



ENSAIOS PARA DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E SUA IMPORTÂNCIA PARA SAÚDE

Amanda Lima Cunha

Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL)
amandalima2012.quimica@gmail.com

Karlliane Silva Moura

Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL)
Karlliane.quimica@gmail.com

Kelly Barbosa da Silva

Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL)
Kellybs6@hotmail.com

Aldenir Feitosa dos Santos

Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL)
aldenirfeitosa@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante, radicais, estresse oxidativo.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos o organismo humano tem encontrado um mal que vem lhe afetando bastante, pois tem sofrido com a ação constante de radicais. Essas espécies reagem com substratos biológicos podendo ocasionar danos às biomoléculas e conseqüentemente afetar a saúde humana, dentre os danos mais graves tem aqueles que afetam o DNA e o RNA (BARREIROS *et al.*, 2006).

A transferência de elétrons tem um papel fundamental para a sobrevivência das células. Entretanto a ação adversa dessa dependência é a formação de radicais livres e outras espécies reativas de oxigênio. Radicais livres são átomos ou moléculas que possuem elétrons não pareados, ou seja, falta elétron em sua estrutura. Deste modo essas moléculas atacam outra molécula para adquirir uma estabilização, ocasionando uma reação em cadeia, e assim ocorrendo o chamado estresse oxidativo (ALVES *et al.*, 2010).

Para combater radicais os organismos vivos produzem substâncias capazes de retardarem a ação dessas moléculas, porém os antioxidantes produzidos pelos organismos não são suficientes para amenizar a ação oxidativa, mas há fontes externas de ação antioxidante como diversos tipos de frutas e espécies vegetais (ALVES *et al.*, 2010).

Dessa forma, nos últimos anos, grandes centros de pesquisas têm voltados seus olhos para a validação da atividade antioxidante de diferentes fontes vegetais. Pois os diversos estudos sobre radicais livres e substâncias antioxidantes que combatem tais radicais, tem ovacionado o aprimoramento e desenvolvimento de métodos para a determinação desta atividade de forma crescente (ALVES *et al.*, 2010). Sendo assim, tais métodos evidenciam a reprodução da ação antioxidante de uma espécie vegetal, dando validação à utilização da mesma para a produção de um fármaco ou cosmético, uma vez que, substâncias com ação antioxidante são capazes de prevenir doenças crônico-degenerativas e também o envelhecimento da pele (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Diante do que foi exposta, a presente revisão de literatura teve o objetivo de analisar os ensaios para determinação de atividade antioxidante, proporcionando mais conhecimento sobre a utilização dos testes realizados para validação de tal atividade em uma espécie vegetal que promove benefícios a saúde na produção de fármacos naturais.

PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

O trabalho foi realizado por meio de uma pesquisa qualitativa que aconteceu em Outubro de 2013, a qual originou a presente revisão de literatura desenvolvida através do levantamento de artigos relacionados à relevância dos ensaios antioxidantes na promoção à saúde. Para tanto, os artigos foram adquiridos em bancos de dados do Google Acadêmico e SCIELO, no qual se utilizou nos bancos de dados os seguintes termos chaves para obtenção dos artigos: atividade antioxidante, radicais, métodos de análise antioxidante e lipoperoxidação. Desta forma, foi adquirido um total de 11 artigos que compreendiam revistas como: *Revista Eletrônica de Farmácia*, *Revista Química Nova* e *Revista Sementes* dentre outras. Sendo assim, os artigos passaram por uma leitura inicial com análise minuciosa que levantou informações precisas sobre questões relacionadas a testes antioxidantes e a relevância dos antioxidantes para o organismo o que proporcionou fundamentação e fortes subsídios para o desenvolvimento do tema abordado na presente revisão, que evidencia a importância dos testes antioxidantes na saúde.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antioxidantes na promoção a saúde

Há alguns anos estudiosos tem dado ênfase à validação dos efeitos antioxidantes de inúmeras espécies vegetais, devido à relação destes com a prevenção de doenças crônicas. Pesquisas mostram os benefícios dos antioxidantes nas doenças cardiovasculares, em

numerosos tipos de câncer e em processos associados ao envelhecimento celular, cataratas, aterosclerose e inflamação, tais patologias são desenvolvidas pela ação dos radicais no organismo, os quais podem desenvolver reações em cadeias (estresse oxidativo) levando a morte celular, sendo assim os antioxidantes têm a função de combater os radicais que afetam negativamente o organismo (GIADA & MANCINI FILHO, 2006; POTRICKOS *et al.*, 2013).

Desta forma, os antioxidantes naturais são de grande interesse para diversas áreas, principalmente alimentícios, cosméticos e farmacologia (proteção do organismo contra o dano oxidativo). Os produtos naturais tendo grande aplicação terapêutica e biológica fundamental da o bom funcionamento e/ou prevenção do organismo contra doenças (VELLOSA *et al.*, 2007). Assim a farmacologia tem destinado seus estudos a testes que auxiliam a validação de inúmeras ações biológica e terapêutica para dar suporte à produção de fármacos. (BARRERO & BOLZANI, 2009).

Avaliação antioxidante através da captura do radical livre DPPH

O DPPH é um teste químico, aplicado para avaliar a atividade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres. Este método é comumente usado, por ser considerado prático. Uma vez que, o DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, sendo assim o desenvolvimento deste método incide na determinação da ação sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), que possui inicialmente uma coloração púrpura, e que absorve em uma faixa do comprimento de onda entre 515nm – 520nm (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Desta forma, por meio de um composto e/ou substância com ação antioxidante ou algum tipo de espécie radicalar, o radical DPPH é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), ou seja, o átomo de nitrogênio desemparelhado captura um átomo de hidrogênio de uma substância antioxidante. Assim, o composto 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) formado passa a ter uma coloração amarela, isso decorrente do desaparecimento da banda de absorção, e seu monitoramento ocorre pelo decréscimo da absorbância (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

Através das absorbâncias adquiridas é possível determinar o percentual de atividade antioxidante (AAO%), que consiste basicamente na quantidade de DPPH consumido por uma determinada substância com ação antioxidante na captura do radical e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional. Desta forma, também pode ser avaliada concentração eficiente (CE₅₀), também chamada de concentração inibitória (CI₅₀), onde quanto maior for o

consumo de DPPH por uma amostra, menor será o resultado do CE₅₀ e maior o seu potencial antioxidante (RODRIGUES *et al.*, 2013).

Determinação da ação antioxidante pelo teste do FTC (Tiocianato férrico)

Outro teste muito utilizado para validação da ação antioxidante de uma substância é o FTC (Tiocianato férrico), onde o oxigênio molecular é capaz de produzir reações, gerando radicais altamente reativos e induzir a lipoperoxidação, a qual se constitui por uma reação em cadeia iniciada por uma espécie reativa do metabolismo do oxigênio. Durante a lipoperoxidação há a formação do peróxido de hidrogênio, com isso o FTC analisa a quantidade de peróxido de hidrogênio presente no meio. Pois, o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) não é um radical, mas uma espécie reativa do metabolismo do oxigênio, a qual na presença de ferro é altamente tóxica (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Neste método o peróxido de hidrogênio oxida o ferro ferroso em meio acidificado. Os íons férricos resultantes reagem com o tiocianato de amônia para formar o tiocianato férrico, um complexo de cor vermelho-alaranjado. A inibição da lipoperoxidação ocorre por meio da espécie antioxidante, que pode ser um óleo, extrato vegetal ou antioxidante sintético. Desta forma, quanto menor for a intensidade da coloração vermelha, maior será a absorvância analisada (RODRIGUES *et al.*, 2011).

CONCLUSÃO

O desenvolvimento de estudos em análise da atividade antioxidante tem sido de grande importância, principalmente na área dos fármacos. A descoberta de novos antioxidantes, no combate aos radicais livres, tem sido de grande importância na prevenção de algumas doenças, geradas pelo estresse oxidativo. Portanto, é de grande relevância ter conhecimento dos métodos de análise antioxidante, além de estar ciente do desenvolvimento e/ou aprimoramento de novas técnicas de monitoramento da atividade antioxidante, para que assim alguns problemas biológicos venham ser erradicados. Ambos os testes antioxidantes auxiliam na validação da ação antioxidante de inúmeras espécies vegetais, alimentos e óleos tendo uma importância significativa para a formulação de fármacos.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, J. M. D.; SANTOS, R. J.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* Campinas, vol.26, n°2, p.456-452, abr.-jun., 2006.

ALVES, C.Q; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação da atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. *Química nova*, vol.33, nº 10, 2010.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Química Nova*, vol.29, nº1, Jan-Fev., 2006.

BARREIRO, E.J; BOLZANI, V.S. Biodiversidade: Fonte potencial para a descoberta de fármacos. *Química Nova*, vol. 32, nº3, p. 679-688, Abr., 2009.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. UEPG. *Cien. Biol. Saúde*, Ponta Grossa, 12 (4): 7-15, dez. 2006.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 3, 689-702, 2009.

POTRICKOS, R.; KLETCKE, V.; LOCATELLI, C.; ZANCANARO, V.; SANTOS, P. Determinação de fenóis totais em infusões aquosas de chá verde (*Camelia sinensis*) e de erva mate (*Ilex paraguariensis*) preparada na forma de chimarrão. *Revista interdisciplinar de estudos em saúde*. ISSN 2238-832X, Caçador, v.2, n.1 (Suplemento), p. 27-38, 2013.

RODRIGUES, A. C. F.; DA COSTA, J. F.; SILVA, F. R. G.; AZEVEDO, R. R.; DO NASCIMENTO, E. P.; SILVA, A. L.; DE SOUZA, I. O.; DOS SANTOS, A. F. Atividade antibacteriana, antioxidante e toxicidade do extrato etanólico de *Senna Obtusifolia*. *Revista Sementes*, vol.6, nº 6, p. 250-257, 2011.

RODRIGUES, A. C. F.; DO NASCIMENTO, E. P.; SILVA, F. R. G.; DE SOUZA, L. I. O.; AZEVEDO, R. R. S.; ROCHAS, T. J. M.; DOS SANTOS, A. F. Atividade antibacteriana, antioxidante e toxicidade do extrato etanólico de *Senna Obtusifolia*. *Revista Eletrônica de Farmácia*, vol. X, nº 3, p. 43-53, 2013.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos, *Cient.Ciênc. Biol. Saúde*, vol.14, nº 4,p.263-269, Maio,2012.

VELLOSA, J. C. R.; BARBOSA, V. F.; OLIVEIRA, O. M. M. F. Pesquisa de produtos naturais: Plantas e radicais livres. *Revista Eletrônica de Farmácia*, vol. IV, nº 2, p. 119-130, Out., 2007.