



## Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de açafrão-da-terra obtidos por ultrassom

### Evaluation of antioxidant potential method of turmeric extracts obtained by ultrasound

Gabriela Barbosa da Silva<sup>1</sup>, Lilian Tatiani Dusman Tonin<sup>2</sup>

#### RESUMO

Este trabalho otimizou a extração dos compostos antioxidantes dos rizomas do açafrão-da-terra (*Curcuma longa*). Os extratos foram obtidos por extração assistida por ultrassom, após secagem dos rizomas a 40 °C, utilizando-se um planejamento experimental 2<sup>3</sup>, utilizando como variáveis independentes tempo, temperatura e porcentagem de etanol, e variável dependente a porcentagem de atividade antioxidante pelo método ABTS. As superfícies de resposta demonstraram a influência das três variáveis no processo de extração, e as regiões com a melhor resposta para a variável dependente, indicando temperaturas mais altas, entre 60-65 °C, tempos mais longos, entre 55-60 minutos e %EtOH entre 70-90%. A condição experimental de 15 minutos, 55 °C e EtOH 75%, apresentou a melhor resposta para a variável estudada. O extrato otimizado poderá ser aplicado em testes de atividade antitumoral e encapsulado em nanopartículas poliméricas, visando sua aplicação nas indústrias cosméticas, alimentícias e farmacêuticas.

**PALAVRAS-CHAVE:** antioxidante; açafrão-da-terra; extração; ultrassom.

#### ABSTRACT

This work optimized the extraction of antioxidant phenolic compounds from turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. The extracts were obtained by ultrasound-assisted extraction, after drying the rhizomes at 40 °C, using an experimental design 2<sup>3</sup>, using as independent variables time, temperature and percentage of ethanol, and dependent variable the percentage of antioxidant activity by the ABTS method. The response surfaces demonstrated the influence of the three variables on the extraction process, and the regions with the best response to the dependent variable, indicating higher temperatures, between 60-65 °C, longer times, between 55-60 minutes and %EtOH between 70-90%. The experimental condition of 15 minutes, 55 °C and 75% EtOH, presented the best response for the studied variable. The optimized extract can be applied in tests of antitumor activity and encapsulated in polymeric nanoparticles, aiming at its application in the cosmetic, food and pharmaceutical industries.

**KEYWORDS:** antioxidant; turmeric; extraction; ultrasound.

#### INTRODUÇÃO

A *Curcuma longa* é uma planta originária do sudeste da Ásia e pertencente à família Zingiberaceae, conhecida como cúrcuma, açafrão, açafrão-da-terra ou açafrão-da-Índia (PATIL *et al.*, 2019). Sendo o componente principal o composto fenólico curcumina, que se faz presente em concentração de 2,8 – 8% (GOVINDARAJAN, 1980).

A curcumina tem recebido considerável interesse como potencial agente terapêutico para a prevenção de várias doenças (ZHOU; BEEVERS; HUANG, 2011). Diversos estudos confirmaram que seus extratos têm importantes atividades biológicas, como antioxidante (WOJDYŁO; OSZMIAN´SKI; CZEMERYS, 2007), antiinflamatória (JURENKA, 2009), antitumoral (WILKEN *et al.*, 2011) e antidepressivo (KULKARNI; DHIR; AKULA, 2009).

<sup>1</sup> Bolsista CNPq. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: gabrielbarbosa@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 4334033713220436.

<sup>2</sup> Docente no Curso Licenciatura em Química/COLIQ/Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: liliandusman@utfpr.edu.br. ID Lattes: 5182710800072951.



Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que atrasa ou inibi a oxidação de um substrato oxidável, diminuindo a concentração dos radicais livres no organismo e/ou quelando íons metálicos, prevenindo a peroxidação lipídica. Os radicais livres atacam moléculas biológicas, levando a doenças degenerativas, câncer, inflamação e envelhecimento precoce (LABUZA, 1971).

Encontrar métodos e condições eficientes na extração de produtos naturais são importantes para a obtenção de um produto final com elevados teores de substâncias ativas. Entre os métodos de extração está a extração assistida por ultrassom (EAU), as vantagens apresentadas por este método são o menor tempo de processo, o baixo consumo de solvente, a menor chance de degradação de substâncias termossensíveis, devido as baixas temperaturas do meio e a alta reprodutibilidade dos ensaios (CHEMAT; E-HUMA; MUHAMMED, 2011).

O presente trabalho teve o objetivo de otimizar a extração dos componentes antioxidantes do açafraão-da-terra, utilizando a EAU, avaliando seu potencial antioxidante pelo método de captura do radical livre ABTS.

## METODOLOGIA

### AMOSTRAS

Os rizomas do açafraão-da-terra foram obtidos na feira do produtor em Apucarana-PR. Foram higienizados e submetidos à desidratação em estufa de circulação de ar (marca SOLAB, modelo 102/480) à 40 °C (TONIN et al., 2021), até peso constante. Após a secagem, os produtos desidratados foram triturados em processador doméstico e armazenados em geladeira para a realização das análises.

### PREPARO DOS EXTRATOS

Os extratos foram preparados em duplicata, pesando-se 1,0000 g do rizoma desidratado com 100,0 mL de solvente EtOH:H<sub>2</sub>O nas proporções v/v descritas na Tabela 1. A extração foi realizada em banho de ultrassom (Cristófoli, com frequência operacional de 42 KHZ e capacidade total 2,5 L), conforme o planejamento experimental apresentado na Tabela 1, ao abrigo da luz (C = 20 g L<sup>-1</sup>). Os extratos foram filtrados e armazenados sob refrigeração e ao abrigo da luz.

### PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foi conduzido um estudo de otimização das variáveis independentes, tempo (min), temperatura (°C) e proporção de etanol (%EtOH), a partir de um delineamento composto central rotacional (DCCR) 2<sup>3</sup> com duplicata no ponto central, conforme a Tabela 1. O planejamento consistiu no desenvolvimento de um modelo preditivo elaborado pelo software Statistica<sup>®</sup> 10.

As condições de extração apresentadas na Tabela 1 mostra os níveis codificados - $\alpha$  (-1,68) e + $\alpha$  (+1,68), como pontos extremos aos quais o processo de extração é submetido (pontos axiais), -1 e +1 como os pontos mínimos e máximos, respectivamente, definidos para o processo experimental, e 0 representando o ponto central das condições de extração.

O desenho experimental foi adequado ao seguinte modelo polinomial de segunda ordem apresentado na Equação 1.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 \quad (1)$$



**Tabela 1 – Delineamento composto central rotacional (DCCR) 2<sup>3</sup> para otimização do tempo, temperatura e proporção de etanol/água (%EtOH).**

Variáveis/Níveis	-1,68	-1	0	+1	+1,68
X <sub>1</sub> : Tempo (min)	5	15	30	45	55
X <sub>2</sub> : Temperatura (°C)	28	35	45	55	62
X <sub>3</sub> : %EtOH	68	75	85	95	100

Fonte: Autoria própria (2023).

Onde, X<sub>1</sub> é o tempo de extração, X<sub>2</sub> é a temperatura de extração, X<sub>3</sub> é a concentração de etanol e β<sub>0</sub>, β<sub>(1, 2 e 3)</sub>, β<sub>(11, 22 e 33)</sub> e β<sub>(12, 13, 23)</sub> são os coeficientes de regressão para o intercepto, comportamento linear, comportamento quadrático e para o comportamento de interação entre os termos, respectivamente.

A variável dependente para o experimento foi a resposta para porcentagem de atividade antioxidante (%AA) pelo método ABTS.

#### DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS<sup>+</sup>

A atividade antioxidante pelo método ABTS foi determinada segundo a metodologia adaptada de Rufino et al. (2007). Preparou-se as soluções de ABTS (192 mg em 50 mL de água destilada) e persulfato de potássio (378,4 mg em 10 mL de água destilada). Misturou-se 5,0 mL da solução de ABTS e 88 µL da solução de persulfato de potássio e após 16 h, diluiu-se com aproximadamente 70 mL de etanol, até atingir-se uma absorbância de aproximadamente 0,900 ± 0,050 em 734 nm, referente ao cátion radicalar ABTS<sup>+</sup>. Para a determinação da atividade antioxidante dos extratos, foram adicionados a uma cubeta 30 µL do extrato e 3,0 mL de solução de ABTS<sup>+</sup>. Após 6 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro (Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-VIS) a 734 nm. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle, de acordo com a Equação 2, onde (Aa) representa a absorbância da amostra, (Ab) representa a absorbância do branco da amostra (30 µL de extrato e 3,0 mL de EtOH) e (Ac) representa a absorbância do controle (30 µL de EtOH e 3,0 mL da solução do radical ABTS). As análises foram realizadas em triplicata.

$$\%AA = [Ac (Aa - Ab)]. Ac^{-1} \quad (2)$$

#### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados foram obtidos através da média das repetições ± desvio padrão e foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05), com comparações múltiplas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se software Stat Soft. Inc. (2007).

#### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados de atividade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS para os extratos do açafraão-da-terra estão apresentados na Tabela 2.

O modelo proposto se ajustou ao ensaio de atividade antioxidante com R<sup>2</sup> de 0,8326. Os dados de ANOVA indicam que as variáveis tempo (L e Q), temperatura (L e Q), %EtOH (L e Q) e a interação entre as variáveis tempo\*%EtOH foram significativas no intervalo de confiança de 95% (Tabela 3).

A modelagem dos dados experimentais foi realizada com base no modelo representado na Equação 3:



**Tabela 2 – Resultados de porcentagem de atividade antioxidante para os extratos do açafão-da-terra.**

Tempo (min)	Temperatura (°C)	EtOH (%)	%AA ABTS
5	45	85	22,75 ± 0,26 <sup>c,d</sup>
15	35	95	19,51 ± 0,83 <sup>e,f,g,h</sup>
15	35	75	19,21 ± 0,41 <sup>f,g,h</sup>
15	55	95	<b>24,83 ± 0,12<sup>a,b</sup></b>
<b>15</b>	<b>55</b>	<b>75</b>	<b>24,86 ± 0,44<sup>a,b</sup></b>
30	28	85	17,86 ± 0,24 <sup>h,i</sup>
30	45	100	17,05 ± 0,34 <sup>i</sup>
30	45	68	19,40 ± 0,40 <sup>f,g,h</sup>
30	45	85	20,57 ± 0,38 <sup>e,f,g</sup>
30	45	85	21,45 ± 0,19 <sup>d,e</sup>
<b>30</b>	<b>62</b>	<b>85</b>	24,25 ± 0,22 <sup>b,c</sup>
45	35	95	18,85 ± 0,24 <sup>g,h,i</sup>
45	35	75	20,95 ± 0,32 <sup>d,e,f</sup>
45	55	95	<b>24,61 ± 0,24<sup>a,b,c</sup></b>
<b>45</b>	<b>55</b>	<b>75</b>	<b>26,35 ± 0,59<sup>a</sup></b>
55	45	85	<b>24,75 ± 0,62<sup>a,b,c</sup></b>

Fonte: Autoria própria (2023).

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=6). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

$$\%AA\ ABTS = 20,75 + 0,84t + 2,74t^2 + 4,79T + 0,75T^2 - 1,19\ \%EtOH - 1,30\ \%EtOH^2 + 0,045t * T - 1,03t * \%EtOH + 0,01\ T * \%EtOH \quad (3)$$

Negligenciando-se os termos não significativos, foi obtida a Equação 4:

$$\%AA\ ABTS = 20,75 + 0,84t + 2,74t^2 + 4,79T + 0,75T^2 - 1,19\ \%EtOH - 1,30\ \%EtOH^2 - 1,03t * \%EtOH \quad (4)$$

**Tabela 3 – Análise de Variância (ANOVA) para a atividade antioxidante pelo método ABTS.**

	GL <sup>a</sup>	SQ <sup>b</sup>	QM <sup>c</sup>	F <sup>d</sup>	Pr (F)	Significância
Tempo (L)	1	14,38	14,38	8,62	0,004255	***
Tempo (Q)	1	103,42	103,42	62,01	0,000000	***
Temperatura (L)	1	474,38	474,38	284,41	0,000000	***
Temperatura (Q)	1	8,24	8,24	4,94	0,028881	***
%EtOH (L)	1	27,48	27,48	16,47	0,000108	***
%EtOH (Q)	1	20,47	20,47	12,27	0,000732	***
Tempo*Temperatura	1	0,024	0,024	0,014	0,904750	
Tempo*%EtOH	1	12,73	12,73	7,63	0,007006	***
Temperatura*%EtOH	1	0,0013	0,0013	0,0008	0,977680	
Resíduo	95	856,97	1,67			

Fonte: Autoria própria (2023).

<sup>a</sup> graus de liberdade; <sup>b</sup> soma dos quadrados; <sup>c</sup> quadrados médios; <sup>d</sup> coeficiente F calculado; Pr (F) Valor do teste T (< 0,05 houve diferença significativa).

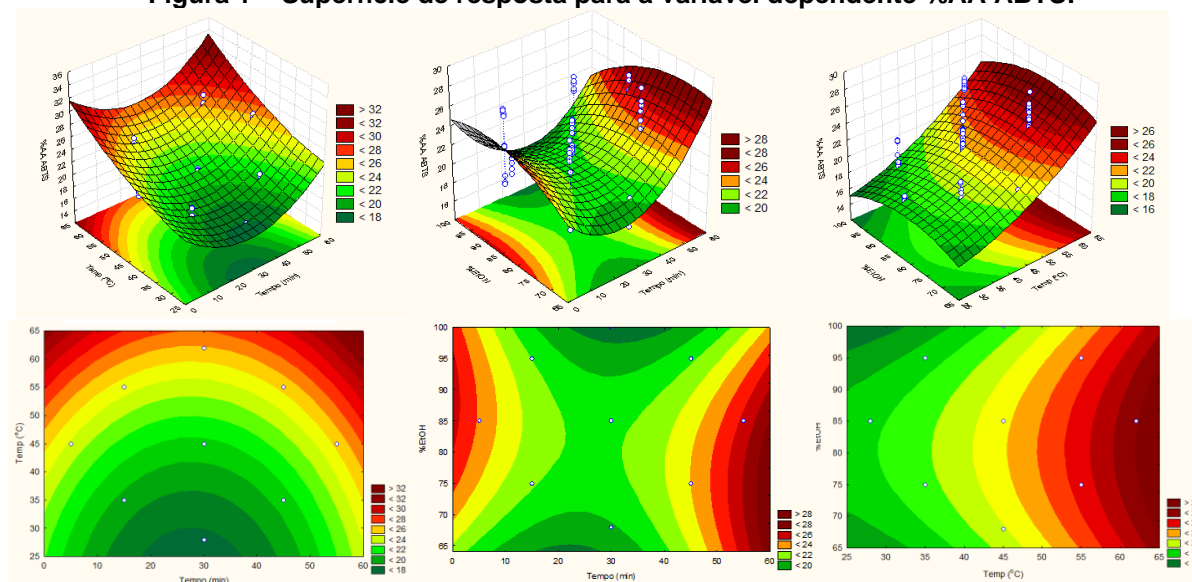
A relação entre as variáveis dependentes e independentes está representada tri- e bidimensionalmente pela superfície de resposta (Figura 1) gerada pelo modelo (Equação 4).

A análise dos resultados demonstra a influência dos três fatores estudados na atividade antioxidante dos extratos do açafão-da-terra. Os melhores resultados foram obtidos em temperaturas mais altas, entre 60-65 °C, tempos mais longos, entre 55-60



minutos e %EtOH entre 70-90%. As condições experimentais (Tabela 2): 45 minutos, 55 °C, EtOH 95%, 45 minutos, 55 °C, EtOH 75%, 55 minutos, 45 °C, EtOH 85%, 15 minutos, 55 °C, EtOH 75%, e 15 minutos, 55 °C, EtOH 95%, apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante sem apresentar diferença significativa entre seus valores ( $p < 0,05$ ).

Figura 1 – Superfície de resposta para a variável dependente %AA ABTS.



Fonte: Autoria própria (2023).

## CONCLUSÃO

Neste trabalho foram otimizadas as condições de extração dos compostos fenólicos antioxidantes dos rizomas do açafraão-da-terra, obtidos por ultrassom. A melhor resposta para %AA pelo método ABTS foi obtida na condição experimental: 15 minutos, 55 °C e EtOH 75%, sendo demonstrada a influência das três variáveis no processo extrativo. O extrato otimizado poderá ser aplicado em estudos futuros em testes de atividade antitumoral e nanoencapsulado, visando sua aplicação nas indústrias cosméticas, alimentícias e farmacêuticas.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida. Ao Laboratório Multiusuário de Apoio à Pesquisa da UTFPR – Campus Apucarana (LAMAP).

## Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.



## REFERÊNCIAS

- CHEMAT, F.; E-HUMA, Z.; MUHAMMED, K.K. **Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction.** *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 18, p. 813–835, 2011.
- GOVINDARAJAN, V.S. **Turmeric: Chemistry, Technology and Quality.** *CRC Critica*, 1980.
- JURENKA, J.S. **Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of Curcuma longa: A Review of Preclinical and Clinical Research.** *Alternative Medicine Review*, v. 14, p. 141-153, 2009.
- KULKARNI, S.K.; DHIR, A.; AKULA, K.K. **Potentials of Curcumin as an Antidepressant.** *Scientific World Journal*, v. 9, p. 1233-1241, 2009.
- LABUZA, T.P. **Kinetics of lipidoxidation in foods.** *CRC Critical Reviews in Food Technology*, v. 2, p. 355-405, 1971.
- PATIL, V.V.; SURWASE, S.R.; BELURE, A.S.; SURYAWANSHI, A.G.; MANE, D.V. **Phytochemical analysis and antibacterial evaluation of Curcuma longa and Curcuma aromatica against enteric poultry pathogens.** *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, v. 10, p. 2000-2003, 2019.
- RUFINO, M.S.M; ALVES, R.E.; de Brito, E.S.; de MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS<sup>+</sup>.** *Comunicado Técnico Embrapa*, v. 128, p. 1-4, 2007.
- TONIN, L.T.D.; DE OLIVEIRA, T.F.V.; DE MARCO, I.G.; PALIOTO, G.F.; DÜSMAN, E. **Bioactive compounds and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of extracts of Curcuma longa.** *Journal of Food Measurement and Characterization*, v. 15, p. 3752–3760, 2021.
- WILKEN, R.; VEENA, M.S.; WANG, M.B.; SRIVATSAN, E.S. **Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma.** *Molecular Cancer*, v. 10, p. 1-19, 2011.
- WOJDYŁO, A.; OSZMIAN´SKI, J.; CZEMERYYS, R. **Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs.** *Food Chemistry*, v. 105, p. 940-949, 2007.
- ZHOU, H.; BEEVERS, C.S.; HUANG, S. **The targets of curcumin.** *Current Drug Targets*, v. 12, p. 332–347, 2011.