

## Área: Ciência de Alimentos

# COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES CULTIVARES DE AVEIA

Stéfani Werlang\*, Joseane Bressiani, Tatiana Oro, Vera Klajn, Luiz Carlos Gutkoski

*Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo-RS*

\*E-mail: [teh\\_werla@hotmail.com.br](mailto:teh_werla@hotmail.com.br)

**RESUMO** – As aveias estão ganhando crescente interesse científico e público por seus supostos benefícios para a saúde associados a antioxidantes. Estudos focados em determinados componentes de aveia, tais como beta-glucanas a maioria já relatou, porém estudos com relação à atividade antioxidante ainda estão sendo debatidos. Com isso, o objetivo foi avaliar a atividade antioxidante e quantificar compostos fenólicos de quatro diferentes cultivares de aveia. Os extratos das aveias foram preparados com metanol PA, posterior seguiu-se com a quantificação de fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu e determinação de capacidade antioxidante pelos métodos de radical ABTS e DPPH. O conteúdo de fenólicos totais variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) de 2,85 a 14,82 mg GAE/g de amostra, não apresentando uma correlação linear quando comparado as atividades antioxidantes ( $R^2 = 0,3831$  para ABTS e  $R^2 = 0,1899$  para DPPH). O método de ABTS apresentou valores médios de 35,90 a 321,21  $\mu\text{M L-Asc/g}$  de amostra e inibição por DPPH de 8,43 a 24,09 %, e tiveram uma ótima correlação linear ( $R^2 = 0,9264$ ) entre si, confirmando uma a outra. A não correlação entre compostos fenólicos e atividades antioxidantes sugere que outros fitoquímicos podem contribuir significativamente para as capacidades eliminadoras de radicais livres de aveia. No entanto, uma visão mais abrangente das características antioxidantes na aveia é esperado em próximos estudos.

**Palavras-chave:** Avena Sativa L, oxidação, capacidade antioxidante, ácidos fenólicos.

## 1 INTRODUÇÃO

A aveia (*Avena sativa* L.) é conhecida como um alimento saudável e nutritivo bastante utilizada em alimentos processados, pois possui concentração equilibrada de proteínas, fibras dietéticas solúveis, ácidos graxos insaturados, várias vitaminas e minerais (PETKOV et al., 2001) e boa fonte de antioxidantes, esteróis, compostos fenólicos e ácido fítico (CHEN et al., 2015).

Os principais compostos fenólicos encontrados na aveia são as avenantramidas (COLLINS, 1989), um grupo de amidas únicas na aveia, que possuem a capacidade de sequestrar radicais livres e propriedades promocionais da saúde, por evitar danos ao DNA, ao RNA, às proteínas e organelas celulares (CHEN et al., 2015). A atividade antioxidante é responsável por proteger alimentos ricos em ácidos graxos poli-insaturados da auto-oxidação e da rancidez, mantendo sua coloração, sabor e textura (MADHAVI et al., 1996). Devido a essas propriedades, o objetivo deste estudo foi avaliar o conteúdo fenólico, e a capacidade antioxidante de quatro diferentes cultivares de aveia.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Preparação das amostras**

As amostras de quatro cultivares de aveia, UPFA Gaudéria, UPFA Ouro, IAC 7 e Tarimba foram descascados e separadas manualmente. Os grãos descascados foram moídos em um moinho centrífugo (modelo MA 020, Marconi, Brasil) até obtenção de granulometria inferior a 45 mesh. As frações de farinha de aveia foram acondicionadas hermeticamente em frascos de vidro sob temperatura de  $-18^{\circ}\text{C}$ , até momento das análises.

### **2.2 Preparo dos extratos**

Triplicatas das amostras (2,5 g) foram submetidas a duas centrifugações intermitentes com 10 mL de metanol em cada uma delas. As extrações foram realizadas à temperatura ambiente, sob rotação vertical (4500 rpm, 10 min). Os sobrenadantes foram reunidos e secos em estufa de circulação de ar a  $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 h. Os resíduos foram ressuspensos em metanol (20 mL) e armazenados a  $-18^{\circ}\text{C}$ .

### **2.3 Compostos fenólicos solúveis totais**

O total de compostos fenólicos foi medido pelo método de Folin-Ciocalteu seguindo protocolo de Xu, et al., (2009). Uma alíquota (0,5 ml) de cada extrato foi misturada a 2,5 ml de água deionizada e 0,25 mL de reagente Folin-Ciocalteu 2 M com homogeneização de 10 min. Após passados 30 min de repouso, 1,5 ml de solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7,5% foi adicionada a cada amostra que foi então deixada para reação ao abrigo da luz. Após 30 min, a absorbância foi medida a 750 nm. Ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico.

### **2.4 Atividade antioxidante pelo método ABTS<sup>•+</sup>**

A capacidade antioxidante dos extratos de aveia frente ao radical livre ABTS<sup>•+</sup> foi realizada de acordo com Re et al., (1999), adaptado por Junior (2012), com adaptações. A solução de cátion ABTS<sup>•+</sup> foi produzida a partir de uma solução estoque de ABTS 7mM e persulfato de potássio 2,45 mM. Após, foi armazenada em frasco âmbar a temperatura ambiente por no mínimo 16 horas, antes do uso. Para as análises, esta solução foi diluída em álcool etílico na proporção de 1:2 para obter-se absorbância de  $0,7 \pm 0,05$  nm. Em tubos de ensaio foram adicionados 20 $\mu\text{L}$  de extrato para 980  $\mu\text{L}$  da solução ABTS<sup>•+</sup> diluída e as leituras de absorbância a 734 nm foram realizadas após 6 minutos de reação. Para realização da curva padrão, seguiu-se protocolo de Junior (2012), dissolvendo 17,6 mg de Ácido Ascórbico em 50 mL de etanol 96 ° GL. Desta solução, realizaram-se 6 diluições seriadas de 0, 100, 500, 1000, 1500 e 2000  $\mu\text{M}$  / mL), as quais foram medidas, em triplicata, por espectrofotômetro a 734 nm Os resultados obtidos foram expressos em  $\mu\text{M}$  equivalente de ácido ascórbico (L - Asc) por g de amostra.

## 2.6 Atividade antioxidante pelo método DPPH•

A segunda avaliação de capacidade antioxidante foi efetuada utilizando-se o método de sequestro de radicais livres DPPH• (2,2 difenil-1-picrilhidrazil, de acordo com Brand-Williams et al., (1995), adaptado por Junior (2012). Para o teste, 100 µL de cada extrato foram adicionados a 2,9 mL de uma solução 16:4:1 de DPPH 100 µM/metanol/água (p/v/v). O decréscimo da absorbância foi determinado em espectrofotômetro em comprimento de onda de 515 nm nos tempos 0 (A0), e 15 (Af) minutos a temperatura ambiente, utilizando como branco metanol P.A. Os resultados foram expressos por porcentagem de sequestro de radicais livres e os mesmos calculados através da equação:

$$\% \text{ inibição} = \left( 1 - \frac{A_f}{A_0} \right) * 100$$

## 2.7 Delineamento experimental e análise estatística

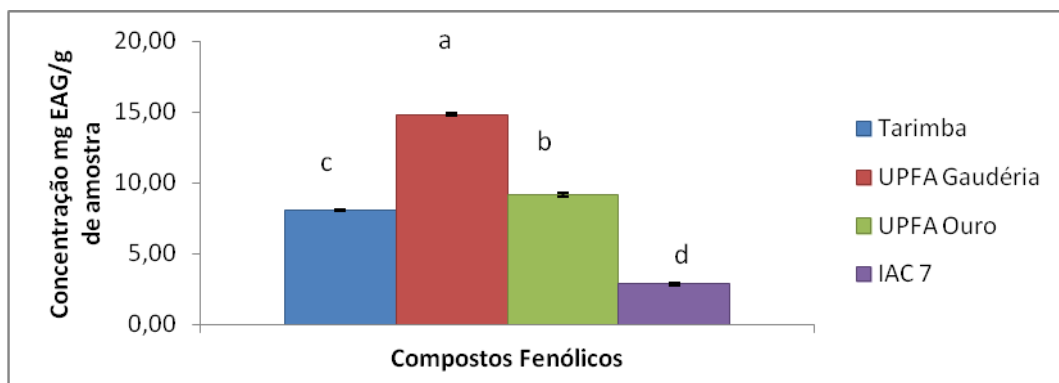
As análises foram conduzidas em triplicata e os dados expressos como média ± desvio padrão. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5% de significância seguida pelo teste de Tukey, para comparação das médias. O programa estatístico utilizado foi o SASM – Agri versão 8.1.

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Compostos fenólicos solúveis totais

O conteúdo de compostos fenólicos solúveis totais das cultivares de aveia analisadas estão ilustrados na Figura 1.

**Figura 1.** Conteúdo de compostos fenólicos solúveis totais em diferentes cultivares de aveia



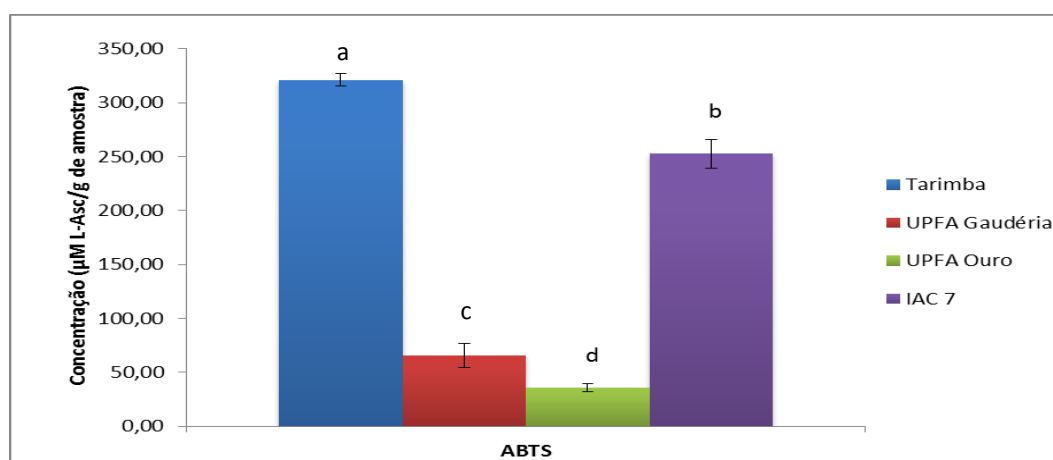
O conteúdo fenólicos solúveis totais das cultivares de aveia variaram significativamente ( $p < 0,05$ ) entre 2,85 a 14,82 mg GAE/g de amostra, para as cultivares IAC 7 e UPFA Gaudéria, respectivamente. A diferença significativa no conteúdo de fenólicos apresentada, pode estar relacionada aos fatores extrínsecos, como condições ambientais, cultivo, manejo e armazenamento e intrínsecos gênero, espécie e cultivar (TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001). Gujral et al. (2011) relataram conteúdos de fenólicos totais em amostras de aveia, na faixa de

1,754 a 3,579 mg de FAE/g enquanto que Hodzic et al. (2009) na faixa de 13,85 a 17,1 mg /L de extrato, mostrando assim, similaridade com o conteúdo encontrado neste estudo.

### 3.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS<sup>•+</sup>

A atividade antioxidante determinada através do método de sequestro de radical livre ABTS<sup>•+</sup> das cultivares de aveia analisadas estão ilustrados na Figura 2.

**Figura 2.** Atividade antioxidante através do sequestro de radical livres do ABTS<sup>•+</sup> em diferentes cultivares de aveia.



A quantificação da capacidade antioxidante total apresentou valores médios entre 35,90 a 321,21 µM L-Asc/g de amostra. As grandes variações podem estar relacionadas ao teor de umidade inicial das amostras, maiores valores seriam amostras com baixo teor de umidade e menores valores com alto teor de umidade, estando de acordo com Serpen et al. (2008) e com Degirmencioglu et al., (2015).

Segundo Chu et al., (2013) é imprescindível observar que diferente da maioria das frutas e legumes, a atividade antioxidante da aveia não apresenta uma correlação linear com compostos fenólicos, dando indício de que a capacidade antioxidante da aveia não está totalmente relacionada ao teor de fenólicos totais. Isto é confirmado no presente estudo, obtendo um coeficiente de correlação de Pearson negativa ( $R^2 = 0,3831$ ) confirmado por Thaipong et al., (2006) que relata que o coeficiente é positivo quando se encontra na faixa de  $0,67 < R^2 < 99$ .

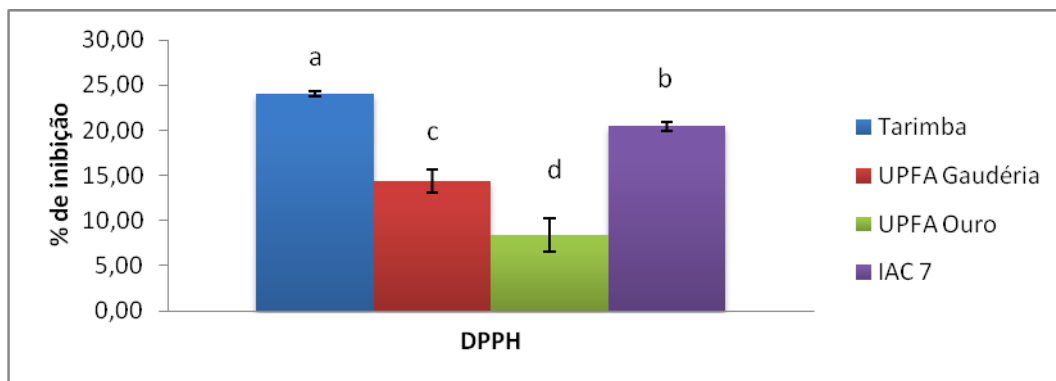
### 3.3 Atividade antioxidante pelo método DPPH•

A atividade antioxidante determinada através do método de inibição por DPPH das cultivares de aveia analisadas estão ilustrados na Figura 3.

A atividade antioxidante de 8,43 a 24,09 % de inibição por DPPH, estão dentro do esperado, conforme relato da literatura. Gujral et al. (2011) teve uma variação de 6,3 a 10,2% de inibição por DPPH entre as

cultivares, enquanto que Shandhu et al., (2015) estudou sete cultivares de aveia e obteve 11,9 a 15,3% de inibição para o método de DPPH.

**Figura 3.** Atividade antioxidante determinada pelo método DPPH, em diferentes cultivares de aveia.



A atividade antioxidante por inibição de DPPH confirma a proporção dos resultados encontrados por ABTS<sup>++</sup>, obtendo uma correlação positiva e significativa ( $R^2 = 0,9264$ ,  $p < 0,05$ ). Analisando a atividade antioxidante, observa-se que não há relação somente com o teor de fenólicos ( $R^2 = 0,1899$ ), pois a técnica de fenólicos totais é usada para quantificação de compostos de estruturas fenólicas, e nem todos os antioxidantes presentes na aveia possuem estrutura fenólica.

#### 4 CONCLUSÃO

As atividades antioxidantes das quatro cultivares de aveia não tem relação somente com o teor de fenólicos, pois a técnica de fenólicos totais é usada para quantificação de compostos de estruturas fenólicas, e nem todos os antioxidantes presentes na aveia possuem estrutura fenólica. Porém os diferentes métodos empregados para determinação das atividades tiveram uma ótima correlação, uma confirmando o resultado da outra. No entanto, uma vez que a literatura sobre grãos de aveia integrais é limitado, uma visão mais abrangente das características antioxidantes na aveia é esperado, conforme desdobramento e necessidades. Os resultados relatados aqui servem para dar uma visão e orientação na concepção de estudos futuros in vivo, sobre os benefícios de saúde associados com a ingestão regular de aveia.

#### 5 AGRADECIMENTOS

Á FAPERGS pelo apoio financeiro e pela concessão de bolsa.

#### 6 REFERÊNCIAS

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel – Wissenschaft und -Technologie*, v. 22, p. 25-30, 1995.

- CHEN, D.; SHI, J.; HU, X.; DU, S. Alpha-amylase treatment increases extractable phenolics and antioxidant capacity of oat (*Avena nuda* L.) flour. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 60-66, September 2015.
- CHU, Y. F.; WISE, M. L.; GULVADY, A. A.; CHANG, T.; KENDRA D. F.; KLINKEN, B. J. W.; SHI Y.; O'SHEA, M. *In vitro* antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of seven common. **Food Chemistry**, v. 139, p. 426-431, 2013.
- COLLINS, F. W. Oat phenolics: Avenanthramides, novel substituted N-cinnamoylanthranilate alkaloids from oat groats and hulls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, p 60-66, 1989.
- DEGIRMENCIOGLU, N.; GÜRBÜZ, O.; HERKEN, E. N.; YILDIZ, A. Y. The impact of drying techniques on phenolic compound, total pheolic content and antioxidant capacity of oat flour tarhana. **Food Chemistry**, In Press 20 August 2015.
- GUJRAL, H. S.; SHARMA, P.; SINGH, R. Efeito da areia assar em  $\beta$ -glucana extractabilidade, físico-químicas e propriedades antioxidantes da aveia. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, p. 2223-2230, 2011.
- HODZIC, Z.; PASALIC, H.; MEMISEVIC, A.; SRABOVIC, M.; SALETOVIC, M.; POLJAKOVIC, M. The Influence of Total Phenols Content on Antioxidant Capacity in the Whole Grain Extracts. **European Journal of Scientific Research**, v. 28, p. 471-477, 2009.
- JUNIOR, P. S. **Ação antimicrobiana de extratos alcóolicos do cogumelo *Agaricus subrufescens* sobre cepa bacteriana padrão de *Shigella flexneri***. 2012. 50 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Biomedicina), Universidade Católica de Brasília, Brasília.
- MADHAVI, D. L.; DESPHANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. In: **Food Antioxidants**. Dekker: New York, 1996.
- PETKOV, K.; BIEL, W.; KOWIESKA, A.; JASKOWSKA, I. The composition and nutritive value of naked oat grain (*Avena sativavar. nuda*). **Journal Animal Feed Science**.v. 10 p. 303-307, 2001
- RE, R.; PELLEGRINI, N. PROTEGENTE, A; PANNALA, A.; YANG, M. RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying na improved ABTS radical cátion decolorization assay. **FreeRadical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9/10, p.1231-1237, 1999.
- SANDHU, K. S.; GODARA, P.; KAUR, M.; PUNIA, S. Effect of toasting on physical, functional and antioxidant properties of flour from oat (*Avena sativa* L.) cultivars. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, In Press 6 July 2015.
- SERPEN, A.; GÖKMEN, V.; PELLEGRINI, N.; FOGLIANO, V. Direct measurement of the total antioxidante capacity of cereal products. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 816-820, 2008.
- THAIPONG, K. et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 669-675, 2006.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ESPÍN, J.E. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 81, p. 853-876, 2001.
- XU, J.G.; TIAN, C. R.; HU, Q. P.; LUO, J. Y.; WANG, X. D.; TIAN, X. D. Mudanças dinâmicas em compostos fenólicos e atividade antioxidante em aveia (*Avena nuda*L.) durante a maceração e germinação. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 10.392-10.398, 2009.