

Avaliação da capacidade antioxidante do mirtilo (*Vaccinum spp.*) in vitro e no modelo experimental *Caenorhabditis elegans*

Bibiana Pistoia Ferreira Rabuske¹

Cristiane Casagrande Denardin²

Resumo:

O mirtilo, conhecido cientificamente por *Vaccinum spp.*, é uma planta fruto originário dos Estados Unidos e no Brasil ainda é muito recente sua cultura, sendo pouco conhecido, e cultivado pela Embrapa, Pelotas/RS. Estudos sugerem que as antocianinas, substâncias presentes na casca desta fruta, ajudam na prevenção de câncer e combatem o envelhecimento. *C. elegans* são nematoides de vida livre, encontrados no solo, não patogênicos, possuem corpo transparente, pequeno tamanho quando adultos, curto ciclo de vida e tem sido muito utilizados em variadas pesquisas, incluindo estudos sobre os efeitos de compostos antioxidantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante e caracterizar compostos fitoquímicos do extrato etanólico do Mirtilo (*Vaccinum spp.*) in vitro e in vivo. O extrato de Mirtilo possui um elevado teor de compostos fenólicos totais de 3795,027ug de equivalentes de ácido gálico/ml (método de Folin-Ciocalteu). Nas determinações antioxidantes in vitro, o método de captura do radical DPPH (segundo Rufino et al., 2007) de 12,181g fruta/g DPPH, sendo, quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua capacidade antioxidante e técnica de FRAP (Poder antioxidante de redução de ferro, segundo Pulido et al., 2000) de 49632,3uM sulfato ferroso/g fruta, apresentando uma boa capacidade antioxidante do extrato. No modelo experimental in vivo, de *C.elegans*, não foi possível determinar a DL 50 (dose letal capaz de matar 50% dos vermes) uma vez que até a maior concentração 1000ug EAG/ml) testada não observamos morte dos animais. Assim, observamos que o extrato de Mirtilo não é tóxico até 1mg EAG/ml (5ug/ml até 1mg/ml). Na análise de Brood size, observamos que o extrato de Mirtilo também não afeta a reprodução dos animais nas concentrações testadas (5ug/ml até 250ug/ml). O extrato de Mirtilo não apresenta toxicidade no modelo de *C.elegans* nas concentrações testadas e não afeta a reprodução dos animais. Portanto, concluímos que o Mirtilo não apresenta efeitos tóxicos in vivo. Além disso, observamos que o extrato tem uma boa capacidade antioxidante e riqueza em compostos fenólicos in vitro. Assim, pretendemos avaliar a capacidade antioxidante desta fruta frente ao envelhecimento e no possível tratamento de doenças neurodegenerativas.

Palavras-chave: mirtilo, frutas, antioxidante, *c. elegans*

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

**Avaliação da capacidade antioxidante do mirtilo (*Vaccinum spp.*) in vitro e no modelo experimental
*Caenorabiditis elegans***

¹ Aluno de graduação. bibianapfr@gmail.com. Autor principal

² Docente. cristianedenardin@unipampa.edu.br. Orientador

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO MIRTILO (*VACCINUM SPP.*) *IN VITRO* E NO MODELO EXPERIMENTAL *CAEHNORABIDITIS ELEGANS*.

Bibiana Rabuske, Cristiane Casagrande Denardin

Introdução

O mirtilo, conhecido cientificamente por *Vaccinum spp*, é uma planta arbustiva, cultivado em clima frio, seu tamanho varia muito, desde 0,20 metros até 3 metros de altura. O cultivar de estudo do mirtilo foi Briteblue, que produz frutos grandes (acima de 1,3cm de diâmetro), com película azul clara, maior produção, maior conservação pós-colheita, podendo ser transportados pra lugares distantes. É um fruto originário dos Estados Unidos e extremamente difundido e consumido na América do Norte e Europa. Contudo, nos estados brasileiros ainda é muito recente sua cultura, sendo pouco conhecido, e cultivado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, Pelotas/RS).

Estudos sugerem que as antocianinas, substâncias presentes na casca desta fruta, ajudam na prevenção de câncer e combatem o envelhecimento. Além desses benefícios estimula também a circulação sanguínea e reduz a taxa de açúcar no sangue. Além disso, o mirtilo apresenta em sua composição uma variedade de vitaminas, minerais, açúcares, pectina, taninos e os ácidos cítricos, málico e tartárico (Silveira et al., 2007).

C. elegans são nematoides de vida livre, encontrados no solo, não patogênicos, possuem corpo transparente, pequeno tamanho quando adultos (~1mm), curto ciclo de vida, autofecundação (vermes hermafroditas e machos), possuindo código genético completamente mapeado, apresentando elevado grau de homologia com os humanos (Brenner et al., 1974), e por conta destas características tem sido muito utilizados em variadas pesquisas, incluindo estudos sobre os efeitos de compostos antioxidantes.

Assim, devido a constante busca por antioxidantes naturais e o apelo pelo aumento no consumo de frutas com grande quantidade e diversidade de compostos antioxidantes, o presente trabalho se justifica pelo reduzido consumo de Mirtilo pela população do Rio Grande do Sul e sua riqueza em compostos bioativos.

Objetivo

Avaliar a capacidade antioxidante, verificando os benefícios antioxidantes e caracterizar compostos fitoquímicos do extrato etanólico do Mirtilo (*Vaccinum spp.*) *in vitro* e *in vivo*.

Materiais e Métodos

As frutas de Mirtilo (cultivar BriteBlue) foram obtidos da Embrapa de Pelotas/RS (safra 2014) e o extrato etanólico foi obtido da fruta inteira (polpa e

casca) após duas extrações com etanol 95°GL e centrifugações, evaporando então o etanol através de rotavapor e o extrato seco ressuspenso em água. Para caracterização dos compostos fitoquímicos do extrato etanólico do Mirtilo, foi utilizado o ensaio de Folin-Ciocalteu (Swain e Hillis, 1959), sendo utilizado ácido gálico como padrão. Os resultados foram expressos em Equivalentes de Ácido gálico (EAG)/ ml. Para os ensaios *in vivo* utilizaram-se diferentes concentrações durante o experimento de 5, 10, 100, 250, 500 e 1000 ug EAG/ml.

Para determinar a capacidade antioxidante *in vitro*, utilizamos o método de captura do radical livre DPPH (difenil-picril-hidrazina) segundo Rufino et al. (2007), com absorbância de 515nm e os resultados expressos em EC50; e o método de poder antioxidante de redução de ferro (FRAP) segundo Pulido et al. (2000), sendo a absorbância medida em 595nm.

O *C.elegans* (cepa N2) foi mantido em NGM com bactéria E.coli OP50 como alimento, após foi feita a sincronização onde todos os animais permanecem no mesmo estágio larval de L1 para realização de experimentos de sobrevivência e reprodução. No ensaio de sobrevivência, os vermes foram tratados em meio líquido por 30 min com as diferentes concentrações do extrato de Mirtilo, lavados e colocados em placas. A sobrevivência foi avaliada 48hs após o tratamento pela contagem dos animais vivos. O ensaio de Brood size, ou seja, o tamanho da ninhada foi avaliado nos 3 dias do período reprodutivo dos vermes pela contagem do tamanho total da ninhada.

Resultados e discussão

O extrato possui um elevado teor de compostos fenólicos totais de 3795,027ug de equivalentes de ácido gálico/ml. Nas determinações antioxidantes *in vitro*, o método de captura do radical DPPH de 12,181g fruta/g DPPH, sendo, quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua capacidade antioxidante (Alves et al., 2007) e técnica de FRAP de 49632,3uM sulfato ferroso/g fruta, apresentando uma boa capacidade antioxidante do extrato.

No modelo experimental *in vivo*, de *C.elegans*, não foi possível determinar a DL 50 (dose letal capaz de matar 50% dos vermes) uma vez que até a maior concentração testada não observamos morte dos animais. Assim, concluímos que o extrato de Mirtilo não é tóxico até 1mg EAG/ml (Figura 1A). Na análise de Brood size, observamos que o extrato de Mirtilo também não afeta a reprodução dos animais nas concentrações testadas (Figura 1B).

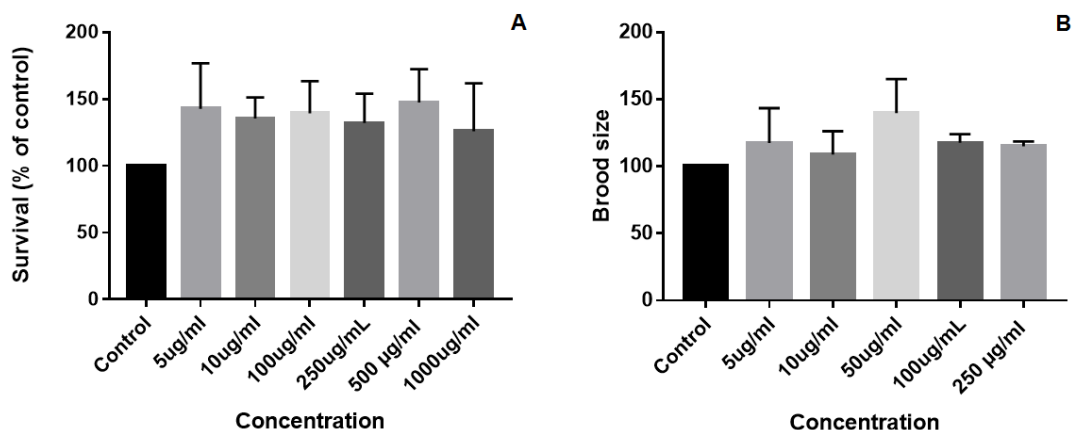


Figura 1. Sobrevivência (A) e Tamanho da Ninhada (B) do *C. elegans* tratados com diferentes concentrações de extrato de Mirtilo.

Conclusão

O extrato de Mirtilo não apresenta toxicidade no modelo de *C.elegans* nas concentrações testadas e não afeta a reprodução dos animais. Portanto, concluímos que o Mirtilo não apresenta efeitos tóxicos *in vivo*. Além disso, observamos que o extrato tem uma boa capacidade antioxidante e riqueza em compostos fenólicos *in vitro*. Assim, pretendemos avaliar a capacidade antioxidante desta fruta frente ao envelhecimento e no possível tratamento de doenças neurodegenerativas.

Referências:

- Alves CQ, Brandão HN, David JM, David JP, Lima LS. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. Diálogos e ciência – Revista da rede ensino FTC, 5(12): 7-8, 2007.
- Brenner, S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. Genetics, v.77, p. 71-94, 1974.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. PROJETO quintais orgânicos de frutas: frutas de Clima Temperado e subtropical: propriedades medicinais. Publicado em 2010. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/41901/1/quintais.pdf>>. Acesso em 29 de setembro de 2017.
- Mirtilo RS, Benefícios do consumo de mirtilo. Disponível em: <<http://www.mirtilors.com.br>>. Acesso em 27 de setembro de 2017.
- Pulido, R. et al. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. Journal Agriculture and Food Chemistry, v.48, n.8, p.3396-3402, 2000.
- Rufino, M.S.M., et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical DPPH. Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado técnico on line, Fortaleza, n.127, p.1-4, 2007.
- Silveira NGA, Vargas PN, Rosa CS. Teor de fenólicos e composição química do mirtilo do grupo Highbush. Aliment Nutr. 2007; 18(4):365-70.

Swain, T., Hillis, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.10, n.1, p.63-68, 1959.