

COMPOSTOS FENÓLICOS, CAROTENOS E VITAMINA C NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO SUCO DE CAJU E DA CAJUÍNA

A.A.C.M. Cavalcante Núcleo de Pesquisas em Biotecnologia – CEFET-PI Praça da Liberdade, - 1795- CEP-64000-000 Teresina-PI E-mail ana ameliamelo@ibest.com.br

A de.S.Leite

Núcleo de Pesquisas em Biotecnologia – CEFET-PI Praça da Liberdade, - 1795- CEP-64000-000 Teresina-Pi E-mail: aracellileite2003@yahoo.com.br

Salvador. M Universidade de Caxias do Sul – Instituto de Biotecnologia

> Rübensam G. Laboratório de Genotoxicidade – UFRGS

João A.P. Henriques Laboratório de Genotoxicidade, Centro de Biotecnologia, UFRGS

RESUMO

Anacardium occidentale é uma planta cultivada no Brasil e em especial, no Piauí da qual se obtém muitos subprodutos de valor nutricional e medicinal. Existem relatos científicos de que o caju (pseudofruto) possui atividades antibactérias, antifungos, antimoluscos, antitumor, antiinflamatória e antimutagênica. O objetivo do trabalho foi de avaliar a atividade antioxidante do suco de caju, da cajuína e de alguns dos seus componentes químicos isolados tais como compostos fenólicos (taninos, quercetina), carotenos e vitamina C com a aplicação do Teste DPPH. Apesar das etapas de processamento da cajuína, tais como a clarificação com gelatina e o tratamento térmico contribuírem para a diminuição da concentração dos constituintes químicos na cajuína, ambos os sucos apresentam melhores atividades antioxidantes do que seus componentes químicos isolados, possivelmente, correlacionadas a efeitos sinergisticos, ao conteúdo similar de quercetina, bem como a não interferência do processamento na atividade antioxidante dos compostos fenólicos.

PALAVRAS-CHAVE: fenólicos, carotenos, atividade antioxidante

1. INTRODUÇÃO

O A. occidentale é uma árvore da família das anacardiáceas cultivada no Nordeste brasileiro, sendo o Piauí o segundo maior produtor no Brasil. O caju é consumido não somente pelas suas qualidades gustativas, mas principalmente pelo seu valor nutritivo, como uma mistura complexa com alto teor de vitamina C, vitamina A, proteínas, carboidratos, compostos fenólicos e outros micronutrientes (Assunção e Mercadante, 2003; Melo-Cavalcante et al., 2003). A dieta é importante na manutenção da estabilidade genômica com impactos na exposição, ativação e detoxificação do mutágeno/carcinógeno, bem como na síntese, reparo de DNA e apoptose (Paolini e Nestle, 2003). Estudos em animais têm demonstrado que os micronutrientes presentes na dieta, principalmente em alimentos de origem vegetal e de frutas cítricas, são eficientes quimiopreventivos contra os processos de tumoração em vários órgãos (Lee e Park, 2003).

Diferentes estudos mostram que os radicais livres presentes em humanos causam estresse oxidativo em várias moléculas, tais como lipídios, proteínas e ácidos nucléicos e podem estar envolvidos na iniciação de doenças degenerativas. Os compostos antioxidantes são capazes de neutralizar os radicais livres e prevenir certas doenças tais como câncer, cataratas, patologias celebrais e artrite reumatóide (Halliwell e Gutteridge, 2000; Henriques et al., 2001; Picada et al., 2003). Alimentos com componentes químicos antioxidantes são interessantes para prevenir o câncer e outras doenças (Minussi et al., 2003; González-Paramás et al., 2004).

Estudos de várias atividades biológicas do *A. occidentale* demonstraram atividades antibacterial, antifungal e antitumor (Kubo, et al., 1993a; Kubo, et al., 1993b; Singh et al., 2004), antiinflamatória (Ojewole, 2004) e antimutagênicas (Melo-Cavalcante et al., 2005). O suco de caju e a cajuína são excelentes antioxidantes *in vitro* (Melo Cavalcante et al., 2003) e antimutagênicos contra a ação mutagênica do peróxido de hidrogênio e da aflatoxina B1 em *Salmonella typhimurium* TA102, associado aa ação dos componentes químicos presentes no caju (**Figura I**) (Melo-Cavalcante et al., 2003; Melo-Cavalcante et al., 2005).

A proposta deste trabalho foi de avaliar a relação entre os componentes antioxidantes do suco de caju e da cajuína com a aplicação do teste DPPH e seus compostos fenólicos (quercetina e ácido tânico), vitamina C e carotenóides totais, bem como os efeitos do tratamento térmico no processamento da cajuína na sua composição química e na atividade antioxidante.

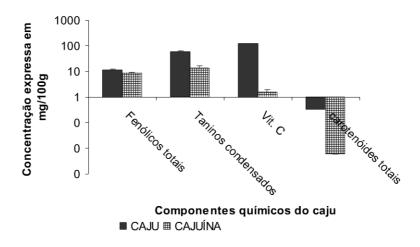


Figura I Componentes químicos do caju. Adaptado de Melo-Cavalcante et al., 2003.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparação dos sucos

O suco de caju foi preparado com cajus cultivados sem defensivos agrícolas e sem adição de água. A cajuína foi preparada segundo processo artesanal, envolvendo as etapas de extração, filtração, clarificação (gelatina natural) e tratamento térmico de 100°C por 2 horas.

2.2. Análise química

2.2.1. Determinação de ácido ascórbico

A determinação do ácido ascórbico foi feita por espectrofotometria de acordo com o protocolo de PEARSON e COX (1976), adaptado por Melo -Cavalcante et al., 2003. As leituras das realizadas no comprimento de onda de 518 nm, no intervalo de 15 a 20 segundos, após a calibração de 100% transmitância, com o uso do Espectrofotômetro Spectrum Série SP-2000UV.

2.2.2. Teste de varredura do radical DPPH•

A atividade antioxidante dos diferentes compostos foi avaliada pela sua capacidade em doar hidrogênio para o 1,1-difenil 2-picrilhidrazil (DPPH·) provocando a varredura desse radical livre e modificando a coloração da solução. Para tanto, 200mL das soluções dos diferentes compostos, na concentração de 0,25 mM, com exceção do Pycnogenol® que foi de 1%, foram misturados com 800mL de uma solução tampão Tris-HCl 100mM, pH 7,0. A essa mistura foram adicionados 1000mL da solução etanólica de DPPH· 500mM (Sigma Chem. Co.), de forma a obter concentrações finais de 0,025mM para todos os antioxidantes, com exceção do Pycnogenol® que foi de 0,1%. Os tubos foram mantidos por 20 minutos ao abrigo da luz e após foi medida a absorbância foi feita em espectofotômetro UV-visível, a 517nm. Para o branco, a amostra de antioxidante foi substituída por água destilada. Foram realizadas, no mínimo, quatro repetições e o resultado foi expresso em percentual de radical de DPPH· reduzido pelos antioxidantes. O DPPH· é um radical livre estável que pode ser produzido em perda de coloração, que é então, determinada a 517 nm (Fukumoto & Mazza, 2000).

2.2.3. Análise da quercetina por HPLC

A separação dos compostos dos sucos *in natura*, hidrolizados e industrializados foi feita com uma coluna C₁₈ % m ODS (150 X 4,6 mm), usando um sistema de solventes isocráticos (A) 10 % em acetonitrilo, pH 3; (B) acetonitrili (80:20), com fluxo de 1 mL/min. Para a fase móvel, utilizou-se a bomba Perkin Elmer Serie 200 LC,

equipada com detector de UV/VIS variável Perkin Elmer mod. 785 A em 370 nm, correspondendo à máxima absorbância da quercetina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O suco de caju e a cajuína são boas fontes de compostos fenólicos (11,9 mg/100g), taninos (61,1 mg/100g), e vitaminas tais como ácido ascórbico (120, 80 mg), mas não são boas fontes de carotenóides (0,32 mg/100g) o que não influenciou na excelente atividade antioxidante observada no teste DPPHI (**Tabela I e Tabela II**) provavelmente divido a efeitos sinergisticos. A **Figura II** demonstra que ambos, suco de caju e cajuína apresentam atividade antioxidante. A atividade de captura do radical livre DPPH pode ser um mensuramento prático e simples para avaliação da atividade antioxidante de sucos. Esta propriedade tem importância não somente para alimentos, mas também para o uso do *A. occidentale* em cosméticos, indústrias e para a produção de produtos farmacêuticos, como também pode ser usado como substitutos de antioxidantes sintéticos.

Tabela I. Percentual de DPPH• reduzido (± DP) pelas diferentes soluções.

Concentrações das amostras	Suco de caju	Cajuína	Polpa de caju	Polpa de caju filtrada
Não diluído	$89,47\% \pm 0,66$	$88,48\% \pm 1,12$	n.d	n.d
50%	$82,52\% \pm 0,37$	$87,68\% \pm 1,32$	$64,77\% \pm 0,75$	$86,76\% \pm 0,56$
20%	$32,41\% \pm 0,32$	$88,68\% \pm 0,09$	$77,68\% \pm 0,28$	$84,99\% \pm 2,87$
10%	$17,61\% \pm 1,50$	$76,49\% \pm 2,34$	$80,66\% \pm 2,25$	$68,68\% \pm 1,22$
5%	$11,92\% \pm 6,36$	$45,70\% \pm 4,12$	$86,76\% \pm 0,94$	30,73%± 1,12

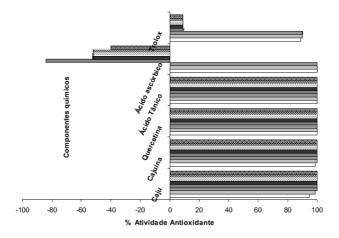
Fonte: Pesquisa feita na Universidade de Caxias do Sul. nd. Não determinado

Tabela II - Percentual de DPPH· reduzido (± DP) pelas diferentes soluções

Soluções	DPPH	
Quercetina 7 μM	$5{,}30\% \pm 0{,}00$	
Trolox 7 μM	$12,18\% \pm 1,42$	
Ácido tânico 20 mg/mL	$64,98\% \pm 1,42$	
Ácido ascórbico 16,4 μM	$11,53 \% \pm 1,87$	

Fonte: Pesquisa feita na Universidade de Caxias do Sul

Ainda na Figura II observamos que a cajuína apresenta atividade antioxidante similar à do caju apesar do tratamento térmico ter diminuído o teor de ácido ascórbico e carotenóides (**Figura I**), entretanto a diferença entre os compostos fenólicos em ambos os sucos não foi significante sugerindo que estes compostos quando submetidos à temperatura próxima de 100°C não influencia na capacidade antioxidante (**Figura II**). Existe relato de que os compostos fenólicos quando submetidos a altas temperaturas não altera a capacidade antioxidante de derivados da hidrólise de fenólicos, a exemplo dos ácidos benzóico, elágico e gálico, que apresentam a mesma capacidade antioxidante (Marionova e Yanislieva, 2003). Estes resultados sugerem a excelente contribuição dos compostos fenólicos na atividade antioxidante observada (**Tabela I, e II e Figura II**).



 \square 10 min \square 20 min \square 30 min \square 40 min \square 50 min \square 60 min \otimes 70 min \square 80 min

Figura II Atividade de captura do DPPH do caju e da cajuína em comparação com a mesma atividade dos compostos fenólicos (taninos – 20 mg/mL; quercetina – $^7\mu$ L) e ácido ascórbico (16, 4 μ L). Análise de Variância ANOVA, seguida do teste de Student e teste T de Tukey. *** $P \le 0.001$.

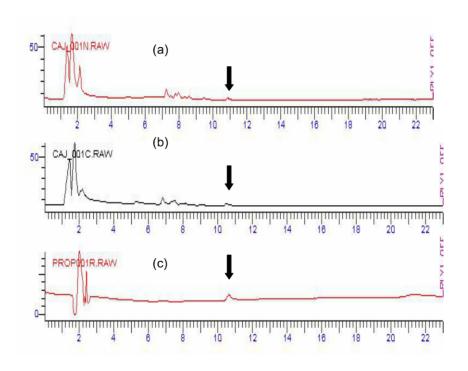


Figura III. Teor de Quercetina observada em cromatograma HPLC em 370 nm. (a) amostra de caju; (b) Cajuína e (c) padrão para quercetina (y + 35167x -9640,5 e R2 = 0,9995).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Assunção, R. B., Mercadante, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale L.*): variety and geografic effects. Food Chimisty. 81, 495-502, 2003.

FuKumoto, L. R. & Mazza, G. Assessing antioxidant and proooxidante i yeast.Presence of the and induction by oxidative conditions . J. Agric. Food Chem, 48(8), 3597-3604, 2000.

González-Paramás, A. M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buelga, C., Pascual-Teresa, S., Rivas-Gonzalo, J. C. Flavonol Conten and antioxidant activity in Winerg byproducts. J. Agric. Food Chem., 52. 234-238, 2004.

Halliwell B., Gutteridge J.M.CFree Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, New York, 3 ed. 936p, 2000.

Henriques J.A.P., Dafré A.L., Picada J.N., Maris A.F., Salvador M. Espécies reativas de oxigênio e avaliação de antioxidantes em sistemas biológicos. In: Serafini L.A., Barros NM. Azevedo J.L (Eds), Biotecnologia na Agricultura e na Indústria. Guaíga: Agropecuaria, pp. 227-256, 2001.

Kubo, I.; Ochi, M.; Vieira, P. C.; Komatsu, S. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. J. Agric. Food Chem. 41, 1012-1015, 1993 a.

Kubo, I.; Muroi, H.; Himejima, M. Struture-antibacterial activity relations of anacardic acids. J. Agric. Food Chem. 41, 1016-1019, 1993b.

Lee B.M., Park K-K. Beneficial and adverse effects of chemopreventive agents. Mutation. Research., 523: 265-287. 2003.

Marionova, E. M., Tanishlieva, N. V. Antioxidant activity and mechanism of action of some phenolic acids at ambient and hing temperatures. Food Chemistry, 81 (2), 189-197,2003.

Melo-Cavalcante, A.A.C., Rübensam, G., Picada, J.N.; Silva, E.G., Moreira, J.C.F., Henriques, J.A.P. Mutagenic evaluation, antioxidant potential and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. Environ Mol Mutagen. 41, 360-369, 2003.

Melo-Cavalcante, A.A.C., Rübensam, G., Erdtmann, B.; Brendel, M.; Henriques, J.A.P. Cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice lowers mutagenicity of aflatoxin B1 in *S. thyphimurium*. Genetics and Molecular Biology. 28(1), 2005.

Minussi, R. C.; Rossi, R.; Bologna, L.; Cordi, L.; Rotilio, D.; Pastore, G. M.; Duran, . Phenolic compouds and total antioxidant potential of commercial wines. Food Chemistry, 409-416, 2003

Ojewole J.A. Potentiation of the antiinflammatory effect of Anacardium occidentale (Linn.) stem-bark aqueous extract by grapefruit juice. Methods Find Exp Clin Pharmacol., 26(3):183-8, 2004.

Paolini M., Nestle M. Pitifalls of enzyme – based molecular anticancer dietary manipulations: food for thought. Mutation Research , 7704, 1-9, 2003.

Pearson D., Cox H.E. The chemical analysis of foods. New York: Chem. Publ. 1976.

Picada, N. P., Kern, A. L., Ramos, A. L. L., Saffi, J. O Estresse Oxidativo e as Defesas antioxidantes. In Genética Toxicológica. Org. Juliana da Silva, Bernardo Erdtmann, João Antonio Pegas Henriques. Porto Alegre: Alcance, 2003. 424p.

Singh B., Kale R. K. Modulation of antioxidant potential in liver of mice by kernel oil of cashew nut (Anacardium occidentale) and its lack of tumour promoting ability in DMBA induced skin papillomagenesis. Indian J Exp Biol, 42(4):373-7, 2004,