva-mate observaram que o melhor solvente extrator foi o metanol 80% (v/v). Assim, pode-se verificar que cada matéria-prima possui um sistema de solvente extrator mais indicado.

Os resultados das avaliações de compostos fenólicos totais, realizadas em extrato aquoso de alcachofra, elaborado a partir de metanol 70% (v/v), armazenados por 35 dias em diferentes tratamentos, encontram-se descritos na Tabela 2.

TABELA 2. TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA SUBMETIDO A DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

	Tempo (dias)				
	0	5	15	25	35
TE	104,23 ± 2,02 ^{aB}	100,79 ± 3,86 ^{aBB}	100,61 ± 2,24 ^{aB}	127,13 ± 6,04 ^{aA}	100,61 ± 2,82 ^{aB}
RE	104,23 ± 2,02 ^{aB}	107,24 ± 6,49 ^{aB}	103,75 ± 1,48 ^{aB}	134,39 ± 1,62 ^{aAB}	103,93 ± 2,34 ^{aB}
TL	104,23 ± 2,02 ^{aAB}	92,1 ± 3,37 ^{bBC}	87,08 ± 0,82 ^{bC}	108,85 ± 7,62 ^{bA}	88,24 ± 6,50 ^{bC}

Os valores representam as médias de três repetições ± desvio padrão, expressos em mg AGE (ácido gálico equivalente) por litro de extrato. Médias seguidas por letras distintas maiúsculas (linha) indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). Médias seguidas por letras distintas minúsculas (coluna) indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade ($p < 0,05$). TE: temperatura ambiente e ausência de luz; RE: temperatura de refrigeração e ausência de luz; TL: temperatura ambiente e luz.

O teor de compostos fenólicos totais nos tratamentos TE e RE não diferiram significativamente ($p > 0,05$) em nenhum tempo de análise. Dessa forma, constatou-se que a ausência de luz são condições que ajudam a preservar os polifenóis presentes em extrato aquoso de alcachofra. Entretanto, o mesmo não foi observado para o tratamento TL, onde a degradação dos compostos fenólicos foi significativa ($p < 0,05$) em todos os tempos de análise, mostrando que a luz pode ser um interferente importante na degradação dos polifenóis da alcachofra. Quando comparados os tratamentos ao longo dos 35 dias de análise observou-se diferença estatística ($p < 0,05$) somente para o tratamento TL, onde o produto apresentou um decréscimo no teor de polifenóis durante os primeiros 15 dias de armazenamento. Quando comparados os tempos zero e 35 dias de armazenamento, apenas o tratamento TL sofreu degradação quanto ao teor de compostos fenólicos totais, sendo esta na ordem de 15%.

Apesar de serem matrizes diferentes, os resultados deste estudo concordam com as observações realizadas por Lima et al. (2005), que testaram a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa frente a luz e a temperatura de congelamento durante 12 meses, e constataram que os polifenóis da fruta mantêm-se mais estáveis quando armazenados sob temperaturas baixas e ao abrigo da luz. Araújo et al. (2009) também verificaram maior estabilidade dos polifenóis totais quando o produto é armazenado sob temperaturas baixas, pois observaram que os polifenóis presentes em néctar de amora-preta mantiveram-se estáveis ao longo de 90 dias de armazenamento congelado do produto.

Silva et al. (2010) testaram a estabilidade, durante 21 dias, de corantes de antocianinas extraídos da casca de jabuticaba, frente à incidência de luz com temperatura de 25°C e ausência de luz a 10°C. Os autores constataram que os teores de polifenóis nas amostras armazenadas sob incidência de luz apresentaram maior degradação durante o tempo de armazenamento.

Os resultados das avaliações que determinaram a capacidade antioxidante do extrato aquoso de alcachofra armazenado durante 35 dias encontram-se descritos nas Tabelas 3 e 4.

TABELA 3. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, *IN VITRO*, PELO MÉTODO ABTS DE EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA SUBMETIDO A DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

	Tempo (dias)				
	0	5	15	25	35
TE	433,64±39,71 ^{aAB}	380,28±20,88 ^{abB}	391,45±18,71 ^{aAB}	442,85±1,60 ^{aA}	397,26±10,77 ^{aAB}
RE	433,64±39,71 ^{aA}	465,09±55,54 ^{aA}	382,32±7,69 ^{aA}	438,75±23,49 ^{aA}	409,67±6,51 ^{aA}
TL	433,64±39,71 ^{aA}	364,67±20,09 ^{bB}	302,74±21,87 ^{bB}	328,7±24,22 ^{bB}	302,81±2,46 ^{bB}

Os valores representam as médias de três repetições ± desvio padrão, expressos em µM equivalente de Trolox por litro de extrato. Médias seguidas por letras distintas maiúsculas (linha) indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Médias seguidas por letras distintas minúsculas (coluna) indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). TE: temperatura ambiente e ausência de luz; RE: temperatura de refrigeração e ausência de luz; TL: temperatura ambiente e luz.

TABELA 4. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE, *IN VITRO*, PELO MÉTODO FRAP DE EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA SUBMETIDO A DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

	Tempo (dias)				
	0	5	15	25	35
TE	1276,98±1,92 ^{aA}	911,67±63,33 ^{aCD}	1108,33±8,82 ^{bB}	992,77±25,89 ^{bC}	869,44±27,15 ^{bD}
RE	1276,98±1,92 ^{aA}	996,11±50,04 ^{aC}	1230,55±30,97 ^{aA}	1121,66±23,09 ^{aB}	941,66±21,86 ^{aC}
TL	1276,98±1,92 ^{aA}	774,99±25,17 ^{bB}	818,33±17,64 ^{cB}	634,99±35,12 ^{cC}	577,22±26,94 ^{cC}

Os valores representam as médias de três repetições ± desvio padrão, expressos em µM sulfato ferroso/L de extrato. Médias seguidas por letras distintas maiúsculas (linha) indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). Médias seguidas por letras distintas minúsculas (coluna) indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p<0,05). TE: temperatura ambiente e ausência de luz; RE: temperatura de refrigeração e ausência de luz; TL: temperatura ambiente e luz.

Pôde-se observar que a capacidade antioxidante no tratamento TE, ao longo dos 35 dias de armazenamento, foi significativamente diferente (p<0,05) para o método FRAP, não ocorrendo o mesmo para o ABTS, onde ao final do experimento a capacidade antioxidante não diferiu estatisticamente (p>0,05). O mesmo foi observado para o tratamento RE, não detectando-se degradação pelo método ABTS mas pelo método FRAP sim, onde a diminuição da capacidade antioxidante começou a partir do 5º dia de armazenamento. O tratamento TL foi o que apresentou maior decréscimo da capacidade antioxidante durante o tempo em que o extrato ficou armazenado, sendo decrescente a perda até o último dia de armazenamento por ambos os métodos testados.

Em relação a capacidade antioxidante do extrato quanto aos tratamentos no mesmo tempo de armazenamento, o tratamento que apresentou diferença significativa (p<0,05) foi o TL, nos dois métodos utilizados, em ambos os tempos analisados. Avaliando-se os decréscimos de capacidade antioxidante no extrato aquoso de alcachofra, é possível verificar que, da mesma forma que com os compostos fenólicos, o tratamento TL foi o que proporcionou maiores perdas no produto. Assim, essa avaliação pode prever que a capacidade antioxidante do

produto em estudo possa ser diretamente relacionada com o teor de compostos fenólicos presente no mesmo.

Entretanto, o estudo de correlação de Pearson (Tabela 5) contradiz essa observação, mostrando não haver correlação significativa (ao nível de 5% de probabilidade pelo teste t) entre as variáveis “compostos fenólicos totais” e “capacidade antioxidante pelos métodos ABTS e FRAP” durante o armazenamento sob temperatura ambiente e luz. Este resultado pode ter ocorrido devido à interferência de outros compostos presentes na amostra, além dos compostos fenólicos, sobre a capacidade antioxidante do produto. Dessa forma pode-se inferir que, no extrato de alcachofra, a capacidade antioxidante não é dependente apenas do conteúdo polifenólico.

TABELA 5 - COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO DE PEARSON PARA AS VARIÁVEIS ANALISADAS EM EXTRATO AQUOSO DE ALCACHOFRA ARMAZENADO SOB TEMPERATURA AMBIENTE E LUZ

Variáveis	Compostos fenólicos totais	Capacidade antioxidante – ABTS	Capacidade antioxidante – FRAP
Compostos fenólicos totais	-	0,53 ^{ns}	0,32 ^{ns}
Capacidade antioxidante – ABTS		-	0,87 ^{ns}
Capacidade antioxidante – FRAP			-

Nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste t; ns = não significativo; (-) = não existe correlação.

Wang et al. (2003) verificaram que amostras de folhas e cabeças de alcachofra que continham menor teor de compostos fenólicos também apresentavam menor capacidade antioxidante. Dessa forma, é possível prever que a variação da capacidade antioxidante está correlacionada com a variação no conteúdo de compostos fenólicos. Conclusão similar também foi obtida por Araújo et al. (2009), ao observar que a diminuição da capacidade antioxidante de néctar de amora-preta está diretamente associada ao decréscimo dos compostos fenólicos.

No estudo de Silva et al. (2010), o qual testou a estabilidade durante 21 dias de corantes de antocianinas extraídos a partir da casca de jabuticaba, observou-se a diminuição acentuada da capacidade antioxidante através do ensaio ABTS nos corantes expostos a luz e a temperatura de 25°C, sendo essa degradação na ordem 79%. Fato diferente ocorreu com as amostras armazenadas ao abrigo da luz a temperatura de 10°C, onde observou-se degradação em torno de 17%.

Rockenbach et al. (2008) avaliando o teor de compostos fenólicos de diversas variedades de uva, extraídos com diferentes solventes, encontraram diferenças significativas na atividade antioxidante pelo método ABTS, influenciadas pela polaridade e pelo pH do solvente, com valores maiores em solventes mais polares e pHs maiores. Segundo esses autores, a eficiência antioxidante determinada pelo método FRAP depende do potencial redox dos compostos analisados, caracterizado pela complexidade de suas moléculas. Tiveron (2010) analisaram extratos etanólicos de alcachofra no qual a capacidade antioxidante foi maior pelo método FRAP em comparação com o ABTS. O método FRAP é considerado como simples e barato. É

um indicador adicional da atividade antioxidante. Porém, podem-se considerar algumas limitações, como a de que qualquer composto com potencial redox menor que o do par Fe(III)/Fe(II), possa teoricamente reduzir o Fe(III) em Fe(II), contribuindo para o valor do FRAP e induzindo a resultados maiores e falsos (TIVERON, 2010).

Independente do método empregado na avaliação da capacidade antioxidante do produto em estudo deve-se considerar que, *in vitro*, as atividades podem ser consideradas apenas potencialmente relevantes em sistemas biológicos e que, *in vivo*, as atividades dependem também da biodisponibilidade e biotransformação dos compostos bioativos no organismo. Sabe-se que o ácido clorogênico, um dos principais compostos fenólicos presentes na alcachofra, é parcialmente biodisponível e, conseqüentemente, sua atividade *in vivo* pode ser significativa (ESCRIG est al., 2003).

4 CONCLUSÃO

Diante do exposto, conclui-se que o extrato aquoso de alcachofra constitui-se de uma fonte promissora de compostos fenólicos e que, nas condições testadas, os mesmos são extraídos com maior eficiência a partir de solução aquosa de metanol 70% (v/v). Além disso, o produto quando armazenado por 35 dias na ausência de luz, independente da temperatura (refrigeração ou ambiente), mantém a estabilidade de seus compostos fenólicos e a sua capacidade antioxidante.

ABSTRACT

EVALUATION OF STABILITY PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF AQUEOUS EXTRACT OF ARTICHOKE

Some beneficial properties of artichoke (*Cynara scolymus* L.) has been related to its phenolic compounds and antioxidant capacity that they can produce. Thus, the aim of this study was to identify the most suitable solvent for the extraction of Artichoke polyphenols, evaluate the stability of that in aqueous extracts stored under different conditions of luminosity and temperature, and determine the antioxidant capacity in vitro by different methods. For the extraction test, partially dried samples were used and tested two solvents (methanol and ethanol), both in 70% aqueous solution. The content of phenolic compounds was estimated by spectrophotometric methodology, using the Folin-Ciocalteu as a reagent. To assess the stability of phenolic compounds, the experiment was composed by three treatments consisted of different storage conditions (coolant temperature in the absence of light, room temperature in the absence of light and room temperature in the presence of light), and the extracts were evaluated for 35 days at intervals of 05 and 10 days. For the determination of antioxidant capacity in vitro, were used the ABTS and FRAP methods. Thus, it was possible to observe that the aqueous extract of artichoke constituted a promising source of phenolic compounds and the most efficient solvent in the extraction was the aqueous methanol solution 70%. The light was the condition that caused greater degradation of these, considering the storage time of the extract (35 days). Under cooling and in the absence of light the extracts kept the stability of phenolics compounds and the antioxidant capacity.

KEYWORDS: *Cynara scolymus* L., ANTIOXIDANT CAPACITY, LIGHT, REFRIGERATION.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, P. F.; RODRIGUES, R. S.; MACHADO, A. R.; SANTOS, V. S.; SILVA, J. A. Influência do congelamento sobre as características físico-químicas e o potencial antioxidante de néctar de amora-preta. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 199-206, 2009.

AZZINI, E.; BUGIANESI, R.; ROMANO, F.; VENERE, D.; MICCADEI, S.; DURAZZO, A.; FODDAI, M. S.; CATASTA, G.; LINSALATA, V.; MAIANI, G. Absorption and metabolism of bioactive molecules after oral consumption of cooked edible heads of *Cynara scolymus* L. (cultivar Violetto di Provenza) in human subjects: a pilot study. **British Journal of Nutrition**, v.97, p. 963-969, 2007.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p.70-76, 1996.

ESCRIG, A. J.; DRAGSTED, L. O.; DANESHVAR, B.; PULIDO, R.; CALIXTO, F. S. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p. 5540-5545, 2003.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3 ed. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008. 421 p.

FRATIANNI, F.; TUCCI, M.; PALMA, M.; PEPE, R.; NAZZARO, F. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). **Food Chemistry**, v.104, p. 1282-1286, 2007.

IZQUIERDO, A. G.; GIL, M. I.; CONESA, M. A.; FERRERES, F. The effect of storage temperatures on vitamin C and phenolics content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) heads. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.2, p. 199-202, 2001.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Efeito da luz e da temperatura de congelamento sobre a estabilidade das antocianinas da pitanga roxa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos** v. 25, p. 92-94, 2005.

LLORACH, R.; ESPÍN, J. C.; BARBERÁN, F. A. T.; FERRERES, F. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) Byproducts as a Potential Source of Health-Promoting Antioxidant Phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 3458-3464, 2002.

LOMBARDO, S.; PANDINO, G.; MAUROMICALE, G.; KNÖDLER, M.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Influence of genotype, harvest time and plant part on polyphenolic composition of globe artichoke [*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori]. **Food Chemistry**, v.119, p. 1175-1181, 2010.

RE, R.; PELLIGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v.26, p. 1231-1237, 1999.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215-1221, 2011.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades *Tannat* e *Ancelota*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 238-244, 2008.

SAUCIER, C. **Caracterização química das folhas de alcachofra (*Cynara scolymus* L.) por cromatografia gasosa monodimensional e bidimensional abrangente**. 2013. 127 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2013.

SCHÜTZ, K.; PERSIKE, M.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Characterization and quantification of anthocyanins in selected artichoke (*Cynara scolymus* L.) cultivars by HPLC–DAD–ESI–MSⁿ. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.384, p. 1511-1517, 2006.

SILVA, G. J. F.; CONSTANT, P. B. L.; FIGUEIREDO, R. W.; MOURA, S. M. Formulação e estabilidade de corantes de antocianinas extraídas das cascas de jabuticaba (*Myrciaria ssp.*). **Alimentos e Nutrição**, v. 21, n. 3, p. 429-436, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144–158, 1965.

SOARES, M.; WELTER, L.; GONZAGA, L.; LIMA, A.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Avaliação da atividade antioxidante e identificação dos ácidos fenólicos presentes no bagaço de maçã cv. Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 727-732, 2008.

TIVERON, A. P. **Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil**. 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2010.

VIEIRA, M. A.; MARASCHIN, M.; PAGLIOSA, C. M.; PODESTÁ, R.; AMBONI, R. D. M. C. Análise de compostos fenólicos, metilxantinas, tanino e atividade antioxidante de resíduo do processamento da erva-mate: uma nova fonte potencial de antioxidantes. In: 2ndInternational Workshop Advances in Cleaner Production, 2009, São Paulo.

WALTER, M. **Composição química e propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto**. 2009. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2009.

WANG, M.; SIMON, J. E.; AVILES, I. F.; HE, K.; ZHENG, Q.Y.; TADMOR, Y.
Analysis of Antioxidative Phenolic Compounds in Artichoke (*Cynara scolymus* L.).
Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.51, p. 601-608, 2003.

ANEXOS

ANEXO 1

Normas para publicação no Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos

Diretrizes para Autores

As colaborações devem ser enviadas pelo Sistema Eletrônico de Revistas da UFPR, digitadas em **Word for windows**, usando fonte **Arial**, tamanho **12**, espaçamento simples e organizadas da seguinte forma:

- título breve e descritivo do conteúdo do artigo;
- nome do autor (titulação, instituição a que pertence e endereço eletrônico em nota de rodapé);
- resumo em português (250 palavras ou 5% do texto - NBR-6028/03);
- palavras-chave (de 3 a 6 – recomenda-se consulta aos tesouros da área);
- introdução;
- material e métodos;
- resultados e discussão;
- conclusão;
- título em inglês, abstract (resumo em inglês) e palavras-chave em inglês;
- referências (em sua maioria publicada após 2000).

Tabelas e ilustrações

As tabelas e ilustrações devem ser numeradas distinta e consecutivamente, inseridas o mais próximo possível do local em que são mencionadas no texto e apresentar títulos explicativos. Enviar figuras e gráficos em arquivos separados com extensão *.jpeg.

Para assegurar nitidez, os desenhos, mapas e fotografias devem ser apresentados no original em preto-e-branco.

Conjugação verbal

Recomenda-se a expressão impessoal evitando o uso da primeira pessoa do singular ou plural. Os dados referentes aos resultados de experiências e observações devem ser expressos no passado. Generalidades, verdades imutáveis,

fatos e situações estáveis exigem formas verbais indicativas de seu valor constante (presente).

Referências

As referências efetivamente citadas no artigo pelo sistema autor/data devem constituir lista única (em ordem alfabética) no final do trabalho e serem apresentadas de acordo com a NBR - 6023/02 (reeditada em agosto de 2002) da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

Modelos

Livros

Ex.: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast**: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010. 304 p.

Capítulos de livro

Ex.: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. Biology, enzymes and esters. In: WHITE, C.; ZAINASHEFF, J. **Yeast**: the practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 2010. p.17-40

Publicações periódicas

Ex.: MARTINS, M.; PACHECO, A.M.; LUCAS, A.C.; ANDRELLO, A.C.; APPOLONI, C.R.; XAVIER, J.J.M. Brazil nuts: determination of natural elements and aflatoxin. **Acta Amazonica**, v.42, n.1, p. 157-164, mar. 2003.

Dissertações e teses

Ex.: SANTANA, A.A. **Influência de características físicas de plastificantes na confecção e no comportamento estrutural e higroscópico de filmes de alginato de cálcio**. 2010. 155 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

Legislação

Ex.: BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 12 de 4 de setembro de 2003. Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade gerais para suco tropical. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 9 de setembro de 2003. Seção 1, p. 2.

Anais de Congressos, Simpósios, Seminários e Conferências

Ex: PIMENTEL, T.C.; GARCIA, S.; GARCIA, S.; PRUDÊNCIO, S.H. Efeito do grau de polimerização de frutanos tipo inulina sobre os atributos de qualidade de iogurtes probióticos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 10., 2010, Curitiba. **Anais...** Curitiba: SBCTA, 2010. p. 1-10.

Documentos eletrônicos

Ex.: TUNGLAND, C. **Inulin**: a comprehensive scientific review. 2000. Disponível em: <http://members.shaw.ca/duncancrow/inulin_review.html>. Acesso em: 07/02/2011.