DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO TAMARINDUS INDICA FRENTE AO RADICAL DPPH

Amanda Furtado LUNA(1); Jurandy do Nascimento SILVA(2); Camila Kely de Carvalho LIMA(3); Samuel Cardoso COUTINHO(4); Emmanuel Wassermann Moraes e LUZ(5).

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Teresina Zona Sul Av. Pedro Freitas, 1020, São Pedro cep. 64018-000, (86) 3211-6608, e-mail: mandinha handebol@hotmail.com
 - (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: jurandy@cefetpi.br
 - (3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: camilakely@hotmail.com
 - (4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: cardosinhosam@hotmail.com
 - (5) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: professorluz@gmail.com

RESUMO

O tamarindus indica L. é um fruto de origem africana e cultivada principalmente em regiões tropicais e subtropicais. É um fruto que é utilizado de diversas maneiras, tais como: sucos, sorvetes, temperos, etc. Além de ser utilizado na medicina popular em diversas enfermidades, como: digestivo, calmante, laxante, expectorante e tônico sanguíneo. A principal característica desse trabalho consiste em verificar a capacidade antioxidante do *Tamarindus indica L*. em reduzir o radical livre DPPH em extratos aquoso e etanólico. A metodologia utilizada caracteriza-se em adicionar 1,5 mL da solução etanólica de DPPH, uma alíquota de 0,5 mL das soluções contendo as diferentes concentrações dos extratos aquoso e etanólico. Por fim foram feitas leituras da absorbância, realizada em espectrofotômetro a 517 nm, após 5, 10, 20 e 30 minutos do início da reação. Segundo LIMA, 2008 o extrato aquoso apresentou maior capacidade de reagir com o radical DPPH, conseqüentemente tem o maior potencial antioxidante, pois se obteve um EC50 menor (309) que o extrato etanólico (1419).

Palavras- chaves: *Tamarindus indica L*, antioxidante, DPPH.

1. INTRODUÇÃO

O tamarindo (*Tamarindus indica L.*) pertence à família leguminosae (caesalpinioideae), é um fruto que se desenvolve naturalmente em regiões tropicais e subtropicais. Na África e no sul da Índia, é uma das frutas mais consumidas como especiarias e fonte de alimento. São frutos amplamente explorados devido as suas propriedades nutricionais e medicinais. É um fruto que se apresenta como uma cultura de grande interesse e futuro comercial (TSUDA et al., 1994).

Praticamente todas as partes da planta têm uso na medicina popular, apresentando inúmeras aplicações terapêuticas em humanos, dentre elas o uso como digestivo, calmante, laxante, expectorante e tônico sanguíneo (KOMUTARIN et al., 2004).



Figura 1 – Fruto do Tamarindus indica L.

Atualmente os pesquisadores, em todo o mundo, têm repensado a importância da alimentação na manutenção da saúde e na prevenção de doenças. Muitas pesquisas mostram que, além dos nutrientes, existem outros componentes nos alimentos que podem exercer efeitos benéficos ao organismo, como os compostos polifenólicos, que exercem múltiplos efeitos, destacando-se a atividade antioxidante. (LIMA, 2008).

A deterioração do alimento com o tempo é inevitável, esta pode ocorrer através da perda de elétrons, com formação intermediária de um radical livre. O efeito do antioxidante consiste na inativação dos radicais livres (ARAÚJO, 1995). Já é reconhecida a associação da ingestão de frutas e a diminuição do risco de desenvolvimento de doenças crônica. Frutas contêm grande concentração de compostos que possuem ação antioxidante.

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação (PIETTA, 2000; FERREIRA e MATSUBARA, 1997), através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais (PIETTA, 2000) prevenindo a formação de doenças, contribuindo, dessa maneira, para uma maior longevidade. Desta forma, torna-se essencial o equilíbrio entre os radicais livres e o sistema de defesa antioxidante (FERREIRA e MATSUBARA, 1997).

O método pelo qual foi feita a análise consiste na capacidade do DPPH em reagir com doadores de hidrogênio (Figura 1). Na presença de substâncias antioxidantes o mesmo recebe H⁺ sendo então reduzido. O radical DPPH é estável, de coloração púrpura, porém quando reduzido passa a ter coloração amarela.

$$NO_2$$
 NO_2 NO_2 NO_2 NO_2 NO_2 NO_2 NO_2 NO_2 NO_2

Figura 1: Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante

Pode ser facilmente detectado por espectroscopia devido a sua intensa absorção na região visível. O ensaio é iniciado pela adição do DPPH e a amostra, em solução. A capacidade da amostra de reduzir o DPPH, ou seja, evitar sua oxidação é evidenciada pela porcentagem de DPPH restante no sistema. Então a

porcentagem de DPPH restante é proporcional à concentração de antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; BONDET et al., 1997).

2. METODOLOGIA

2.1 Extratos

O procedimento foi adaptado de Larrauri, et al, (1997) em que foi utilizado 50 g da polpa industrial de tamarindo, da marca Fruta Polpa, em seguida foi adicionado os respectivos solventes, para o extrato aquoso adicionou-se 100 mL de água destilada e para o extrato etanólico utilizou-se 100 mL de álcool etílico e posteriormente foi submetido a agitação por 60 minutos. Após a agitação os extratos foram colocados em tubos falcon e para serem centrifugados por 10 minutos, posteriormente foi retirado o sobrenadante do precipitado com uma pipeta e armazenado em um recipiente com identificação até sua utilização.

2.2 Determinação da capacidade de seqüestrar radicais livres

Para a avaliação da atividade antioxidante dos extratos, adicionou-se a 1,5 mL de solução etanólica de DPPH• (6x10⁻⁵M) uma alíquota de 0,5 mL das soluções contendo diferentes concentrações: 800 μg/mL, 1000 μg/mL, 1500 μg/mL dos extratos aquoso e etanólico. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 517 nm, após 5, 10, 20 e 30 minutos do início da reação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle. A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH, conforme fórmula abaixo.

% de proteção = (Abscontrole - Absamostra) / Abscontrole [Eq. 01]

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliou-se a capacidade dos extratos aquoso e etanólico do *Tamatindus indeca L.* em seqüestrar os radicais DPPH em concentrações e intervalos de tempo distintos para verificar justamente para verificar a capacidade antioxidante de cada extrato específico.

Na avaliação da atividade antioxidante por este método, o radical livre DPPH reage com o antioxidante, convertendo-se à sua forma reduzida. Nessa reação, a solução etanólica de DPPH, inicialmente de coloração violeta, torna-se amarela; e o grau deste descoramento, monitorado através do espectrofotômetro, indica a habilidade do antioxidante em seqüestrar o radical livre. Uma forma usual de expressar os resultados nesse ensaio é calcular a quantidade do antioxidante capaz de seqüestrar metade dos radicais livres DPPH presentes na solução. Esse índice denomina-se EC50. Quanto menor o valor de EC50 apresentado pelo extrato, menor quantidade do extrato será necessária para reduzir 50 % do radical livre DPPH, e maior será sua atividade antioxidante. (LIMA, 2008) Os valores do EC50 para cada extrato estão representado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Valores do EC50 para os extratos aquoso e etanólico

EXTRATO	EC50
Aquoso	309
Etanólico	1419

A partir do que relata LIMA, (2008), é possível verificar que o extrato aquoso apresentou menor EC50 o que resulta numa maior atividade antioxidante, quando comparado ao extrato etanólico.

A reação de cada extrato, em suas diferentes concentrações, pode ser visualizada nos gráficos abaixo, o que mostra o seqüestro do radical a partir da absorbância adquirida em cada intervalo de tempo.

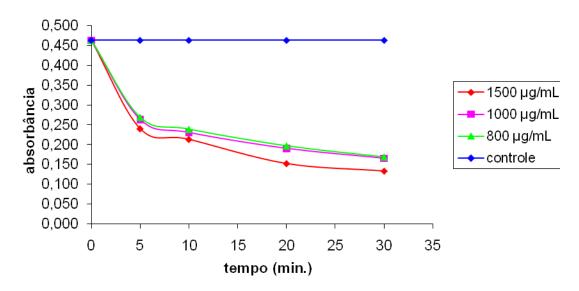


Gráfico 1: Curvas referentes as concentrações do extrato aquoso

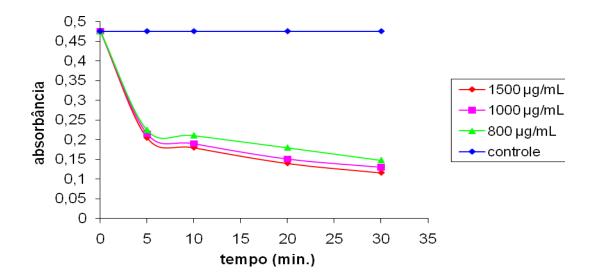


Gráfico 2. Curvas referentes as concentrações do extrato etanólico

No **gráfico 1**, as concentrações de 800 μg/mL e 1000 μg/mL se aproximam muito, diferentemente do **gráfico 2** em que elas se distanciam. Já a concentração de 1500 μg/mL no extrato aquoso apresenta-se mais distante das outras concentrações, enquanto que no extrato etanólico as a reação com o radical DPPH encontram-se muito próximos.

Observa-se que no decorrer do tempo a tendência é o extrato reagir cada vez mais com o radical DPPH, como se observa nos **Gráficos 1** e **2**. Também é possível visualizar que o extrato de concentração mais elevada é o que reage mais intensamente com o radical, ou seja, tanto o extrato aquoso quanto o etanólico reagiram em maior proporção nas concentrações maiores, 1500 µg/mL.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir da avaliação feita com os resultados obtidos foi possível verifica-se que o valor do EC50, que significa a quantidade do antioxidante capaz de seqüestrar metade dos radicais livres DPPH presentes na solução, apresentados mostra que o extrato aquoso demonstra melhor atividade antioxidante que o extrato etanólico.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J.M.A. Química dos Alimentos teoria e prática. Viçosa: UFV, p.1-68, 1995.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. **Lebensm-Wiss Technol**, v. 30, n. 6, p. 609-615, 1997.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss Technol**, v. 28, p. 25-30, 1995.

- FERREIRA, L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**,v. 43, n.1, p. 61-8, 1997.
- KOMUTARIN, T.; AZADI, S.; BUTTERWORTH, L.; KEIL, D.; CHITSOMBOON, B.; SUTTAJIT, M.; MEADE, B.J. Extract of the seed coat of Tamarindus indica inhibits nitric oxide production by murine macrophages *in vitro* and *in vivo*. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v.42, p. 649-658, 2004.
- LARRAURI, J.A; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stabilitity of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. Journal Agriculture and Food Chemistry, v. 45, p. 1390-1393, 1997.
- LIMA, A. de Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi (Caryocar brasiliense, Camb.) Tese (doutorado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo. p.182, 2008.
- PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.
- TSUDA, T.; WATANABLE, M.; OHSHIMA, K.; YAMAMOTO, A.; KAWAKISHI, S.; OSAWA, T. Antioxidative components isolated from the seed of tamarind (Tamarindus indica L.). J. Agric. Food Chem., Washington, v.42, p. 2671-2674, 1994.