

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS

CURSO DE QUÍMICA

POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO ÓLEO E ARILO DA COPAÍBA
(Copaifera langsdorffii Desf.).

Paula Villela Dessimoni Pinto

Diamantina

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS

POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO ÓLEO E ARILO DA COPAÍBA
(Copaifera langsdorffii Desf.).

Paula Villela Dessimoni Pinto

Profa. Dra. Elizabethe Adriana Esteves

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências Exatas, como parte dos requisitos
exigidos para a conclusão do curso de Química.

Diamantina

2012

Ficha Catalográfica - Serviço de Bibliotecas/UFVJM

Bibliotecária Viviane Pedrosa

CRB6-2641

P659p	Pinto, Paula Villela Dessimoni
2012	Polifenóis e atividade antioxidante no óleo e arilo da copaíba (<i>Copaifera langsdorffii</i> Desf.) . – Diamantina: UFVJM, 2012. 25p. Orientadora: Elizabete Adriana Esteves Monografia (Trabalho de conclusão de curso em Química) - Faculdade de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, 2012. 1. DPPH 2. ABTS 3. FRAP I. Título.
	CDD 540

Elaborada com dados fornecidos pelo (a) autor (a)

**POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO ÓLEO E ARILO DA COPAÍBA
(*Copaifera langsdorffii* Desf.).**

Paula Villela Dessimoni Pinto

Profa. Dra. Elizabethe Adriana Esteves

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Ciências Exatas, como parte dos requisitos
exigidos para a conclusão do curso de Química.

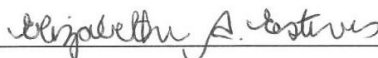
APROVADO em 17 / 10 / 2012



Prof. Dr. Paulo Henrique Fidêncio – UFVJM / Diamantina



Ms. Emanuel Roberto Faria – UFVJM / Diamantina



Profa. Dra. Elizabethe Adriana Esteves – UFVJM / Diamantina

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	7
MATERIAL E MÉTODOS	9
Obtenção dos frutos e do óleo da copaíba	9
Extração e quantificação dos compostos fenólicos	10
Atividade Antioxidante	11
RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
CONCLUSÕES	17
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	17

POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO ÓLEO E ARILO DA
COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii* Desf.).

Paula Villela*

Departamento de Química, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM,
Laboratório de Tecnologia de Biomassas do Cerrado: Rodovia MGT 367 – Km 583, nº5000, Alto
da Jacuba. 39100-000. Diamantina - MG, Brasil. email: paulavillela88@hotmail.com

Nísia Andrade Villela Dessimoni Pinto e Elizabete Adriana Esteves.

Departamento de Nutrição, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri - UFVJM,
Laboratório de Tecnologia de Biomassas do Cerrado: Rodovia MGT 367 – Km 583, nº5000, Alto
da Jacuba. 39100-000. Diamantina - MG, Brasil.

POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO ÓLEO E ARILO DA COPAÍBA (*Copaifera langsdorffii* Desf.)

ABSTRACT

The diversity of phenolic compounds and their antioxidant nature has encouraged research from vegetable raw materials, highlighted the native Brazilian Cerrado. The present study aimed to determine the effectiveness of various solvents at different concentrations, the extraction of oil and aryl of copaiba phenolic contents, and to determine the antioxidant activity of copaiba oil and aryl capture by free radical (DPPH, ABTS and FRAP) . The solvents used in the extraction influenced content of phenolic compounds, methanol and ethanol being the most efficient. The aryl and oil showed high antioxidant activity.

Keywords: DPPH, ABTS, FRAP

INTRODUÇÃO

A copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf., Caesalpinaceae) é uma espécie arbórea que atinge mais de 20,00 metros de altura ocorrendo em todo o território brasileiro e está entre as inúmeras espécies florestais nativas do cerrado. Possui valor econômico, devido à sua larga utilização na qualidade de sua madeira, ao seu emprego na arborização urbana e rural, utilização na fabricação de carvão e construção naval ^{1, 2}. O óleo da copaíba, produzido por exudação dos troncos das suas árvores, possui propriedades medicinais já conhecidas entre os índios ³, como anti-inflamatório, anti-tumoral, anti-tétano, anti-séptico urinário, para tratar bronquite, sífilis, doenças de pele e cicatrizar feridas ^{4,5}.

Os compostos fenólicos encontram-se naturalmente em muitos alimentos e bebidas derivados de plantas, sendo um grupo de grande diversidade, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, taninos e os tocoferóis como os mais comuns antioxidantes com origem natural ⁶. Estes

compostos estão associados às propriedades antioxidantes e sua ingestão na dieta tem sido associado a efeitos benéficos para a saúde humana ^{7, 8}, com provável papel na prevenção de várias doenças associadas ao estresse oxidativo, tais como o câncer, as doenças cardiovasculares e neurodegenerativas ⁹.

A crescente demanda de antioxidantes naturais para aplicação em alimentos tem incentivado em todo o mundo a pesquisa sobre a extração de substâncias biologicamente ativas a partir de uma variedade de matérias-primas vegetais ¹⁰.

A técnica de extração empregada na obtenção de extratos de produtos naturais influencia diretamente sua qualidade e sua composição final. O procedimento de extração é determinado pela família de compostos a ser extraída e se o objetivo é quantitativo ou qualitativo. Ou seja, o rendimento de processo e a composição dos extratos dependem tanto do solvente utilizado como do método de extração aplicado. As diferentes técnicas de extração podem estar baseadas em mecanismos químicos diferentes, como por exemplo, a solubilidade de substâncias no solvente utilizado é função sua polaridade, ou seja, diferentes substâncias serão extraídas de acordo com o grau de polaridade e o solvente utilizado. A característica hidrofílica ou lipofílica do composto a ser extraído afeta sua solubilidade no solvente, e da mesma forma, a polaridade do solvente também tem impacto sobre a eficácia da extração ^{11, 12, 13}.

Para a determinação da atividade antioxidante, segundo Huang *et al.* ⁸, são necessárias duas ou mais técnicas uma vez que nenhum método tratado isoladamente pode refletir exatamente a capacidade antioxidante total de uma amostra. O método DPPH é baseado na redução do radical-livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) em presença de antioxidante ¹⁴(Figura 1a). O ensaio ABTS é baseado na eliminação do radical ABTS^{•+}, 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) pelos antioxidantes presentes na amostra ¹⁵(Figura 1b). O método FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) permite determinar a redução do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas

de compostos puros (Figura 1c). Este método é aplicado também em estudos da eficiência antioxidante em extratos de alimentos e bebidas ¹⁶.

Figura 1

Por ser a copaíba uma espécie exótica do cerrado, já conhecida e utilizada na medicina popular e considerando a abundância na natureza dos compostos fenólicos e sua possível atividade antioxidante, este trabalho teve por objetivos determinar a eficácia de diversos solventes, em diferentes concentrações, na extração dos fenólicos totais do óleo e do arilo da copaíba pelos métodos Folin Dennis e Folin Ciocateau; determinar a atividade antioxidante do óleo arilo da copaíba pela captura do radical livre pelos métodos do DPPH, ABTS e FRAP.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos frutos e do óleo da copaíba

Os frutos e o óleo do tronco da copaíba foram coletados em áreas de campo previamente selecionadas no Alto Jequitinhonha, em latitude de 18°14'58"S e longitude de 43°36'01" oeste de Greenwich. Os frutos foram coletados na copa das plantas ou no chão e em diferentes alturas e em todas as faces (norte, sul, leste e oeste), manualmente ou com auxílio de podão.

Os frutos da copaíba foram lavados em água corrente e posteriormente em água destilada. Após secagem em temperatura ambiente, suas cascas foram removidas e toda a polpa (arilo) separada das sementes. Em seguida, a polpa ou arilo foi acondicionado em bandejas e levada para secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60,00 a 70,00 ± 5 °C por 48 horas. Após a secagem, o material foi moído e finamente peneirado, sendo acondicionado em saco plástico e armazenado sob-refrigeração (5,00 ± 0,5 °C).

O óleo-resina foi coletado do tronco das árvores, com a utilização de um trado, com o qual foi feito um pequeno orifício no tronco, buscando atingir o seu veio, vedando em seguida o canal de extração. Para obtenção do óleo, foi inserido ao orifício no tronco um cano com uma mangueira que conduziu-se o óleo a um recipiente. Após a produção, o pedaço de cano foi vedado com uma rosca e permanecerá no tronco para facilitar futuras extrações ¹⁷.

Após a coleta, o óleo foi aquecido a $45,00 \pm 5$ °C por 10 minutos e filtrado para eliminar as possíveis sujidades. Em seguida, foi acondicionado em um recipiente de vidro, ao abrigo da luz, em refrigerador, até o momento das análises.

Extração e quantificação dos compostos fenólicos

Aproximadamente 5,00 g de cada amostra (óleo e arilo) foi submetida a extração com 20,00 mL dos seguintes solventes (Tabela 1) puros e combinados.

Tabela 1

A extração foi realizada em Soxhlet por 4 horas mantendo-se a temperatura de ebulição do solvente ¹⁸. A seguir os extratos foram levados ao rotavapor até volume de cerca de 5,00 mL, sendo completado volume com água destilada para subsequente quantificação. O conteúdo de compostos fenólicos totais dos extratos foi determinado de acordo com o método de Zielinski e Kozłowska ¹⁹, em espectrofotômetro (SHIMADZU-1240) com leitura a 750 nm, utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu ²⁰. A quantidade total de fenólicos de cada extrato foi quantificada por meio de uma curva analítica preparada com ácido tânico.

Os compostos fenólicos também foram quantificados pelo método Folin-Denis ²¹. Este método é descrito por Swain e Hills ²², que baseia-se na redução do ácido fosfomolibdico-

fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul que absorve 760 nm, utilizou-se uma curva analítica preparada com ácido tânico.

Atividade Antioxidante

Preparou-se um extrato hidroalcoólico (metanol/água destilada 1:1) a partir de 10,00 g de amostra e 40,00 mL de solvente. Após 60 min sob-reposo a temperatura ambiente, o extrato foi centrifugado por 15 min com posterior recolhimento do sobrenadante. O processo foi repetido sobre o resíduo da primeira extração, com 40,00 mL de acetona 70 % (acetona/água destilada 7:3) como extrator, conforme Larraury et al.,1997.

A atividade antioxidante por captura de radical DPPH livre foi determinada conforme Rufino *et al.*¹⁴, em amostras com diferentes diluições (500,00; 1000,00 e 1500,00 mg L⁻¹) do extrato obtido anteriormente. Em ambiente escuro, alíquotas de 0.10 mL de cada diluição foram adicionadas a 3,90 mL do radical DPPH 0.06 mmol x L⁻¹ e homogeneizadas em vórtex. O declínio da absorbância a 515 nm correspondeu à redução do radical DPPH. Para o cálculo do EC₅₀ que reflete o esgotamento de 50 % dos radicais-livres, utilizou-se a equação $y = -ax + b$, traçada com os valores de absorbância para cada diluição, sendo $y = \text{absorbância inicial do controle}/2$. As leituras foram realizadas após a estabilização da absorbância, verificada no tempo de 60 min. Foi traçada também a curva analítica a partir da solução inicial de DPPH 0,06 mmol x L⁻¹ com concentrações variando de 10,00 a 60,00 µM.

Para a avaliação da atividade antioxidante por captura do radical ABTS livre, amostras de 500,00; 1000,00 e 1500,00 mg L⁻¹ foram preparadas a partir do extrato inicial. Em ambiente escuro, alíquotas de 30,00 µL foram adicionadas a 3,00 mL do radical ABTS e homogeneizadas em vórtex. Após 6 min da preparação da mistura, realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. O cálculo da atividade antioxidante foi realizado, substituindo, na equação da reta traçada para as

absorbâncias obtidas, a absorbância equivalente a 1000,00 μM do padrão trolox (obtida pela reta da curva analítica com concentrações variando de 100,00 a 2000,00 μM). O resultado obtido corresponde à diluição da amostra (mg L^{-1}) equivalente a 1000,00 μM de trolox sendo expresso em $\mu\text{M trolox g}^{-1}$ de FCJ ¹⁴.

Diferentes diluições (500,00; 1000,00 e 1500,00 mg L^{-1}) foram preparadas a partir do extrato hidroalcoólico obtido anteriormente. Em ambiente escuro, adicionaram 90,00 μL de cada diluição a 270,00 μL de água destilada. A solução foi acrescida de 2,70 mL do reagente FRAP, homogeneizada em vórtex e aquecida em banho-maria a 37 °C por 30 min. Realizou-se leitura a 595 nm utilizando o reagente FRAP como branco. Soluções aquosas de Fe_2SO_4 com concentrações entre 500 e 2000 μM foram utilizadas para obtenção da curva analítica de calibração. A análise foi realizada conforme Rufino *et al.* ¹⁶, e os resultados foram expressos em $\mu\text{M Fe}_2\text{SO}_4 \text{ g}^{-1}$.

Todas as análises foram realizadas em quatro repetições e os resultados expressos em médias \pm desvios padrões. Para fenólicos totais foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para avaliar as diferenças entre os diferentes solventes e entre os dois reagentes analisados, sendo o teste de comparação múltipla de Tukey adotado como nível de significância $p < 0,05$. Foi determinado o coeficiente de correlação de Pearson para os teores de fenólicos e as diferentes atividades antioxidantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No arilo da copaíba (Tabela 2) pelo método de Folin Dennis, o metanol, seguido pelo etanol 80% e acetona 80 % foram estatisticamente os mais eficientes, extraíndo 7,76; 6,74 e 6,38 vezes que a acetona, respectivamente. Pelo método de Folin Ciocateau, Tabela 2, os extratores etanol 80% e metanol 60 % foram estatisticamente os mais eficientes, extraíndo 5,10 e 4,19 vezes mais que a acetona. Resultados semelhantes foram relatados ²⁴, que avaliaram a composição fenólica de

própolis orgânica, sendo também os solventes etanol e metanol os mais eficientes no processo. O metanol é largamente utilizado na extração de compostos fenólicos com eficiência^{13, 25} e outros autores sugerem que solventes com alta polaridade como a água e solventes com baixas polaridades ou apolares não são bons extratores²⁶, resultados verificados no presente estudo.

Sabe-se que não é uma tarefa fácil encontrar um método único que seja adequado para a análise de um grupo diverso de fenólicos, devido à diversidade das estruturas químicas e variação de sensibilidade dos compostos às condições de extração²⁷.

A acetona pelos dois métodos quantificados, Tabela 2, foi estatisticamente a menos eficiente na extração dos fenólicos do arilo da copaíba.

Tabela 2

Pesquisas têm sido desenvolvidas para separar, identificar e quantificar os compostos fenólicos em alimentos, enfrentando muitos problemas analíticos, uma vez que para além de englobarem uma gama enorme de substâncias, apresentam na maioria das vezes elevada polaridade, sendo ainda muito reativos e susceptíveis à ação enzimática. Até ao momento, ainda não se desenvolveu um método satisfatório para a extração seletiva de todos ou de uma classe específica destes compostos nos alimentos. A solubilidade dos fenólicos varia de acordo com a polaridade do solvente utilizado, o grau de polimerização e das interações com outros constituintes dos alimentos⁶.

A quantidade de compostos fenólicos do arilo da copaíba são superiores a faixa de 219,56 a 1242,78 mg 100g⁻¹ encontrada nas cascas de uvas das cultivares²⁸; e no intervalo de 134,45 a 522,74 mg 100g⁻¹ no bagaço de maçã²⁸.

Entre os compostos fenólicos encontrados em frutas nativas destacam-se os ácidos fenólicos, flavonóides e taninos. Sabe-se que os dois primeiros são um dos principais responsáveis pela

atividade antioxidante dos vegetais ²⁹. Desta forma, o arilo e polpa da copaíba destacaram-se nestes compostos, sendo necessários uma abordagem, isolamento e quantificação de compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante.

No óleo da copaíba (Tabela 3) os extratores metanol e etanol também foram os mais eficientes pelo método de Folin Dennis, extraíram 31,84 e 22,98 vezes mais que a água. Os extratores metanol, etanol 80 %, etanol, metanol 80 % e acetona foram os mais eficientes pelo método de Folin Ciocateau, extraíram em média 700 vezes mais que a água. Solventes com alta polaridade como a água e solventes com baixas polaridades ou apolares não são bons extratores ²⁶, resultados verificados no presente estudo.

Tabela 3

Houve variações no arilo e óleo da copaíba pelo diferentes extratores e métodos de quantificação, sendo estas variações de acordo com ³⁰, que em estudos com o bagaço de uva, que também observaram a influência dos extratores nos teores de fenólicos quantificados, de 1480,00 a 7950,00 mg 100g⁻¹, sendo estes últimos são maiores aos resultados do arilo e óleo da copaíba do presente estudo, Tabela 3. Entretanto, estes autores obtiveram as melhores extrações de compostos fenólicos totais do bagaço da uva em solvente acetona (50 e 70 %). Contrariamente ³¹, também estudando sementes e bagaço de uva, obtiveram eficientes extrações dos compostos fenólicos totais utilizando acetato de etila : metanol : água e etanol.

Diversos autores concluíram que não é uma tarefa fácil encontrar um método único que seja adequado para a análise de um grupo diverso de fenólicos devido à diversidade das estruturas químicas e variação de sensibilidade dos compostos às condições de extração ²⁷.

Quanto a atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH, Tabela 4, o arilo apresentou valores de 3,61 g g⁻¹ e são considerados elevados, uma vez que neste método uma boa

atividade antioxidante total é inversa a valores altos e sim correspondentes aos menores valores ¹⁴. Ou seja, quanto menor o valor encontrado menos antioxidante é necessário para reduzir 50 % dos radicais DPPH. Desta forma, a atividade antioxidante do arilo da copaíba estudado apresentou-se superior aos do açai (*Euterpe oleracea*) de 598,00 g g⁻¹; do caju (*Anacardium occidentale*), de 906,00 g g⁻¹; do umbu (*Spondias tuberosa*), de 933,00 g g⁻¹ ³².

Tabela 4

Foi possível verificar no arilo a existência de compostos que atuam como doadores de hidrogênio ao radical DPPH, sendo a mesma portadora de alta capacidade antioxidante ¹⁴. O resultado encontrado neste ensaio é influenciado, principalmente, pelo teor de compostos fenólicos, Tabela 4 (método de Folin Ciocateau), os quais representam a principal contribuição quanto à capacidade de sequestrar radicais-livres, ou seja, uma alta correlação ³³.

O desempenho antioxidante de frutos e/ou resíduos destes é dependente de inúmeros fatores, como origem geográfica, condições climáticas, período da colheita, armazenamento, temperatura de secagem, solvente extrator, teor de fenólicos, vitaminas, carotenoides ¹².

O método ABTS foi usado para confirmar os resultados do teste de DPPH, uma vez que se baseia em um mecanismo antioxidante semelhante. De maneira diferente à apresentação do resultado para o DPPH, o maior valor em $\mu\text{M trolox g}^{-1}$ é referente a uma maior concentração de substâncias com potencial antioxidante equivalente ao padrão Trolox[®] em um grama de amostra, apresenta alta capacidade de captura de radical ABTS ³². A alta atividade antioxidante do arilo da copaíba pelo método da captura do radical ABTS ($1512,62 \mu\text{mol Trolox g}^{-1}$) apresentou-se com teores maiores quando comparada com cascas de frutos de *Hymenaea courbaril* (jatobá), *Callocarpum mamosum* (coastal sapote) e *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu) com

respectivamente 428,00; 377,00 e 65,30 μM trolox g^{-1} ³⁴. Pelo método de Folin Ciocateau, observa-se uma alta correlação com os compostos fenólicos, Tabela 5.

O extrato do arilo e óleo da copaíba mostraram-se efetivos na promoção da atividade antioxidante pela redução dos íons Fe^{3+} (26877,31 e 1121,50 mm de Fe_2SO_4 100 g^{-1} , respectivamente), Tabela 4. A atividade antioxidante do arilo e do óleo da copaíba pela redução dos íons Fe^{3+} foi elevada e mostrou-se com uma alta correlação com compostos fenólicos quantificados, Tabela 5. Os teores de compostos fenólicos do presente estudo foram superiores às cascas de frutos conhecidos popularmente como: romã (82,11 mm Fe_2SO_4 100 g^{-1}), goiaba (10,24 mm Fe_2SO_4 100 g^{-1}), Kiwi (11,13 mm Fe_2SO_4 100 g), manga (10,13 mm Fe_2SO_4 100 g^{-1}), banana (3,16 mm Fe_2SO_4 100 g^{-1}) ³⁵.

A Tabela 5 mostra os coeficientes de correlação entre os compostos fenólicos e as diferentes formas de determinação da atividade antioxidante. Os fenólicos avaliados no óleo e arilo da copaíba correlacionaram-se negativamente com capacidade antioxidante por diferentes métodos. Dancey e Reidy ³³ apontam para uma classificação ligeiramente diferente: $r = 0,10$ até $0,30$ (fraco); $r = 0,40$ até $0,60$ (moderado); $r = 0,70$ até $1,00$ (forte), independente do sinal positivo ou negativo.

Tabela 5

Resultados semelhantes ao presente estudo foram relatados em outros estudos com a atividade antioxidante com conteúdo fenólico ^{36,37}. Gardner et al. ³⁸, descobriram que os compostos fenólicos contribuem em grande medida para a capacidade antioxidante de sucos não-cítricos, enquanto que os compostos carotenóides mostraram correlações negativas.

CONCLUSÕES

Os solventes utilizados na extração do arilo e óleo da copaíba influenciaram diretamente os conteúdos de compostos fenólicos.

O método de Folin Dennis quantificou os maiores teores de compostos fenólicos no arilo e óleo da copaíba.

Nos 2 métodos utilizados o metanol e etanol foram os mais eficientes, enquanto a acetona foi a menos eficientes

O tipo e a concentração do extrator influenciaram nos teores de fenólicos avaliados, tanto no arilo quanto no óleo.

Para a atividade antioxidante, o arilo apresentou elevada atividade antioxidante pelos métodos avaliados (ABTS, FRAP e DPPH). O óleo da copaíba somente mostrou atividade antioxidante pelo método FRAP.

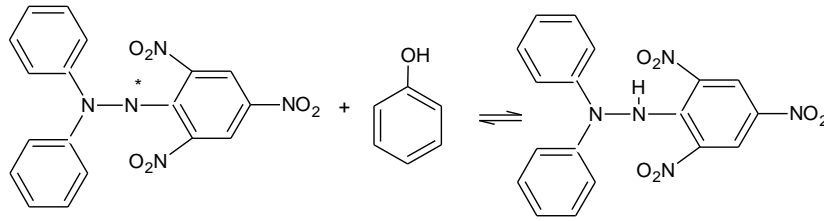
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 Lorenzi, H.; Nova Odessa: Ed. Plantarum,1998,3(3),384.
- 2 Veiga JR, V. F., Pinto, A. C. Química Nova, 2002,25(2),273-286.
- 3 Veiga JR, V. F.; Zunino, L.; Calixto, J. B.; Patitucci, M. L. P.; Pinto, A. C. Phytotherapy Research,2001,15,476-480.
- 4 Paiva, L.A.F., Gurgel, L.A., De Souza, E.T., Silveira, E.R., Silva, R.M., Santos, F.A., Rao, V.S.N.; Journal of Ethnopharmacology,2004,(93),53-56.
- 5 Gomes N. M, Rezende C. M, Fontes S. P, Matheus M. E, Fernandes P. D. J Ethnopharmacol 2007,(12),486-492.
- 6 Angelo, P. M., Jorge, N.Rev. Inst. Adolfo Lutz,2007,66(1),1 - 9.
- 7 Bravo, M. N; Feliciano, R.; Silva, S.; Coelho, A. V.; Vilas Boas, L.; Bronze, M. R.

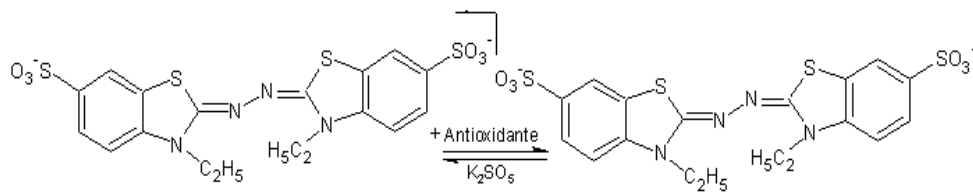
- Analytica Chimica Acta, 2006,563,84 - 92.
- 8 Huang, H. Y.; Lien, W. C.; Chiu, C. W. Comparison of microemulsion electrokinetic chromatography and micellar electrokinetic chromatography methods for the analysis of phenolic compounds, *J. Sep. Sci.*,2005,28,973 - 981.
- 9 Pimentel, C. V. M.; Francki, V. M.; Gollucke, A. P. B. Alimentos funcionais: Introdução às principais substâncias bioativas em alimentos. São Paulo: 1.ed..
- 10 Díaz-Reinoso, B.; Moure, A.; Domínguez, H.; Parajó, J. C. Supercritical CO₂ extraction and purification of compounds with antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54, 2441-2469.
- 11 Biscaia, D. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2007.
- 12 Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H.; Núñez, M. J.; Parajó, J. C.; *Food Chemistry*, 2001, 72, 145-171.
- 13 Tsao, R., Deng, Z.; *J.Chromatog.* 2004, 812, 85-99.
- 14 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, 2007.
- 15 Zulueta, A., Esteve, M. J., Frígola, A.; *Food Chemistry*. 2009, 114 (1), 310-316.
- 16 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 pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). Comunicado Técnico 125: Embrapa, 2006.
- 17 Romero, A. L., Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas,Brasil,

- 2007.
- 18 Araújo, J. M. A. Química de Alimentos: Teoria e Prática; Editora UFV - Universidade Federal de Viçosa: Belo Horizonte; 4.ed.,2004.
- 19 Zielinski, H, Kozłowska, H.; J. Agric. Food Chem., 2000, 48, 2008-2016.
- 20 Singleton V. L, Rossi J. A.; Am J Enol Vitic 1965; 16 (3), 144-146.
- 21 Association Of Official Analytical Chemists. Official methods of analyses of the Association of Official Analytical Chemists. Washington;15. ed., 1990.
- 22 Swain T., Hillis W. E.; J Sci Food Agric 1959; 10 (1): 63-68.
- 23 Larrauri, J.A., Rupérez, P., Saura-Calixto, F.; Journal Agriculture and Food Chemistry, 1997, 45, 1390-1393.
- 24 Tiveron, A. P. ; Alencar, S. M. . Atividade antioxidante e composição fenólica de propolis orgânica de Apis mellifera; In 7 Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos; 2007.
- 25 Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, I., Jiang, Y. Food Reviews International, 2005, 21, 139-166.
- 26 Liu, F. F., Ang, C. Y. W., Springer, D. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2000, 48, 364-371.
- 27 Antolovich, M.; Prenzler, K.R.; Ryan, D.; Analyst, 2000, 125, 989-1009.
- 28 Soares, M., Welter, L., Kuskoski, E.M., Gonzaga, L., Fett, R.; Revista Brasileira de Fruticultura. 2008, 30, 26-31.
- 29 Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J.; The Journal of Nutritional Biochemistry, 2002, 13, 572-584.
- 30 Rockenbach, I. I., Silva, G. L., Rodrigues, E., Kuskoski, E.M., Fett, R. Ciênc. Tecnol.Aliment., 2008, 28, 238-244.

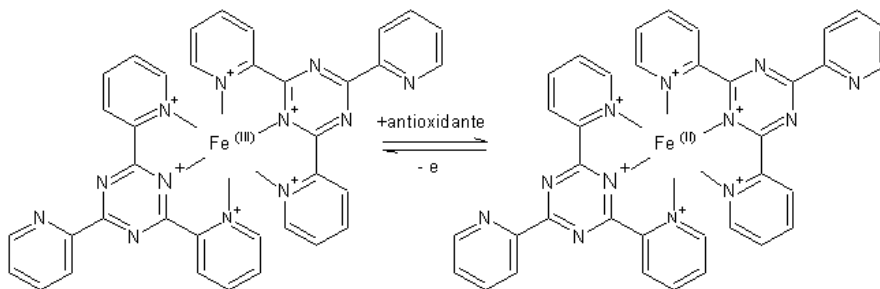
- 31 Göktürk Baydar, N., Özkan, G., Sagdiç, O. *Food Control*, 2004, 15 (5), 335-339.
- 32 Rufino, M. S. M.; Alves, R. E.; Brito, E. S.; Pérez-Jiménez, J.; Saura-Calixto, F.; Mancini-Filho J.; *Food Chemistry*, 2010, 121 (4), 996-1002.
- 33 Dancey, Christine & Reidy, John. *Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows.* ; Artmed: Porto Alegre; 2006.
- 34 Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., García-Villanova, B.; *Food Research International*, 2011, 44 (7), 2047-2053.
- 35 Guo, C.; Yang, J.; Wei, J.; Li, Y.; Xu, J.; Jiang, Y.; *Nutrition Research*, 2003, 23 (12), 1719–1726.
- 36 Imeh, U., Khokhar, S.; *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2002, 50, 6301-6306.
- 37 Pinelo, L., Manzocco, L., Nuñez, M. J. & Nicoli, M.C.; *Food Chemistry*, 2004, 88 (2), 201-207.
- 38 Gardner, P. T., White, T. A. C., Mcphail, D. B., Duthie, G. G.; *Food Chemistry*, Barking 2000, 68, 471-474.



a) Estabilização do radical-livre DPPH.



b) Estabilização do radical ABTS por antioxidante.



c) Redução do complexo férrico.

Figura 1. Reações de diferentes atividades antioxidantes. a) DPPH, b) ABTS e c) FRAP.

Tabela 1. Diferentes concentrações dos solventes para extração do arilo e óleo da copaíba.
Diamantina, 2011.

Combinações	Solventes			
	Água	Metanol	Etanol	Acetona
1	100%	100%	100%	100%
2	-	80%	80%	80%
3	-	60%	60%	60%

Tabela 2. Teores médios de compostos fenólicos do arilo da copaíba por diferentes extratores e métodos de quantificação. Valores expressos em (mg 100g⁻¹). Diamantina, 2011.

Extratores	Fenólicos Folin Denis	Fenólicos Folin Ciocateau
Acetona	450,33 ± 8,66 e	399,68 ± 5,27 e
acetona 60 %	1771,72 ± 77,54 c	1449,49 ± 55,21 c
acetona 80 %	2875,94 ± 8,91 b	1460,84 ± 42,78 c
Água	2150,53 ± 112,95 c	1179,50 ± 10,85 c
Etanol	972,58 ± 26,05 d	748,64 ± 8,55 d
etanol 60 %	1982,44 ± 183,22 c	1178,54 ± 56,22 c
etanol 80 %	3036,57 ± 142,95 b	2037,39 ± 124,88 a
Metanol	3497,19 ± 96,49 a	1266,46 ± 99,81 c
metanol 60 %	2176,49 ± 183,74 c	1675,78 ± 78,45 b
metanol 80 %	2220,53 ± 26,54 c	1307,46 ± 102,78 c

Médias de mesma letra na vertical (linha) não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 3. Teores médios de compostos fenólicos do óleo resina da copaíba por diferentes extratores e métodos de quantificação. Valores expressos em (mg 100g⁻¹). Diamantina, 2011.

Extratores	Fenólicos Folin Denis	Fenólicos Folin Ciocateau
acetona	1621,86 ± 253,97 e	2225,05 ± 125,01 b
acetona 60%	2657,80 ± 265,11 c	917,28 ± 95,14 d
acetona 80%	679,49 ± 11,14 f	1423,29 ± 105,78 c
água	144,81 ± 42,33 g	3,47 ± 0,12 e
etanol	3328,37 ± 138,12 b	2095,66 ± 281,01 b
etanol 60%	634,93 ± 109,16 f	262,25 ± 159,45 e
etanol 80%	1853,55 ± 351,99 d	2262,01 ± 122,10 b
Metanol	4611,60 ± 191,59 a	2772,64 ± 214,30 a
metanol 60%	1463,68 ± 960,19 e	158,27 ± 12,75 e
metanol 80%	2071,88 ± 178,22 d	2091,04 ± 122,75 b

Médias de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 4. Atividade antioxidante por diferentes métodos no óleo e arilo da copaíba. Diamantina, 2011.

	ABTS (uM trolox g ⁻¹)	DPPH (EC50 g ⁻¹)	DPPH (g g ⁻¹ DPPH)	FRAP (μM sulfato ferroso g ⁻¹)
Arilo	1512,62 ± 195,95	85,30 ± 34,99	3,61 ± 1,48	26877,31 ± 648,09
Óleo	Não detectado	Não detectado	Não detectado	1121,50 ± 211,59

Tabela 5. Correlação de Pearson (r) entre os compostos fenólicos e capacidade antioxidante por diferentes métodos, no arilo e óleo da copaíba. Diamantina, 2011.

Amostra	Métodos	Folin Denis	Folin Ciocateau
arilo	ABTS	-0,33	-0,98
arilo	DPPH	-0,50	-1,00
arilo	FRAP	-0,50	-1,00
óleo	FRAP	-1,00	-0,50

Significância $p < 0,05$