

Área: Ciência de Alimentos

DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM GENÓTIPOS DE AVEIA

Angelica Deon*, Daniela Cristiane Piccini*, Luis Eduardo Magnan*, Vera Klajn,
Luiz Carlos Gutkoski***

**Laboratório de Cereais, Curso de Engenharia de Alimentos, Centro de Pesquisa em Alimentação,
Universidade Passo Fundo*

*** Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFRS), Campus Bento Gonçalves, RS.*

**E-mail: gutkoski@upf.br*

RESUMO

A aveia apresenta em sua composição proteínas e ácidos graxos essenciais, vitaminas, minerais, esteróis, fibras solúveis e β -glicanas e baixo teor de carboidratos; além de compostos com atividade antioxidante, como vitamina E (tocoferol), ácido fítico, compostos fenólicos e avenantramidas, que em baixas concentrações são capazes de retardar ou evitar o processo de oxidação em produtos de aveia. O trabalho teve por objetivo avaliar as propriedades físicas e químicas e a atividade antioxidante, através do emprego dos métodos ABTS, DPPH, Folin-Ciocalteu e FRAP, nos genótipos Teixeira, Pampa, Temprana e Gaudéria. A caracterização física dos grãos foi realizada através da determinação de PH (peso do hectolitro), PMG (peso de mil grãos), percentagem de grãos maiores que 2 mm e RI (rendimento industrial). Os grãos foram descascados e moídos em granulometria inferior a 0,5 mm e avaliado a composição química com emprego do NIR. Os dados foram tratados através da análise de variância (Anova) e nos modelos significativos as médias comparadas entre si pelo teste Tukey a 5% de significância. O genótipo Temprana apresentou melhores resultados na avaliação física. A composição química não variou significativamente entre os genótipos estudados, exceto teor de proteínas, no qual o genótipo Temprana e Teixeira foram inferiores. O genótipo Teixeira apresentou maior atividade antioxidante. Os métodos Folin Ciocalteu e FRAP apresentaram maior eficácia na determinação da atividade antioxidante em genótipos de aveia.

Palavras-chave: Avena sativa, atividade antioxidante, avenantramida, FRAP.

1 INTRODUÇÃO

A aveia pertence a classe Liliopsida, ordem Poales, família Poaceae, subfamília Pooidae, tribo avenae e do gênero Avena. A espécie mais cultivada é a Avena sativa (aveia

branca), que se adapta melhor em climas úmidos e frios, sendo um grão de relativa importância para a alimentação humana e animal. Este cereal fornece um grande aporte energético balanceado e possui uma alta qualidade nutricional. A aveia apresenta maior porcentagem de lipídios se comparada a outros cereais, além da grande quantidade de compostos com atividade antioxidante encontrados principalmente no aleurona do grão.

Os antioxidantes são compostos que tem função de manter a estabilidade dos produtos e capacidade de formar um complexo ao substrato oxidável, atrasando ou inibindo a oxidação evitando a forte tendência a rancidez. Na aveia, a atividade antioxidante de diferentes genótipos pode estar influenciada nas características tecnológicas após a colheita e durante o seu processamento. Collins (1989) identificou um grupo de compostos orgânicos com grupos fenólicos e nitrogenados denominados "avenantramidas" descritos como fitoalexinas, elementos capazes de repelirem como forma de proteção ou defesa contra ataques de pragas.

Os principais antioxidantes no grão de aveia são os tocóis, ácido fítico, ácido ferúlico, ácido cinâmico e as avenantramidas; e por estarem predominantemente livres, fornecem uma característica muito peculiar na aveia de ser um grão instável (PETERSON, 2001).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

Os genótipos de aveia UPFA 20, Pampa, UPFA 22 e Gaudéria, indicados pela Comissão Brasileira de Pesquisa de Aveia e cultivados no Centro Experimental de Produção Agropecuário (Cepagro) da Universidade de Passo Fundo, safra 2009/10 foram caracterizados quanto ao PH (peso do hectolitro), MMG (massa de mil grãos), porcentagem de grãos maiores que 2 mm, RI (rendimento industrial), composição química e determinação da atividade antioxidante pelo emprego dos métodos DPPH, ABTS e FRAP. Foram realizadas as análises de PH e MMG, separado uma alíquota de grãos, peneirado em peneira de furo oblongo, quantificando grãos maiores que 2 mm de espessura. O rendimento industrial de grãos foi determinado a partir da multiplicação entre o rendimento de grãos e a porção maior que 2 mm de espessura (FLOSS et al., 2002). Após o descasque manual de 300 grãos, as cariopses foram moídas em moinho tipo Willey, com peneira de 0,25 mm de abertura e analisado em

espectrômetro de reflectância no infravermelho proximal (NIR) os teores de proteínas, lipídios fibra alimentar total, fibra alimentar solúvel, fibra alimentar insolúvel, beta-glicanas e cinzas. A extração de antioxidantes da aveia foi realizada de acordo com o método elaborado por PIKE, et al. (2007). As amostras foram submetidas a um banho duplo utilizando hexano (5:1 relação solvente/amostra) para extração da amostra. O material desengordurado foi submetido a banho triplo com metanol (5:1 relação solvente/amostra desengordurada) para extrair os compostos antioxidantes. As amostras e misturas de solventes foram agitadas em shaker a 1 200 rpm por 15 min e após centrifugadas por 20 min a 20 900 g. O sobrenadante foi coletado e seu volume reduzido em rotavapor. O resíduo resultante foi purificado e redissolvido em poucos mililitros de metanol, centrifugado por 20 min a 20.900 g e evaporado em rotavapor. Os fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu, que na presença de compostos fenólicos, muda sua coloração de amarela para azul. A reação ocorre em meio alcalino e a coloração obtida apresenta um máximo a 760 nm. O teste de ABTS foi realizado conforme descrito por Kuskoski et al. (2005). O radical ABTS é formado por uma reação química, eletroquímica ou enzimática, com persulfato de potássio, em uma relação estequiométrica de 1:0,5, em que ocorre a captura do radical 2,2 – azinobis (3 – etilbenzolina – 6 – ácido sulfônico). O método DPPH foi desenvolvido por Brand-Williams et al. (1995), baseado na redução de absorbância na região visível de comprimento de onda de 515 nm do radical DPPH por antioxidantes. O método FRAP é o único que não se baseia na captura de radicais livres, mas na capacidade de redução de compostos metálicos, que no organismo podem atuar como peroxidantes (JIMÉNEZ, 2008), com absorbância a 595 nm. O composto fica incolor quando forma ferro oxidado, pela ação da doação de elétrons ao antioxidante. O experimento foi conduzido em delineamento casualizado e os resultados analisados estatisticamente pelo emprego da análise de variância (Anova). Nos modelos significativos as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 95% de intervalo de confiança.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de análises físicas dos genótipos de aveia utilizados no trabalho estão apresentados na Tabela 1. Para o peso do hectolitro, várias características do grão são importantes, como a forma, a textura, o tamanho, o peso e as características extrínsecas ao

material, segundo a literatura, o PH mínimo da aveia deve estar acima de 50 kg/ 100 L, os valores encontrados no presente estudo estiveram abaixo, exceto para o genótipo Temprana, que apresentou um PH de 51,80%. Já o peso de mil grãos é o valor expresso por gramas de mil grãos, representando indiretamente o tamanho do grão, segundo a legislação americana o peso mínimo de mil grãos exigido é de vinte e sete gramas (GANZMANN e VORWERCK, 1995). Os resultados de PMG se mostraram acima de 34 g, destacando-se o genótipo Temprana que apresentou um PMG de 38,285g, o que segundo Bland (1971) é um valor considerado alto.

Tabela 1. Peso de mil grãos (PMG), peso do hectolitro (PH), espessura do grão e rendimento industrial (RI) dos genótipos de aveia UPF A 20 – Teixeirainha, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria.

Genótipo	PH (kg.hL ⁻¹)	PMG (g)	Espessura (%)	RI (%)
UPF A 20	44,15	38,10	67,79	73,37
Pampa	44,8	34,615	60,2	71,69
UPF A 22	51,8	38,285	74,08	73,79
Gaudéria	49,7	35,25	68,48	72,58

A espessura do grão é a porcentagem de casca (FLOSS, 1998). A classificação dos grãos de aveia é em peneira oblonga de malha com orifícios de 2 mm de espessura, sendo aqueles de espessura inferior a 2 mm eliminados. Os resultados obtiveram variação entre os quatro genótipos, a Temprana apresentou um valor maior comparado às outras amostras, em torno de 75% dos grãos deste genótipo apresentaram-se maiores que 2 mm.

O rendimento industrial que corresponde a quantidade de produto obtida por meio do índice de descasque e da porcentagem de grãos maiores que 2 mm (FLOSS et al., 2002). O resultado dos quatro genótipos de aveia mostraram-se similares, mantidos na faixa de 71% a 74%, sendo que a aveia Temprana apresentou percentual ligeiramente maior em relação aos demais.

Na Tabela 2, estão representados a composição química dos diferentes genótipos utilizados neste estudo. O NIRS consiste na absorção da luz infravermelha proximal por compostos orgânicos, assim, ao desenvolver uma calibração, relaciona-se as informações

espectrais com as informações de referência, definindo o tratamento matemático dos dados, incluindo o método de regressão a empregar.

Tabela 2. Composição química dos genótipos de aveia UPF A 20 – Teixeirainha, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria.

Constituinte (% b.s.) ¹	UPF A 20	Pampa	UPF A 22	Gaudéria
Proteínas	17,385 ^{ab}	18,925 ^a	16,505 ^b	18,710 ^a
Lipídios	7,455 ^a	6,340 ^a	7,195 ^a	6,770 ^a
Fibra total	9,12 ^a	9,04 ^a	8,89 ^a	9,76 ^a
Fibra solúvel	3,460 ^a	3,600 ^a	3,500 ^a	3,895 ^a
Fibra insolúvel	5,660 ^a	5,440 ^a	5,390 ^a	5,865 ^a
Cinzas	2,200 ^a	2,285 ^a	2,220 ^a	2,190 ^a
β -glicanas	5,175 ^a	5,070 ^a	5,275 ^a	5,775 ^a
Umidade	7,655 ^a	8,060 ^a	8,310 ^a	7,660 ^a
Carboidratos	56,185 ^a	55,350 ^a	56,880 ^a	54,910 ^a

¹ Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

Os resultados mostraram que não houve variação significativa na composição química dos genótipos de aveia, exceto para proteínas, em que os genótipos Temprana e Teixeirainha foram significativamente inferiores, os dados obtiveram uma correlação de 0,888 e coeficiente de variação de 2,779. Já o teor de lipídios não obteve variação em relação aos genótipos com correlação de 0,697 e variação de 5,69, que segundo a literatura varia de 5% a 9%.

Conforme Pedó e Sgarbieri (1997) a média da composição química de fibra alimentar é de 11,12%, comparando-se aos resultados do estudo, esse valor se mostrou inferior, estando em torno de 9%, com correlação encontrada foi de 0,798 e o coeficiente de variação de 2,564. Segundo Becker (1991) o teor de carboidratos variam entre 60,4% e 71,3%, sendo o amido um dos principais constituintes. Os resultados obtidos se mostraram inferiores a essa faixa, ficando entre 54,9% e 56,9%, tendo uma correlação de 0,800 e um coeficiente de variação de 0,959. O teor de β -glicanas encontrada ficou na faixa de 5% a 6%, obtendo uma correlação relativamente baixa 0,405 e um coeficiente de variação relativamente alto 8,694.

Na Figura 1 está representado o método ABTS, no qual houve diferença na atividade entre os genótipos, com coeficiente de variação de 0,353. Na Figura 2 está representado o método DPPH, sendo o genótipo Teixeira superior em relação aos demais, com menores valores para Temprana. O método FRAP (Figura 3) apresentou maior capacidade antioxidante, sendo verificado no genótipo Teixeira 2037,74 $\mu\text{M.g}^{-1}$ em solvente de acetona 70% (v/v), estando superior ao Temprana e Pampa, que não diferiram estatisticamente. O genótipo Gaudéria diferiu dos demais genótipos de aveia apresentando 1522,54 $\mu\text{M.g}^{-1}$.

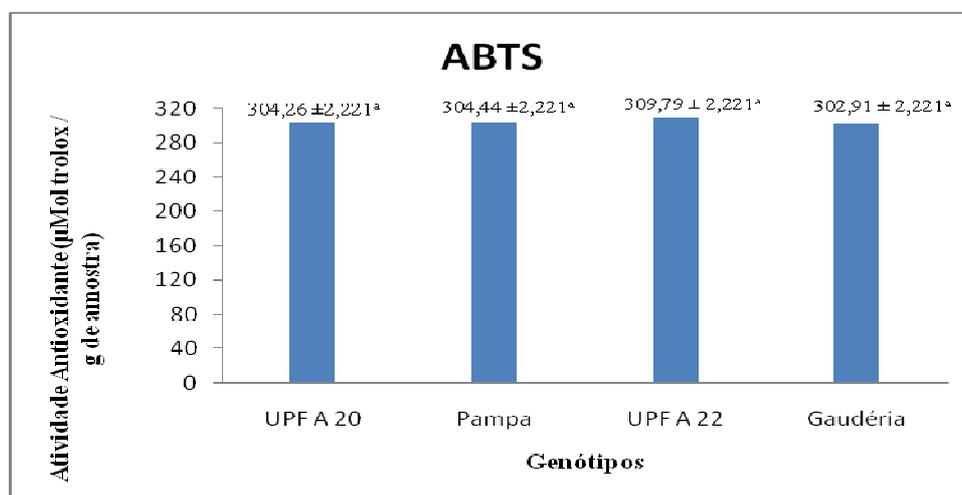


Figura 1. Atividade antioxidante dos genótipos UPF A 20 – Teixeira, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria determinado pelo método ABTS.

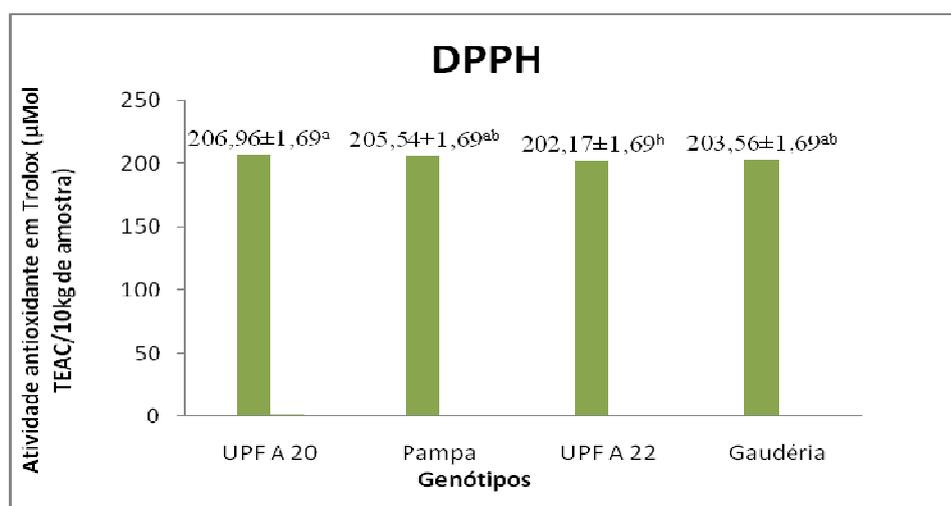


Figura 2. Atividade antioxidante dos genótipos UPF A 20 – Teixeira, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria, determinado pelo método DPPH.

Na Figura 4 está representada a atividade antioxidante total pelo método Folin-Ciocalteu, em que o genótipo Temprana foi superior aos demais. Os genótipos Gaudéria e Pampa não diferiram estatisticamente, enquanto o genótipo Teixeira obteve menor teor de fenólicos totais.

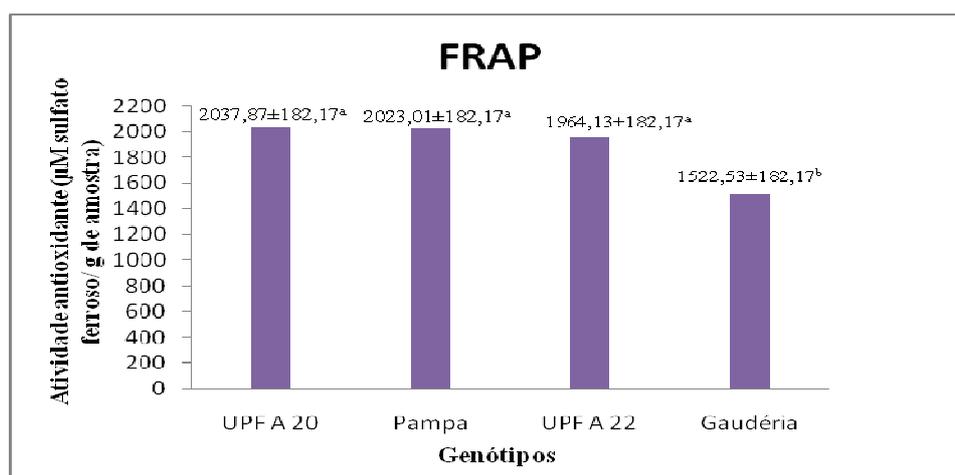


Figura 3. Atividade antioxidante dos genótipos UPF A 20 – Teixeira, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria determinado pelo método FRAP.

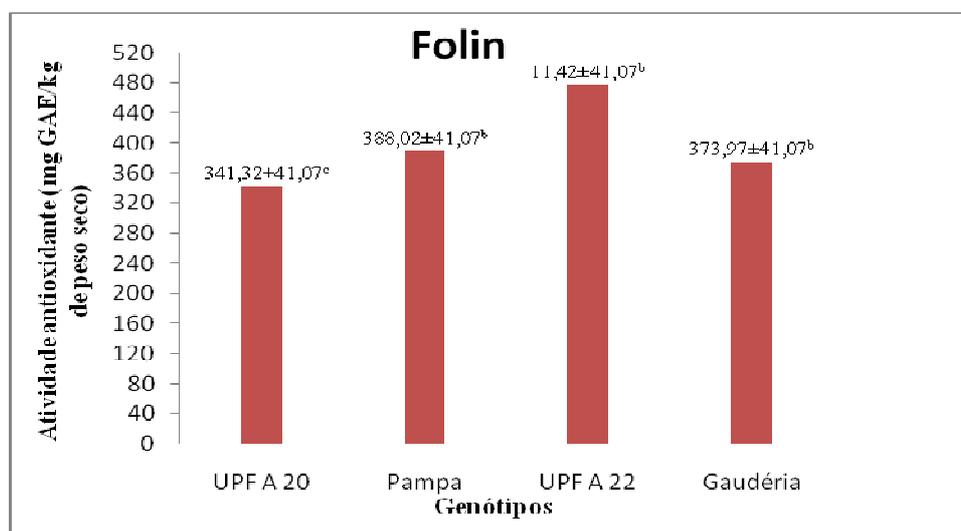


Figura 4. Atividade antioxidante dos genótipos UPF A 20 – Teixeira, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria determinado pelo método Folin-Ciocalteu.

Na Tabela 3 estão apresentados os valores médios da atividade antioxidante dos genótipos, o genótipo Teixeira apresentou maior capacidade antioxidante em relação aos outros genótipos para o método FRAP em relação ao DPPH e o ABTS, mas menor valor para método Folin-Ciocalteu. O coeficiente de correlação para o método FRAP dentre os

genótipos foi de 0,9505, 0,899 para o Folin Ciocalteau, 0,6203 para o DPPH e 0,3533 para o ABTS. Houve diferença significativa entre as amostras determinadas pelos métodos DPPH, FRAP e o Folin Ciocalteau. No ABTS não foi verificada diferenças significativas.

Tabela 3. Atividade antioxidante dos genótipos de aveia UPF A 20 – Teixeira, Pampa, UPF A 22 - Temprana, e Gaudéria determinada pelos métodos ABTS, DPPH, Folin e FRAP.

Genótipo ¹	ABTS ($\mu\text{Mol/g}$)	DPPH ($\mu\text{Mol/ 100g}$)	Folin (mg/100g peso seco)	FRAP ($\mu\text{M /g}$)
UPF A 20	304,26 ^a	206,93 ^a	341,32 ^a	2037,74 ^a
Pampa	304,44 ^a	205,54 ^{ab}	388,02 ^b	2023,02 ^a
UPF A 22	309,79 ^a	202,17 ^b	477,29 ^b	1964,14 ^a
Gaudéria	302,91 ^a	203,56 ^{ab}	373,97 ^b	1522,54 ^b

¹ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

3 CONCLUSÃO

O genótipo Temprana apresentou melhores resultados nas avaliações de características físicas dos grãos. A composição química não variou significativamente entre os genótipos estudados, exceto para proteínas, sendo os genótipos Temprana e Teixeira significativamente inferiores. O genótipo Teixeira apresentou maior capacidade antioxidante através do método FRAP, que foi superior em relação aos métodos ABTS e DPPH. O método Folin Ciocalteau apresentou eficácia na determinação de atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS

BECKER, R.; HANNERS, G. Carbohydrate composition of cereal grains. In: LORENZ, K.J., KULP, K. Handbook of Cereal Science and Technology. New York: Editora Marcel Dekker, p.469-496, 1991.

BLAND, B. F. Oats. In: Crop production: cereals and legums. New York: Academic Press, p.121-176, 1971.

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

COLLINS, F.W. Oat phenolics: avenanthramides, novel substituted Ncinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 37, n. 1, p. 60-66, 1989.

FLOSS, E. L. Efeito do genótipo, ambiente, anos e controle de moléstias na espessura de grãos de aveia. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA, Londrina, p. 53-54, 1998.

FLOSS, E. L.; HAUBERT, S. A.; ZANATTA, F. S. Rendimento corrigido pela qualidade industrial do grão de aveia. Avenacor. In: REUNIÃO DA COMISSÃO BRASILEIRA DE AVEIA. Resultados Experimentais. Passo Fundo: UPF, p. 553-558, 2002.

GANZMANN, W.; VORWERCK, K. Oat milling, processing and storage. In: WELCH, R. W. (ed.). The oat crop. London: Chapman e Hall, p. 369-408, 1995.

JIMÉNEZ, J. P. Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes. Efecto de Fibra Antioxidante de Uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. Dissertação de Doutorado (Faculdade de Ciências/ Departamento de Física e Química / Programa de Doutorado em Ciência e Tecnologia em Alimentos/ Universidade de Madrid). Madrid, 2008.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

PEDÓ, I.; SGARBIERI, V. C. Caracterização química de cultivares de aveia (avena sativa L). Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 17, n. 2, p. 78-83, 1997.

PETERSON, D. M. Oats Antioxidants. Journal of Cereal Science, v. 33, n. 2, p. 115-129, 2001.

PIKE, P.R., AAL, El-S.M.A., McELROY, A.R. Antioxidant activity of malt extracts in accelerated corn oil oxidation. Journal American Oil Chemical Society. v. 84, n. 1, p.663-667, 2007.