



Otimização da extração de compostos bioativos de *Momordica charantia* L

Optimization of the extraction of bioactive compounds from *Momordica charantia* L

Nathele Lopes Regino¹, Fernanda Barroso Peixoto², Luiziane Gonçalves dos Santos³,
Rúbia Michele Suzuki⁴, Caroline Casagrande Sipoli⁵

RESUMO

O melão São Caetano (*Momordica charantia* L.) é uma fruta cuja composição apresenta vários compostos passíveis de aplicações com propósitos medicinais, sendo os compostos bioativos o principal foco desta pesquisa. Para realizar a extração de compostos antioxidantes, é fundamental considerar parâmetros críticos, tais como temperatura, tempo, categoria do solvente e sua proporção. O objetivo deste trabalho foi direcionado a otimizar a extração de compostos bioativos contidos no extrato de melão São Caetano desidratado, utilizando a metodologia assistida por ultrassom. Previamente à extração da amostra, realizou-se um planejamento experimental para o sistema de solventes etanol:água nas proporções (v/v) 10:90, 26:74, 50:50, 74:26 e 90:10, variando o tempo e a temperatura. Os extratos foram avaliados realizando a quantificação de sua atividade antioxidante, pelos métodos DPPH e ABTS. A partir dos resultados, determinou-se que a melhor condição para realizar a extração foi com a proporção de 50:50 (v/v) de etanol:água, a 61°C durante 30 minutos. Posteriormente, foram feitas quantificações de fenólicos e flavonoides totais para a condição mais satisfatória. Além disso, foi realizada uma extração com metanol:água, utilizando uma metodologia de determinação de atividade antioxidante com adaptações, a fim de comparar qual extração obteve o melhor resultado.

PALAVRAS-CHAVE: antioxidantes; compostos bioativos; extração; melão São Caetano.

ABSTRACT

The Bitter melon (*Momordica charantia* L.) is a fruit whose composition presents several compounds capable of applications for medicinal purposes, with bioactive compounds being the main focus of this research. To carry out the extraction of antioxidant compounds, it is essential to consider critical parameters, such as temperature, time, solvent category and its proportion. The objective of this work was aimed at optimizing the extraction of bioactive compounds contained in dehydrated Bitter melon extract, using ultrasound-assisted methodology. Prior to extracting the sample, an experimental plan was carried out for the solvents ethanol:water in proportions (v/v) 10:90, 26:74, 50:50, 74:26 and 90:10, varying the time and temperature. The extracts were evaluated by quantifying their antioxidant activity using the DPPH and ABTS methods. From the results, it was determined that the best condition to perform the extraction was with a 50:50 (v/v) ethanol:water ratio, at 61°C for 30 minutes. Subsequently, quantifications of total phenolics and flavonoids were made for the most satisfactory condition. Furthermore, an extraction was carried out with methanol:water,

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: natheleregino@gmail.com. ID Lattes: 1977980107865415.

²Doutoranda do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Engenharia Química (FEQ/UNICAMP). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil. E-mail: feerbapei@gmail.com. ID Lattes: 6513965381638499.

³Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: luiziane@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 48890919965773290.

⁴Docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ-AP). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: rubiamsuzuki@gmail.com. ID Lattes: 3718123505118681.

⁵Docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química (PPGEQ-AP). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil. E-mail: carolinesipoli@gmail.com. ID Lattes: 8845341087624651.



using a methodology for determining antioxidant activity with adaptations, in order to compare which extraction obtained the best result.

KEYWORDS: antioxidants; bioactive compounds; extraction; Bitter melon.

INTRODUÇÃO

O melão São Caetano (*Momordica charantia* L.), tem desempenhado um papel tradicional como um alimento de propriedades medicinais em diversas nações em desenvolvimento. Trata-se de uma fruta de origem tropical que possui propriedades terapêuticas. O presente trabalho visa destacar e elucidar os compostos bioativos presentes em sua composição Tan *et al.* (2016).

Conforme Jiao *et al.* (2018), a investigação de compostos correlacionados à capacidade antioxidante reveste-se de significativo interesse, dado que, tais compostos demonstram a capacidade de absorver radicais livres, o que resulta na inibição da etapa de iniciação de reações oxidativas desencadeadas pelos radicais livres no organismo.

Os compostos antioxidantes presentes no melão São Caetano demonstram a capacidade de reduzir o estresse oxidativo no sistema. Este efeito é atribuído à presença de compostos fenólicos e flavonoides. Para obter esses compostos, torna-se necessário conduzir um processo de extração, sendo o método mais prevalente a extração com solventes, tais como água, etanol e metanol. Uma das abordagens para avaliar o impacto da extração é por meio da avaliação do efeito antioxidante, utilizando os métodos DPPH, ABTS, fenólicos totais e flavonoides totais Andreo *et al.* (2006).

Logo, o presente estudo objetiva analisar o impacto da proporção do solvente e a sua categoria, a relação do tempo e da temperatura no processo de extração do melão São Caetano, bem como sua atividade antioxidante, com o intuito de otimizar a obtenção de compostos bioativos passíveis de aplicação nas esferas das indústrias de alimentos e farmacêutica.

METODOLOGIA

AMOSTRAS

O melão São Caetano foi comprado *in natura* em uma feira na cidade de Maringá, no estado do Paraná, Brasil. A fruta foi higienizada, separou-se a casca, polpa e sementes, secou-se cada item de forma separada em uma estufa a 40°C durante 24 horas. Posteriormente triturou-se a amostra até obtenção de tamanho regular, em seguida foram embalados a vácuo em embalagens separadas. As amostras foram congeladas e mantidas em um ambiente sem iluminação.

PREPARO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS

Os extratos foram preparados em duplicata, utilizando 0,25 g da casca, 0,25 g da polpa e 50,0 mL do solvente etanol:água. A extração foi feita assistida por ultrassom com as condições apresentadas no Quadro 1.



Quadro 1 - Condições para preparo dos extratos etanólicos do melão São Caetano

Sistema	Tempo (min)	Temperatura (°C)	EtOH	H2O
1	15,00	35,00	26,00	74,00
2	45,00	35,00	26,00	74,00
3	15,00	55,00	26,00	74,00
4	45,00	55,00	26,00	74,00
5	15,00	35,00	74,00	26,00
6	45,00	35,00	74,00	26,00
7	15,00	55,00	74,00	26,00
8	45,00	55,00	74,00	26,00
9	4,77	45,00	50,00	50,00
10	55,23	45,00	50,00	50,00
11	30,00	28,20	50,00	50,00
12	30,00	61,80	50,00	50,00
13	30,00	45,00	10,00	90,00
14	30,00	45,00	90,00	10,00
15	30,00	45,00	50,00	50,00
16	30,00	45,00	50,00	50,00
17	30,00	45,00	50,00	50,00

Fonte: Autoria própria (2023)

Cada sistema enumerado no Quadro 1 foi preparado e assim submerso em um banho ultrassônico nas temperaturas indicadas. Após o tempo estimado para cada condição, os extratos foram filtrados a vácuo, depositados em frascos âmbar, etiquetados e armazenados em um refrigerador.

PREPARO DOS EXTRATOS METANÓLICOS

Adicionalmente, os extratos foram preparados em duplicata, conforme Vagula *et al.* (2019) adaptada. 5,0 g da casca e 5,0 g da polpa foram adicionadas com metanol na proporção de 1:10 (m/v) e colocados em agitação magnética a 25°C durante 2 horas. Em seguida, as amostras foram submetidas à agitação mecânica a 2000 rpm por 20 minutos e filtradas a vácuo. O solvente foi removido a 35°C em rotaevaporador. Após todas essas etapas os extratos foram depositados em frascos âmbar, etiquetados e armazenados em um refrigerador.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A quantificação da atividade antioxidante dos extratos etanólicos foi conduzida por meio de ensaios envolvendo os radicais DPPH e ABTS. A abordagem para determinação da atividade antioxidante, conforme o método DPPH, seguiu a metodologia proposta por Rufino *et al.* (2007) adaptada. A atividade antioxidante (AA) foi expressa em termos de porcentagem de inibição em relação ao controle, conforme a Equação (1), em que (Aa) denota a absorbância da amostra, (Ab) representa a absorbância do branco da amostra, e (Ac) refere-se à absorbância do controle.

$$\%AA = \frac{[Ac - (Aa - Ab)]}{Ac} \times 100 \quad (1)$$

Já a determinação da atividade antioxidante utilizando o método ABTS seguiu a metodologia estabelecida por Rufino *et al.* (2007). O resultado foi quantificado em termos de porcentagem de inibição em relação ao controle, conforme estabelecido na Equação (1). A quantificação dos ensaios foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS (Agilent Cary 60 uv-vis).

DETERMINAÇÃO DOS FLAVONOIDES TOTAIS E FENÓLICOS TOTAIS



Flavonoides totais foram determinados segundo a metodologia de Funari & Ferro (2006) adaptada. As análises foram realizadas em triplicata. Para a quantificação uma curva padrão de rutina em metanol foi construída nas concentrações de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg/L, como apresentada na Equação (2).

$$y = 0,007x + 0,145 \quad (2)$$

Já os fenólicos totais foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por Minussi *et al.* (2003). As análises foram realizadas em triplicata. Para a quantificação dos fenólicos totais foi construída uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações de 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 e 200 mg/L, como apresentada na Equação (3).

$$y = 0,006x + 0,127 \quad (3)$$

A quantificação dos ensaios foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS (Agilent Cary 60 uv-vis).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados expostos foram obtidos a partir da média de repetições, expressa como média \pm desvio padrão, e foram submetidos a uma análise estatística utilizando o teste de Tukey ($p < 0,05$). Essas análises foram feitas utilizando o software RStudio. No contexto da análise pelo teste Tukey, os pontos centrais foram dispostos como valores médios, uma vez que compartilharam o mesmo valor.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A pesquisa foi realizada com a finalidade de determinar uma proporção satisfatória no sistema de solventes etanol:água. Os resultados obtidos foram referentes à capacidade antioxidante avaliada por meio dos métodos DPPH e ABTS obtidos pelo teste Tukey, apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados das porcentagens de atividade antioxidante (%AA) do melão São Caetano pelos métodos DPPH e ABTS

Extrato	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Proporção EtOH:H ₂ O	ABTS (%)	DPPH (%)
1	45 °C	4,77 min	50%	41,56 \pm 0,84 ^{ef}	81,16 \pm 1,11 ^a
2	45 °C	55,23 min	50%	48,64 \pm 0,99 ^d	83,75 \pm 1,33 ^a
3	45 °C	30 min	10%	39,78 \pm 0,65 ^f	42,99 \pm 1,88 ^f
4	45 °C	30 min	90%	37,11 \pm 0,97 ^g	41,11 \pm 6,31 ^f
5	35 °C	15 min	74%	36,83 \pm 1,06 ^g	28,00 \pm 1,08 ^g
6	35 °C	15 min	26%	50,00 \pm 1,45 ^d	53,75 \pm 0,87 ^e
7	35 °C	45 min	26%	49,27 \pm 0,80 ^d	45,90 \pm 0,91 ^f
8	35 °C	45 min	74%	57,04 \pm 1,64 ^a	60,66 \pm 2,83 ^d
9	55 °C	45 min	74%	55,93 \pm 1,33 ^{ab}	59,57 \pm 0,90 ^d
10	55 °C	15 min	26%	52,42 \pm 1,79 ^c	70,13 \pm 5,64 ^{bc}
11	55 °C	15 min	74%	20,45 \pm 1,58 ⁱ	64,44 \pm 3,05 ^{cd}
12	55 °C	45 min	26%	43,43 \pm 1,06 ^e	70,81 \pm 1,83 ^b
13	61 °C	30 min	50%	53,95 \pm 0,97 ^{bc}	81,34 \pm 1,73 ^a
14	28 °C	30 min	50%	25,86 \pm 0,50 ^h	71,66 \pm 4,87 ^b
15	30 °C	45 min	50%	27,53 \pm 1,89 ^h	82,60 \pm 3,52 ^a

Fonte: Autoria própria (2023)

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



Para o teste DPPH, os extratos 2, 13 e 15 não apresentaram diferença significativa e demonstraram elevadas quantidades de atividade antioxidante. Já para o teste ABTS, os extratos 8, 9 e 13 apresentaram também resultados satisfatórios.

Portanto, considerando o conjunto de análise de antioxidantes pode-se definir que a condição que apresentou uma maior atividade oxidante foi a extração realizada com a proporção de 50:50 (v/v) etanol:água a 61°C durante 30 minutos.

Já para os flavonoides totais e fenólicos totais, foram realizadas duas extrações, a primeira utilizando etanol:água nas condições que satisfizeram os ensaios do DPPH e ABTS, e a segunda foi realizada com metanol:água, seguindo a metodologia de Vagula *et al.* (2019) adaptada. A partir das Equações (2) e (3) foi possível obter os resultados expressos em mg/L dos flavonoides e fenólicos apresentados no Quadro 2.

Quadro 2 - Resultados expressos em mg/L de flavonoides e fenólicos presentes nos extratos etanólico e metanólico do melão São Caetano

Flavonoides Totais		Fenólicos Totais	
Extrato Etanólico mg/L	Extrato Metanólico mg/L	Extrato Etanólico mg/L	Extrato Metanólico mg/L
3,375	58,157	23,579	246,44
4,564	56,509	29,129	253,489
3,444	63,682	25,926	273,943

Fonte: Autoria própria (2023)

A partir dos resultados do Quadro 2, é possível concluir que a extração utilizando os solventes metanol:água obteve consideravelmente melhores resultados quando comparado a extração utilizando os solventes etanol:água.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Multiusuário de Apoio à Pesquisa da UTFPR Campus Apucarana (LAMAP).

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram o potencial antioxidante do extrato de melão São Caetano. As condições ótimas de extração foram determinadas através de um planejamento experimental, com temperatura estabelecida a 61°C, período de extração de 30 minutos e a proporção mais eficiente de solvente etanol:água foi de 50:50 (v/v). No entanto, para obtenção de flavonoides totais e fenólicos totais, a extração feita com metanol:água demonstrou ser mais eficiente quando comparada com a extração utilizando etanol:água. No mais, o melão São Caetano possui compostos bioativos em sua



composição que podem ser aplicados em diversos setores da indústria alimentícia, farmacêutica, dentre outras que utilizam e aplicam os compostos em seus processos. Posteriormente, pode-se realizar estudos para nanoencapsular os extratos, a fim de proteger os compostos bioativos presentes.

REFERÊNCIAS

- RUFINO, M.S.M; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; JIMENEZ, J.P.; CALIXTO, F.D.S. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH, **Comunicado Técnico Embrapa**, v. 127 p.1-4, 2007.
- FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Análise de própolis. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 26, n. 1, p. 171–178, 2006.
- MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. **Food Chemistry**, v. 82, n. August, p. 409– 416, 2003.
- VAGULA, J. M. et al. Content of phenolic compounds in fruit processing residues by mass spectrometry. **Acta Scientiarum Technology**, v. 41, n. 1, p. 35043, 2019.
- AGOSTINHO, M. DE S. P. **Produção de nanopartículas de zeína para incorporação dos compostos bioativos presentes no extrato do açafão-da-terra**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 28 jul. 2022.
- PEIXOTO, F. B. **Otimização da extração de compostos bioativos do gojiberry e Incorporação em nanolipossomas para aplicação em células tumorais**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 23 fev. 2023.
- JIAO, Y. et al. Assessment of phenolic contributors to antioxidant activity of new kiwifruit cultivars using cyclic voltammetry combined with HPPLC. **Food Chemistry**, v. 268, p. 77-85, 2018.
- TAN, S. P. et al. Bitter melon (*Momordica charantia*L.) bioactive composition and health benefits: A review. **Food reviews international**, v. 32, n. 2, p. 181–202, 2016
- ANDREO, D; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319-336, 2006.