



AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO SECO DE LÚPULO (*Humulus lupulus* L.) A PARTIR DOS FLAVONOIDES TOTAIS E DOS MÉTODOS DA CAPACIDADE DE ABSORÇÃO DE RADICAIS DE OXIGÊNIO (ORAC) E DA CAPACIDADE REDUTORA TOTAL (FOLIN-CIOCALTEAU)

Palavras-Chave: Lúpulo, Antioxidante, Polifenóis

Autores/as:

Vinícius de Oliveira Giaculi – FEA, UNICAMP

Mariana da Rocha Alves – FEA, UNICAMP

Prof^(a). Dr^(a). Mário Roberto Maróstica Júnior (orientador) – FEA, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O lúpulo (*Humulus lupulus* Linnaeus) é uma espécie vegetal pertencente à ordem Rosales e a família Cannabaceae (SPÓSITO, 2019). A palavra lupulus é de origem latina e significa pequeno lobo, devido a característica trepadeira da planta ao crescer sobre salgueiros ribeirinhos e outras árvores ao seu redor (KORPELAINEN & PIETILÄINEN, 2021).

Nos últimos anos, pesquisadores têm investigado a atividade biológica do lúpulo e os mecanismos moleculares que realizam essas atividades (ABIKO et al., 2022). Os compostos responsáveis por grande parte das atividades biológicas do lúpulo são sintetizados pelo metabolismo secundário da planta, e abrangem diversas classes de compostos, dentre as quais estão os ácidos amargos e os polifenóis, que apresentam atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, anticancerígena e antiviral (ASTRAY, 2020; RUTNIK et al., 2021; XU et al., 2021).

Os compostos fenólicos do lúpulo são antioxidantes naturais, e se caracterizam por estruturas químicas com um anel aromático ligado a um ou mais substituintes hidroxila, atribuindo capacidade antioxidante em estruturas orgânicas, podendo estar na forma simples ou em formato de polímeros. O poder antioxidante dos compostos fenólicos está relacionado às suas propriedades redutoras, ao atuar como agentes doadores de hidrogênio ou elétrons, o que determina seu potencial como sequestradores de radicais livres (antioxidantes). Além disso, eles possuem a capacidade de quelar íons metálicos, como ferro e cobre, inibindo a formação de radicais livres catalisados por esses metais (VUOLO et al., 2019).

Já os ácidos amargos do lúpulo são constituídos de uma mistura de α -ácidos e β -ácidos (humulonas e lupulonas). Ambos apresentam atividade antioxidante, através do sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e da inibição da peroxidação lipídica. Ademais, as humulonas apresentam atividade quelante de metais, como ferro e cobre, que ajuda a diminuir a formação de espécies reativas de oxigênio (DURELLO et al., 2019).

Nesse contexto, alguns compostos identificados no lúpulo têm sido relacionados à uma diminuição da inflamação metabólica, resistência à insulina e dislipidemia, com impacto positivo no tratamento de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como obesidade e diabetes (TEGHTMEYER, 2018; GONZÁLEZ-SALITRE et al., 2023). A família das isohumulonas, encontrada principalmente na forma de iso-alfa ácidos em extratos lipofílicos do lúpulo, apresenta potencial benéfico à saúde humana. Esses compostos já demonstraram reduzir a inflamação sistêmica, aumentar o metabolismo lipídico e reduzir a adiposidade em ensaios de intervenção humana e em animais alimentados com uma dieta rica em gordura (BLAND et al., 2015). Outro composto com potencial benéfico à saúde é o xanthohumol, um flavonoide prenilado da família das chalconas que demonstrou efeitos positivos contra a obesidade e o diabetes por meio da regulação do metabolismo da glicose e do colesterol em animais (MIRANDA et al., 2016). O flavonoide também apresentou atividades protetoras relacionadas ao câncer, através da modulação ou biotransformação de carcinógenos e da ação inibitória da angiogênese. Além disso, exibiu significativos efeitos no ciclo celular, inibindo a proliferação, migração ou induzindo a apoptose em diversos tipos de células cancerígenas (MACHADO JR, 2019).

Dessa forma, esse estudo teve como objetivo analisar a capacidade antioxidante de um extrato seco de lúpulo comercial, a partir do método da capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC), da capacidade redutora total (Folin-Ciocalteu) e da análise de flavonoides totais.

METODOLOGIA:

1) Capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC)

Para a análise foram preparadas quatro soluções: um tampão fosfato de potássio 75 mM pH 7,4 a partir de solução de fosfato de potássio monobásico e dibásico (2,04 g/200 mL e 2,612 g/200 mL respectivamente) em balões volumétricos com água ultrapura na proporção 1:2 de mono:bi; solução de Trolox 1,5 mM a partir da pesagem no escuro de 0,0025 g/10 mL de etanol gelado, em seguida envolveu-se o balão em papel alumínio e foi sonicado no gelo por 5 minutos, armazenou-se em geladeira; solução de AAPH, pesou-se 0,1035 g para 2,5 mL de tampão e foi coberto o tubo com papel alumínio, a mistura foi realizada antes da pipetagem em tubo Falcon no escuro; Fluoresceína sódica preparada a partir da solução mãe de 0,0046 g fluoresceína/10 mL de tampão até obter solução amarelo claro.

Em seguida, o aparelho foi colocado para aquecer em 37°C. Foi pipetado nas placas 25 μ L da amostra, 25 μ L de AAPH e 150 μ L de fluoresceína. A fluorescência foi medida a cada 1 minuto,

durante 80 minutos com shake de 3 segundos antes da leitura. Usando Trolox de concentrações conhecidas, uma curva padrão foi gerada e a atividade ORAC da amostra foi calculada. Os resultados foram expressos como equivalentes de μmol de Trolox por grama ou litro de amostra e foram baseadas na área sob a curva de fluorescência deteriorada ao longo do tempo.

2) Capacidade redutora total (Folin-Ciocalteu)

Para a realização da análise foram preparadas três soluções: solução saturada de carbonato de sódio 10% obtida ao pesar 10,599 g de carbonato de sódio e dissolver em 100 mL de água destilada; solução padrão de ácido gálico obtida pela dissolução de 10 mg de ácido gálico em 10 mL de água; Solução de Folin-Ciocalteu.

Para os ensaios das amostras foram utilizados 50 μL da amostra do extrato, 800 μL de água e 50 μL de Folin-Ciocalteu, homogeneizou-se e repousou durante três minutos no escuro. Em seguida, foi adicionado 50 μL de carbonato de sódio e deixou em repouso por duas horas, ao abrigo da luz. Foi homogeneizado e pipetado 250 μL para que fosse realizada a leitura em triplicata. Os resultados da capacidade redutora total foram expressos como equivalente de ácido gálico em mg por grama de amostra.

3) Flavonoides totais

Para o ensaio foram utilizados 100 μL de amostra não diluída, 500 μL de água destilada e 30 μL de nitrito de sódio 5% m/v. Após 5 minutos de repouso, foram adicionados 60 μL de cloreto de alumínio 10% m/v. Após mais 6 minutos de repouso, foram adicionados 200 μL de hidróxido de sódio (1 mol/L) e 310 μL de água destilada. A solução foi centrifugada e a absorbância foi medida a 510 nm em um espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como equivalente de catequina em mg por grama de amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As diferentes análises foram realizadas com base no mesmo extrato. De acordo com a literatura, os resultados se apresentam como boas fontes de flavonoides totais e polifenóis totais. Os resultados da análise ORAC ($22,68 \pm 5,80$) foram expressos em μmol de Trolox equivalente/g de extrato seco. Para a capacidade redutora total (Folin-Ciocalteu) os resultados ($24,46 \pm 1,52$) foram expressos em mg de Ácido Gálico equivalente/ g de extrato seco. Na análise de Flavonoides totais ($2,61 \pm 0,15$) os resultados foram expressos em mg de Catequina equivalente/g de extrato seco.

No trabalho realizado por Lyu et al. (2022), foram analisados 6 extratos de lúpulo de diferentes cultivares. Os extratos foram obtidos com etanol 60% e com água fervida, e os valores obtidos da análise de Folin-Ciocalteu variaram entre 52,80 e 81,90 mg GAE . g^{-1} . Além disso, houve variação entre as mesmas cultivares de regiões diferentes, indicando a adaptabilidade da planta às condições ambientais. Os extratos etanólicos também apresentaram ligeira vantagem sobre os extratos aquosos, apresentando maiores valores em 5 das 6 cultivares analisadas.

Em diferentes estudos, Arruda (2020) e Almeida et al. (2019) analisaram cultivares de lúpulo brasileiros e obtiveram resultados promissores. Os lúpulos produzidos no Brasil se mostraram boas fontes de flavonoides (entre 5,72 e 54,47 mg CE . g⁻¹) e apresentaram elevado conteúdo de compostos fenólicos (entre 14,31 e 35,10 mg GAE . g⁻¹). Além do potencial antioxidante observado, também foi verificado um grande potencial antimicrobiano para as amostras analisadas.

Em uma comparação breve, Liu et al. (2007) observaram que os extratos aquosos de lúpulo demonstraram menor atividade antioxidante em comparação aos extratos obtidos utilizando etanol e dióxido de carbono. Além disso, Kowalczyk et al. (2013) constataram que os extratos aquosos exibem menor teor de fenólicos totais em comparação aos extratos hidroetanólicos (50% etanol) e hidrometanólicos (50% metanol).

Ao avaliar subprodutos da indústria cervejeira, Codina-Torrella et al. (2021) verificaram que os resíduos de lúpulo apresentaram 24,84 µmol GAE . g⁻¹ e um valor de ORAC de 152,58 µmol TE . g⁻¹ , mostrando propriedades antioxidantes em resíduos de baixo valor comercial.

Portanto, os resultados obtidos nas análises podem ajudar a explorar o potencial do extrato de lúpulo ainda mais, como um recurso valioso de culturas medicinais para futuras pesquisas antioxidantes.

CONCLUSÕES:

As análises da capacidade antioxidante revelaram semelhança com a literatura, mostrando um potencial antioxidante a ser explorado. Esses resultados destacam que a composição fitoquímica do lúpulo e as diferentes formas de extração podem influenciar a qualidade do produto e suas propriedades promotoras de saúde.

BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA, Aline da Rosa et al. **Caracterização do lúpulo (*Humulus lupulus* L.) cultivado no Brasil, obtenção dos seus extratos e aplicação em filmes poliméricos.** 2019.
- ARRUDA, Tarsila R. **Atividades antioxidantes e antimicrobiana dos primeiros cultivares de lúpulo (*Humulus lupulus* L.) produzidos no Brasil.** 2020.
- ASTRAY, Gonzalo et al. **Humulus lupulus L. as a natural source of functional biomolecules.** Applied Sciences, v. 10, n. 15, p. 5074, 2020.
- BLAND, Jeffrey S. et al. **Isohumulones from hops (*Humulus lupulus*) and their potential role in medical nutrition therapy.** PharmaNutrition, v. 3, n. 2, p. 46-52, 2015.
- CODINA-TORRELLA, Idoia; RODERO, Lourdes; ALMAJANO, María Pilar. **Brewing by-products as a source of natural antioxidants for food preservation.** Antioxidants, v. 10, n. 10, p. 1512, 2021.
- DURELLO, Renato S.; SILVA, Lucas M.; BOGUSZ, Stanislaw. **Química do lúpulo.** Química Nova, v. 42, p. 900-919, 2019.

- GONZÁLEZ-SALITRE, Lourdes; GONZÁLEZ-OLIVARES, Luis Guillermo; BASILIO-CORTES, Ulin Antobelli. **Humulus lupulus L. a potential precursor to human health: High hops craft beer.** Food chemistry, v. 405, n. Pt B, p. 134959, 2023.
- KORPELAINEN, Helena; PIETILÄINEN, Maria. **Hop (Humulus lupulus L.): Traditonal and present use, and future potential.** Economic botany, p. 1-21, 2021.
- KOWALCZYK, Dariusz et al. **The phenolic content and antioxidant activity of the aqueous and hydroalcoholic extracts of hops and their pellets.** Journal of the Institute of Brewing, v. 119, n. 3, p. 103-110, 2013.
- LIU, Yumei et al. **Antioxidant activities of hops (Humulus lupulus) and their products.** Journal of the American Society of Brewing Chemists, v. 65, n. 2, p. 116-121, 2007.
- LYU, Jae Il et al. **Comparative study on phenolic compounds and antioxidant activities of Hop (Humulus lupulus L.) strobile extracts.** Plants, v. 11, n. 1, p. 135, 2022.
- MACHADO JR, Júlio C. et al. **Modeling of α -acids and xanthohumol extraction in dry-hopped beers.** Food chemistry, v. 278, p. 216-222, 2019.
- MIRANDA, Cristobal L. et al. **Xanthohumol improves dysfunctional glucose and lipid metabolism in diet-induced obese C57BL/6J mice.** Archives of biochemistry and biophysics, v. 599, p. 22-30, 2016.
- RUTNIK, Ksenija; KNEZ HRNČIČ, Maša; JOŽE KOŠIR, Iztok. **Hop essential oil: Chemical composition, extraction, analysis, and applications.** Food Reviews International, v. 38, n. sup1, p. 529-551, 2022.
- SPÓSITO, Marcel Bellato et al. **A cultura do lúpulo.** Piracicaba, SP: Esalq-Divisão de Biblioteca, 2019.
- TEGHTMEYER, Suzi. **Hops.** Journal of Agricultural & Food Information, v. 19, n. 1, p. 9-20, 2018.
- VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA, M. R. **Chapter 2-Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power,** Editor (s): Maira Rubi Segura Campos. Bioactive Compounds, Woodhead Publishing, p. 33-50, 2019.
- XU, Dan; CHEN, Ting; LIU, Yumei. **The physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of chitosan–gelatin edible films incorporated with the extract from hop plant.** Polymer Bulletin, v. 78, p. 3607-3624, 2021.