

JANINE MAILHO GIMENIS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, FOTOPROTETORA E
ANTIGLICANTE DOS EXTRATOS DAS FOLHAS E FLORES DE *Moringa oleifera***

**ASSIS
2015**

JANINE MAILHO GIMENIS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, FOTOPROTETORA E
ANTIGLICANTE DOS EXTRATOS DAS FOLHAS E FLORES DE *Moringa oleifera***

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestra em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientador: Prof^o Dr^o Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Co-orientador: Prof^o Dr^o André Rolim Baby

ASSIS

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca da F.C.L. – Assis – UNESP

Gimenes, Janine Mailho
G491a Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e anti-
glicante dos extratos das folhas e flores de Moringa oleifera /
Janine Mailho Gimenes. - Assis, 2015
60 f. : il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras
de Assis – Universidade Estadual Paulista.

Orientador: Dr Regildo Márcio Gonçalves da Silva

1. Moringa oleifera. 2. Antioxidantes. 3. Protetores de raios solares.
4. Eletroforese. I. Título.

CDD 581.634

“Em todas estas coisas, porém somos mais que vencedores, por meio daquele que nos ama”

Romano 8:37

Dedico este trabalho a meus pais, **Luiz Carlos e Suely**,
por todo amor e exemplo de vida que foram a base da
minha formação humana. AMO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

Aos meus filhotes, *Clara e Francisco*, que são o meu bem mais valioso e a razão por meu viver.

A meu marido, *Sérgio*, o amor da minha vida, que há 23 anos me acompanha e me apóia em meus estudos e desafios profissionais.

A meu irmão, *Carlos Eduardo*, pelo amor e por tudo o que representa.

Ao professor *Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva*, que tive a oportunidade de descobrir que além de um excelente profissional é uma pessoa maravilhosa. Pela orientação, incentivo e confiança em mim depositados durante a realização deste trabalho, meus irrestritos agradecimentos.

Ao co-orientador, professor *Dr. André Rolim Baby* pela disponibilidade em orientar e colaborar com o trabalho e também por toda a gentileza.

À doutoranda *Camila*, do Departamento de Farmácia da Universidade de São Paulo, por todo o apoio na realização do teste com Labsphere.

À professora *Dra. Isabel Cristina Cherici Camargo* e à professora *Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima* que gentilmente aceitaram o convite para compor a banca.

Às colegas do mestrado, em especial à *Amanda Martins Viel* e *Amanda da Costa Gomes*, que me muito me ajudaram e acompanharam momentos importantes de alegrias e sufocos durante o curso.

Aos mestres que se formaram durante o período do meu mestrado, *Kamille, Pamela, Vanessa* e principalmente a *Patrícia*, que colaboraram com as metodologias e testes.

Aos colegas de laboratório, *Célia, Gustavo Martins, Gustavo Franciscatti* e *Valter*, pela troca de conhecimento e convívio.

À querida *Gislaine* pela grande colaboração no teste hemolítico.

Aos funcionários da Universidade Estadual Paulista, em especial a *Amábile*, pela disposição e auxílios prestados.

À todos os professores do mestrado que de alguma forma contribuíram para minha formação, meus sinceros agradecimentos.

GIMENIS, Janine Mailho. **Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicante dos extratos das folhas e flores de *Moringa oleifera***. 2015. 60f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2015.

RESUMO

O desenvolvimento de novos fármacos com ação antioxidante tem sido um importante objeto de estudo, uma vez que a terapêutica farmacológica atual para o tratamento de doenças como Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla, doença de Huntington, epilepsia e alguns tipos de neoplasias pode ser realizada devido às propriedades antioxidantes de muitos compostos naturais e/ou sintéticos. Dessa forma, a busca por novos agentes antioxidantes é extremamente necessária e atualmente é objeto de interesse em novas pesquisas pela indústria cosmética, farmacêutica e nutricional. Neste contexto, este trabalho irá permitir o aumento do conhecimento sobre *Moringa oleifera* por meio da avaliação do potencial antioxidante, fotoprotetor e antiglicação dos extratos desta espécie, além de elucidar relatos etnobotânicos de sua utilização e enriquecer o conhecimento científico desta espécie amplamente empregada como planta medicinal. Além disso, porque são reduzidas as informações científicas sobre as atividades que serão avaliadas neste projeto.

Palavras chave: *Moringa oleifera*. Antioxidantes. Protetores de Raios Solares. Eletroforese.

GIMENIS, Janine Mailho. **Evaluation antioxidant, sunscreen and antiglycation activity of the extracts from leaves and flowers of *Moringa oleifera***. 2015. 60f. Dissertation (Master in Biosciences). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2015.

ABSTRACT

The development of new drugs with antioxidant action has been an important subject of study, since the current drug therapy for the treatment of diseases such as Alzheimer's, Parkinson's, multiple sclerosis, Huntington's disease, epilepsy and some types of cancer can be performed because the antioxidant properties of many natural and / or synthetic compounds. Thus, the search for new antioxidants is extremely necessary and is currently the subject of interest in new research by the cosmetic, pharmaceutical and nutritional industry. In this context, this work will enable increased knowledge on *Moringa oleifera* by evaluating the antioxidant potential, sunscreen and anti-glycation of the extracts of this species, besides elucidating ethnobotanical reports of its use and enrich the scientific knowledge of this widely used species with medicinal plant. In addition they are reduced scientific information on the activities to be evaluated in this project.

Keywords: *Moringa oleifera*. Antioxidants. Sun Protection Factor (SPF). Electrophoresis.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
OBJETIVOS	18
REFERÊNCIAS	19
Capítulo Único	
Resumo	24
1 Introdução	25
2 Material e Métodos	26
3 Resultados.....	31
4 Discussão	38
4 Conclusão	41
5 Referências.....	41
Anexo 1.....	47

Introdução Geral

Produtos Naturais e Estresse oxidativo

Os estudos de produtos naturais têm adquirido relevância significativa quando são pautados os benefícios trazidos à população e a facilidade de acesso a várias espécies de plantas medicinais com atividade terapêutica (BARBOZA et al., 2012). A utilização prática de plantas com fins medicinais é realizada pelo homem desde a sua antiguidade e o benefício dos princípios ativos vegetais é amplamente difundido para fins farmacológicos, devido a diversas propriedades importantes que estes podem desempenhar no organismo (BAQUERO et al., 2013). Os produtos naturais, então, entram nesse processo como um componente da biodiversidade de importância econômica e para a saúde, em função de sua fácil aceitabilidade, disponibilidade e baixo custo (VARANDA, 2006; MOTTA et al., 2013).

Dentro deste contexto, uma propriedade bastante pesquisada em alguns vegetais é a sua função antiradicalar, ou seja, sequestradora de radicais livres. Sendo estes radicais, caracterizados como todo átomo ou molécula que contém um ou mais elétrons desemparelhados sendo constantemente formado em processos biológicos e pode ser removido por defesas antioxidantes (TIRZITIS e BARTOSZ, 2010). Os radicais livres, na forma de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), são uma parte integrante da fisiologia normal. No entanto, as EROs exercem um papel importante nos processos degenerativos ou patológicos em várias doenças humanas, como o envelhecimento, câncer, doenças coronarianas, doença de Alzheimer, desordens neurodegenerativas, aterosclerose e inflamação (MORAIS et al., 2013). Os radicais livres são capazes de causar modificações estruturais por serem altamente reativos

com moléculas de DNA, proteínas, carboidratos e/ou lipídios, levando-os a estados patológicos ou a apoptose (TEIXEIRA e GUARIENTO, 2010).

Sendo assim, substâncias antioxidantes em sistemas biológicos têm múltiplas funções, que incluem proteção contra danos do estresse oxidativo e prevenção dos danos causados pelas EROs e ERNs (BARBOSA et al., 2014). As plantas são fonte de ampla variedade de moléculas sequestradoras de radicais livres, como os compostos fenólicos, os flavonoides, cumarinas e quinonas. Além destes, apresentam compostos nitrogenados como os alcaloides e também os terpenoides, assim como alguns outros metabólitos com potencial antioxidante (ROLIM et al., 2013; CASTILLO et al., 2013).

Diante disso, o desenvolvimento de novos fármacos com ação antioxidante tem sido um importante objeto de estudo, uma vez que a terapêutica farmacológica atual para o tratamento de doenças como Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla, doença de Huntington, epilepsia e alguns tipos de neoplasias pode ser realizada devido às propriedades antioxidantes de muitos compostos naturais e/ou sintéticos (REED, 2011; PEREIRA e CARDOSO, 2012). Os compostos antioxidantes podem exercer efeitos neuroprotetores, e esses resultados podem estar associados à inibição da produção de radicais livres (TOME et al., 2010). Além disso, compostos com ação antioxidante podem retardar o envelhecimento. Dessa forma, a busca por novos agentes antioxidantes é extremamente necessária e atualmente é objeto de interesse em novas pesquisas pela indústria cosmética, farmacêutica e de nutrição (COSTA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014).

Potencial Antioxidante e Fotoproteção

Além da atividade antioxidante o estudo do potencial fotoprotetor tem sido cada vez mais explorado, pois estudos recentes têm demonstrado que compostos de origem vegetal possuem ações fotoprotetoras passíveis de serem aplicadas tanto na utilização tópica quanto interna (EINSPAHR et al., 2003; ROSA et al., 2008 e ZAID et al., 2009). Os testes de fotoproteção *in vitro*, por meio da análise espectrofotométrica, visam verificar a presença de compostos capazes de bloquear e/ou filtrar radiações (UVA e UVB), vem sendo amplamente utilizada para verificação do potencial fotoprotetor de extratos vegetais (BOBIN et al., 1994; MORLEY et al., 2005; VELASCO et al., 2008; VIOLANTE et al., 2009).

Os protetores solares atuam como adjuvantes na redução da incidência de câncer de pele e dos sinais de envelhecimento, porém, atualmente, devido ao histórico dos eventos adversos ocasionados pelo uso tópico de grandes concentrações de filtros químicos, a tendência no mercado de fotoprotetores é o desenvolvimento de formulações contendo reduzida concentração de filtros químicos, mas com manutenção da ampla proteção frente às radiações UVA e UVB (NISHIKAWA et al., 2013). A ação da exposição solar crônica sobre o metabolismo das células da pele, queratinócitos e fibroblastos, gera uma sobrecarga de radicais livres, que acabam esgotando os mecanismos celulares de defesa, quando então a célula inicia o processo de senescência (OLIVEIRA e ALMEIDA, 2012; FARINATTI, 2002). Nesta situação, o estresse oxidativo causa mutações genéticas no DNA, defeitos e alterações funcionais das proteínas e peroxidação dos lipídios das membranas celulares, influenciando na sua permeabilidade, com alterações no transporte e nas sinalizações transmembrânicas (DOURADO e PEREIRA, 2014). O DNA e as proteínas celulares são cromóforos, ou seja, absorvem a radiação UV A e B

sofrendo ação direta que se soma aos efeitos sobre as membranas celulares (NISHIKAWA et al., 2013).

Potencial Antioxidante e Ação Antiglicante

Outro processo degenerativo correlacionado ao estresse oxidativo é o processo de glicação, pois diferentes estudos têm demonstrado que este processo está correlacionado de forma viciosa com a oxidação do organismo (BARBOSA et al., 2008). Esta é descrita como um amplificador e integrador de danos oxidativos, sendo assim, necessário suprimir todos os fatores correlacionados à glicação para proteger as células dos efeitos do estresse oxidativo. Os antioxidantes, por sua vez, são os compostos responsáveis por tal proteção, entretanto, apesar dos antioxidantes combaterem o estresse oxidativo, eles são quebrados pela glicação, não sendo, desse modo, suficientes para proteger as células dos danos oxidativos devido à glicação (RAMKISSOON et al., 2013; FERREIRA et al., 2011).

Dentro deste contexto, o processo de glicação baseia-se em uma adição não enzimática de açúcares redutores e/ou seus produtos degradados reativos em grupos primários ou secundários de proteínas (MAILLARD, 1912; THORNALLEY et al., 1999). Há dois diferentes estágios de glicação, o estágio primário e o estágio avançado. No primeiro estágio da glicação, o grupo amino da proteína reage com o grupo aldeído do açúcar fisiológico para promover a formação da base Schiff, que, com o tempo, é rearranjado, formando os chamados produtos Amadori (HO et al., 2010).

Por sua vez, o segundo estágio da glicação, também conhecido como estágio avançado da glicação, é o estágio que pode provocar doenças, tais como, complicações microvasculares, arteriosclerose, nefropatia, retinopatia e neuropatia.

Além disso, os produtos finais da glicação são produzidos de forma acelerada em pacientes glicêmicos, como no caso da diabetes mellitus (VLASSARA et al., 1994; BROWNLEE, 2001; AHMED, 2005). Esse estágio baseia-se na transformação dos produtos Amadori em dicarbonil intermediários reativos, como metilglioxal (MGO), que pode então reagir com resíduos de proteínas, como lisina, arginina e cisteína, formando inúmeros produtos com ligações *crosslinks* através de uma cascata de reações complexas que envolvem desidratação, oxidação, fragmentação e condensação (HOEt al., 2010).

Estudos demonstram que os produtos finais de glicação são acumulados principalmente em proteínas de vida longa, como o colágeno, componente da matriz extracelular. Nesse caso, o acúmulo desses compostos pode alterar as propriedades físico-químicas e funcionais do colágeno, influenciando, por exemplo, na elasticidade vascular (BROWNLEE et al., 1988). Os produtos finais da glicação podem também se ligar a receptores específicos da membrana celular, como o receptor nuclear kB (NF-kB), que induz a expressão de mediadores inflamatórios e elícita o estresse oxidativo, que promove danos às células (STERN et al., 2002).

Compostos Naturais Antioxidantes e *Moringa oleifera*

Diante do exposto acima, torna-se premente a investigação de novas fontes e novos compostos naturais capazes de atuar como: antioxidantes, principalmente nas complicações fisiológicas e patológicas promovidas pela exposição excessiva aos raios ultravioleta e ao processo de glicação, sendo assim, esta investigação é beneficiada principalmente pela diversidade dos compostos vegetais nas diferentes espécies, e entre estas se destaca a *Moringa oleifera* Lam., por inúmeros trabalhos que relatam seus benefícios tanto farmacológicos, como alimentícios. Esta espécie

pertence ao gênero *Moringa*, único representante da família Moringaceae; é constituída por 14 espécies amplamente distribuídas nas regiões tropicais do planeta (ANWAR et al., 2007; ABDULKARIM et al., 2004). Dentre as espécies descritas para o gênero, destaca-se a *M. oleifera*, conhecida popularmente por “moringa”, “quiabo-de-quina” ou “lírio” (MATOS, 2002). Originária do noroeste da Índia, é amplamente distribuída nos países da Ásia e da África (MATOS, 2002; BEZERRA et al., 2004). Essa planta cresce facilmente, mesmo em solos pobres, atingindo cerca de 10 metros de altura. Apresenta longas vagens verdes, sementes aladas, folhas grandes e flores brancas perfumadas (Figura 1).

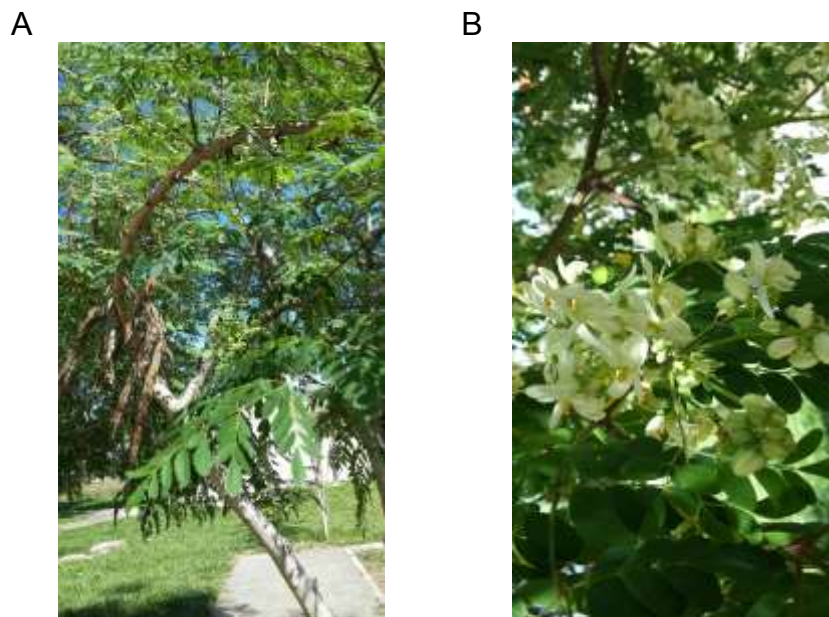


Figura 1- **(A)**Parte aérea (caule, folhas e frutos) e **(B)** Reprodutiva (flores) de *Moringa oleifera*

No Brasil, a moringa foi introduzida como planta ornamental por volta de 1950 (MATOS, 2002) e desde então, tem sido amplamente cultivada devido ao seu alto valor alimentício, principalmente das folhas, ricas em caroteno, ácido ascórbico e ferro (BEZERRA et al., 2004). Os cotilédones e tegumentos das sementes (Figura 2) de *M. oleifera* contêm proteínas com alta capacidade de coagulação e, portanto, são utilizadas na purificação e clarificação de águas naturais (OKUDA et al., 2001;

BENNETT et al., 2003; BEZERRA et al., 2004; GHEBREMICHAEL et al., 2005). Variadas propriedades terapêuticas são atribuídas à moringa, tais como estimulante cardíaco e circulatório (ANWAR et al., 2007), antitumoral, antipirética, antiepilética, antiespasmódica, diurética, hepatoprotetora (ANWAR et al., 2007), no combate a inflamações, hipertensão arterial (ANWAR et al., 2007) e antidiarréica (BENNETT et al., 2003). Algumas atividades biológicas foram descritas na literatura para *M. oleifera*, dentre estas, destacam-se: antimicrobiana (MATOS, 2002), antitumoral (GUEVARA et al., 1999), hepatoprotetora (BENNETT et al., 2003), antiespasmódica, diurética (CÁCERES et al., 1992) e antifúngica (CHUANG et al., 2007).



Figura 2 – **(A)** Frutos e **(B)** Sementes de *Moringa oleifera* (flores).

Os relatos sobre estudos químicos de Moringa descrevem que plantas deste gênero são ricas em α - e γ -tocoferóis (SÁNCHEZ-MACHADO et al., 2006), glicosinolatos, nitrilas, glicosídeos (GUEVARA et al., 1999; ABDULKARIM et al., 2004), quercetina, canferol (ANWAR et al., 2007), ramnosídeos, isotiocianatos e esteróides (EILERT et al., 1981; GUEVARA et al., 1999). Essa árvore apresenta importância econômica significativa com diversas utilidades na indústria e na medicina (BEZERRA et al., 2004). Diante da relevância que tem alcançado os estudos sobre as propriedades medicinais da *M. oleifera*, é de fundamental

importância que mais pesquisas explorem os demais benefícios que esta planta pode trazer à saúde.

Diante de todo exposto na introdução e considerando que é muito mais provável encontrar atividade biológica em plantas orientadas por sua utilização na medicina popular e validadas em parte por trabalhos científicos, a espécie *M. oleifera* foi promissora para uma avaliação *in vitro*, de suas potencialidades antioxidantes, fotoprotetora e antiglicantes, e assim aumentou o conhecimento sobre esta espécie e deu suporte e garantia na aplicação em ensaios *in vivo*, que visam análises mais profundas e aplicadas das mesmas.

Neste contexto, este trabalho se justificou por permitir o aumento do conhecimento sobre a espécie *M. oleifera* por meio da avaliação do potencial antioxidante, fotoprotetor e antiglicante dos extratos desta espécie, além de elucidar relatos etnobotânicos de sua utilização e enriquecer o conhecimento científico desta espécie amplamente empregada como planta medicinal. Além disso porque são reduzidas as informações científicas sobre as atividades que serão avaliadas neste projeto.

Objetivos

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade da *M. oleifera* quanto à:

1 - Atividade antioxidante, por meio dos testes *in vitro* de sequestro de radical livre estável DPPH, FRAP, TBARS, óxido nítrico e método hemolítico;

2 - Posterior atividade fotoprotetora *in vitro*, de acordo com análise espectrofotométrica;

3 - Atividade antiglicante da mobilidade proteica em eletroforese.

4 - Quantificação de fenóis, flavonoides totais e vitamina C presentes nos extratos das folhas e flores de *M. oleifera*.

Referências

ABDULKARIM, S. M.; LONG, K.; LAI, O. M.; MUHAMMAD, S. K. S.; GHAZALI, H. M. Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. **Journal Food Chemistry**, v. 93, p. 253-256, 2004.

AHMED, N. Advanced glycosylation end products – Role in pathology of diabetic complications. **Journal of Diabetes Research and Clinical Practice**, v.67, p. 3-21, 2005.

ALONSO, C.; BARBA, C.; RUBIO, L.; SCOTT, S; KILIMNIK, A; CODERCH, L; NOTARIO, J.; PARRA, J.L. An ex vivo methodology to assess the lipid peroxidation in stratum corneum. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v.97, p.71-76, 2009.

ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, AH. *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 17-25, 2007.

BAQUERO, L. C. P.; GORDILLO, J. V.; FERNANDEZ, M. R. R.; ARIAS, R. S.; RODRIGUEZ, P. H. Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro espécies agroforestales de La Orinoquíacolombiana. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 1, p. 57-70, 2013.

BARBOSA, Marta Ribeiro; SILVA, Marina Medeiros de Araújo; WILLADINO, Lilia; ULISSES, Claudia; CAMARA, Terezinha Rangel. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.

BARBOSA, J. H. P.; OLIVEIRA, S. L.; SEARA, L. T. O Papel dos Produtos Finais da Glicação Avançada (AGEs) no Desencadeamento das Complicações Vasculares do Diabetes. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 2008.

BARBOZA, N. C. S.; REGIS, A. C. D.; ESQUIBEL, M. A.; SANTOS, J. E. S.; ALMEIDA, M. Z. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola da Barra II – Bahia, Brasil. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 11, n. 5, p. 435-453, 2012.

BENNETT, RN.; MELLON, FA.; FOIDL, N.; PRATT, JH.; DUPONT, MS.; PERKINS, L.; KROON, PA. Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* L. (*Horseradish Tree*) and *Moringastenopetala* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 3546-3553, 2003.

BEZERRA, AME.; MOMENTE, VG.; MEDEIROS, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Revista da Associação Brasileira de Horticultura**, v. 22, p. 295-299, 2004.

BOBIN, J.Y.; RIVOIRE, M.; DELAY, E. Radiation induced sarcomas following treatment for breast cancer. **Journal of Surgical Oncology**, v. 57, p. 171-177, 1994.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Journal Nature**, v. 414, p. 813–820, 2001.

BROWNLEE, M.; CERAMI, A.; VLASSARA, H. Advanced glycosylation end products in tissue and biochemical basis of diabetic complications. **New England Journal of Medicine**, v. 318, p.1315-1321, 1998.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. **Methods in enzymology**, v. 52, p. 302-310, 1978.

CACERES, A.; SARAIVA, A.; RIZZO, S.; ZABALA, L.; DE LEON, E.; NAVE, F. Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 2: Screening for antispasmodic, antiinflammatory and diuretic activity. **Journal of Ethnopharmacology at ScienceDirect**, v. 36, p. 233-237, 1992.

CAPRIOLI, I.; O'SULLIVAN, M.; MONAHAN, F. J. Interference of sodium caseinate in the TBARS assay. **Journal Food Chemistry**, v.124, p.1284-1287, 2011.

CASTILLO, J. A. T.; SINAGAWA, S. R. G.; MARTINEZ, G. C. G. A.; LOPEZ, A. B. F.; SANCHEZ, E. I. G.; AGUIRRE, V. E. A.; TORRES, R. I. A.; OLIVARES, E. S.; OSORIO, E. H.; GUTIERREZ, A. D. *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. **Journal of Experimental Botany**, v.82, p. 193-202, 2013.

CHUANG, PH.; LEE, CW.; CHOU, JY.; MURUGAN, M.; SHIEN, BJ.; CHEN, HM. Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. **Journal Bioresource Technology**, v. 98, p. 232-236, 2007.

DOURADO, D.; PEREIRA, N. P. FORECASTING TECHNOLOGY: SUNSCREENS ANTI UVA AND ANTI UVB. **Revista GEINTEC**, v. 4, n. 1, p. 533-542, 2014.

EILERT, U.; WOLTERS, B.; NAHRSTED, A. The antibiotic principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*. **Planta Medica Journal**, v. 42, p. 55-61, 1981.

EINSPAHR, J. G.; BOWDEN, G. T.; ALBERTS, D. S. Skin cancer chemoprevention: strategies to save our skin. In: Tumor Prevention and Genetics. **Journal Springer Berlin Heidelberg**, p. 151-164, 2003.

FARINATTI, P. T. V. Teorias biológicas do envelhecimento: do genético ao estocástico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 8, n. 4, 2002.

FERREIRA, A. L. A.; CORREA, C. R.; FREIRE, C. M. M.; MOREIRA, P. L.; BERCHIERI-RONCHI, C. B.; REIS, R. A. S.; NOGUEIRA, C. R. Síndrome metabólica: atualização de critérios diagnósticos e impacto do estresse oxidativo na patogênese. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 9, n. 1, p. 54-61, 2011.

GHEBREMICHAEL, KA.; GUNARATNA, KR.; HENRIKSSON, H.; BRUMER, H.; DALHAMMAR, G. A simple purification and activity assay of the coagulant protein from *Moringa oleifera* seed. **Journal Water Research**, v. 39, p. 2338-2344, 2005.

GUEVARA, AP.; VARGAS, C.; SAKURAI, H.; FUJIWARA, Y.; HASHIMOTO, K.; MAOKA, T.; KOZUKA, M.; ITO, Y.; TOKUDA, H.; NISHINO, H. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. **Mutation Research Journal**, v. 440, p. 181-188, 1999.

HO, S.C.; WU, S.P.; LIN, S.M.; TANG, Y.L. Comparison of anti-glycation capacities of several herbal infusions with that of green tea. **Journal Food Chemistry**, v.122, p.768-774, 2010.

MAILLARD, L.C. Action des acides amines sur les sucres: formation des melanoidines par voie methodique. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, v.154, p. 66-8, 1912.

MATOS, F. J. A. Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4ª Ed. Fortaleza: **Editora UFC, SEBRAE/CE**, 2002.

MORAIS, M. L.; SILVA, A. C. R.; ARAUJO, C. R. R.; ESTEVES, E. A.; PINTO, N. A. V. D. Determinação do potencial antioxidante *in vitro* de frutos do Cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 2, p. 355-360, 2013.

MORLEY, N.; CLIFFORD, T.; SALTER, L.; CAMPBELL, S.; GOULD, D.; CURNOW, A. The green tea polyphenol epigallocatechingallate and green tea can protect human cellular DNA from ultraviolet and visible radiation-induced damage. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, v. 21, p. 15-22. 2005.

MOTTA, E.V.S.1; PINTO, N.C.C.1; DUQUE, A.P.N.1; MENDES, R. F.1; BELLOZI, M.Q.1; SCIO, E. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucunapruriens*(L.) DC. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.2, p.264-272, 2013.

NISHIKAWA, D. O.; PERES, D. A.; OLIVEIRA, C. A.; SILVA, V. R. L.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R.; BABY, A. R. Stability and efficacy of sunscreens containing inorganic filters and quercetin. **Biomedical and Biopharmaceutical Research**, v. 10, n. 1, p. 91-100, 2013.

OKUDA, T.; BAES, A. U.; NISHIJIMA, W.; OKADA, M. Isolation and characterization of coagulant extracted from *Moringa oleifera* seed by salt solution. **Water Research**, v. 35, p. 405-410, 2001.

OLIVEIRA, G. L. S.; FREITAS, R. L. M.; DAVID, J. M.; FREITAS, R. M. NEOFLAVONOIDS WITH IMPLICATIONS ON THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM: AN TECNOLÓGICA FORECASTING. **Revista GEINTEC**, v. 4, n. 1, p. 575-587, 2014.

OLIVEIRA, R. G. J.; ALMEIDA, J. R. G. S. Prospecção Tecnológica de Fotoprotetores Derivados de Produtos Naturais. **Revista GEINTEC**, v. 3, n. 1, p. 32-40, 2012.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.

RAMKISSOON, J. S.; MAHOMOODALLY, M. F.; AHMED, N.; SUBRATTY, A. H. Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. **Asian Pacific Journal of Tropic Medicine**, p. 561-569, 2013.

REED, T. T. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, p. 1302-1319, 2011.

ROLIM, T. L.; WANDERLEY, F. T. S.; CUNHA, E. V. L.; TAVARES, J. F.; OLIVEIRA, A. M. F.; ASSIS, T. S. CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Byrsonimagardneriana* (Malpighiaceae). **Química Nova**, v. 36, n. 4, p. 524-527, 2013.

SANCHEZ-MACHADO, D. I.; LOPEZ-CERVANTES, J.; VAZQUEZ, N. J. R. High-performance liquid chromatography method to measure α - and γ -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. **Journal of Chromatography**, v. 1105, p. 111-114, 2006.

SINGLETON, V.L., ROSSI, J.A. Jr., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, 144-158.

STERN, D. M., YAN, S. D., YAN, S. F., & SCHMIDT, A. M. Receptors for advanced glycation endproducts (RAGE) and the complications of diabetes. **Ageing Research Reviews**, v. 1, p. 1-15, 2002.

TEIXEIRA, I. N. A. O.; GUARIENTO, M. E. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. **Ciências Saúde Coletiva** [online], v.15, n. 6, p. 2845-2857, 2010.

THORNALLEY, P.J.; LANGBORG, A.; MINHAS, H.S. Formation of glyoxal, methylglyoxal and 3-deoxyglucosone in the glycation of proteins by glucose. **Biochemical Journal**, v. 344, p. 109-116, 1999.

TIRZITIS, G.; BARTOSZ, G. Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. **Acta Biochimica Polonica**, v. 57, n. 1, p. 139-142, 2010.

TOME, A. R.; FERREIRA, P. M. P.; FREITAS, R. M. Inhibitory action of antioxidants (ascorbic acid or α -tocopherol) on seizures and brain damage induced by pilocarpine in rats. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. [online], v.68, n.3, p. 355-361, 2010.

VARANDA, E. A. Atividade mutagênica de plantas medicinais. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n.1, p.1-7, 2006

VELASCO, M. V. R.; SARRUF, F. D.; SALGADO-SANTOS, I. M. N.; HAROUTIOUNIAN-FILHO, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 363, n. 1-2, p. 50, 2008.

VINSON, J.A.; HOWARD JR, T.B. Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 7, p. 659-663, 1996.

VIOLANTE, I. M.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F.; SANTOS, R. A.; FERRARI, M. Avaliação in vitro da atividade fotoprotetora de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 452-457, 2009.

VLISSARA, H.; BUCALA, R.; & STRIKER, L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: Biochemical, biologic and clinical implications for diabetes and ageing. **Laboratory Investigation**, v. 70, p. 138–151, 1994.

ZAID, M.A.; AFAQ, F.; SYED, D.N.; MUKHTAR, H. Botanical antioxidants for protection against damage from sunlight. In: AARON, T.; BLAIR, R.M, **Nutritional Cosmetics: Beauty from Within**, Oxford, William Andrew Inc, p. 159–183, 2009.

Capítulo Único

Industrial Crops and Products

Avaliação da atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicante dos extratos das folhas e flores de *Moringa oleifera*

Janine M. Gimenis^a, Patrícia A. Figueiredo^a, Amanda C. Gomes^a, Célia M. Figueiredo^a, Gustavo R. Martins^a, Luciana P. Silva^b, Camila A. Oliveira^c, André R. Baby^c, Regildo M. G. Silva^{a1}

^aUniversidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Departamento de Ciências Biológicas - Laboratório de Fitoterápicos, Avenida Dom Antônio 2100, CEP: 19806-900, Assis, São Paulo, Brazil.

^bFundação Educacional do Município de Assis (FEMA), Assis, São Paulo, Brasil.

^cUniversidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia. Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Laboratório de Cosmetologia, Butantan, 05508-900, São Paulo, Brazil.

¹Autor para correspondência
Tel.: +5518 33025800;
e-mail: regildos@yahoo.com.br

Resumo

Moringa oleifera é uma planta com várias atividades biológicas e propriedades terapêuticas. No entanto, o conhecimento completo sobre os tipos de metabólitos que estão presentes em cada parte vegetal, e os seus efeitos farmacológicos, biológicos e ecológicos não estão totalmente elucidados. Diante disso este estudo objetivou avaliar a atividade antioxidante, fotoprotetora e antiglicante de diferentes extratos de folhas e flores de *M. oleifera*. Estas atividades foram avaliadas por meio dos testes *in vitro* de sequestro de radical livre estável DPPH, efeito quelante do íon ferro (FRAP), da peroxidação lipídica (TBARS), sequestro do óxido nítrico e pelo método hemolítico. A atividade fotoprotetora foi avaliada por meio da análise espectrofotométrica e a antiglicante utilizando a mobilidade proteica em eletroforese. Foi determinado também o conteúdo fenólico e de flavonoides totais e quantificada o teor de vitamina C presente nos extratos. Os resultados obtidos demonstraram que esta espécie possui componentes com potencialidade antioxidante de acordo com as metodologias adotadas, fotoprotetora e antiglicante, principalmente nos extratos obtidos das folhas e flores frescas. Diante disso foi possível constatar que *M. oleifera* possui potencial para ser utilizada como fonte de compostos antioxidantes com atividade fotoprotetora e antiglicante, principalmente devido à presença de compostos fenólicos e entre estes os flavonoides.

Palavras Chave: DPPH, TBARS, NO, fator de proteção solar, glicação, *Moringa oleifera*.

1 – Introdução

Moringa oleifera é uma árvore amplamente cultivada e considerada como uma planta com muitas utilidades e aplicações. Entre essas, inclui sua utilização como alimento funcional e suas sementes se extrai um material utilizado para a clarificação de água e um óleo para a produção de biocombustíveis, entre outras aplicações (Silva et al., 2013; Arantes et al., 2015; Fernandes et al., 2015). Na medicina popular ela é empregada como medicamento para diferentes doenças e sintomas e estes benefícios têm sido associados com metabólitos presentes em sua composição, como os polifenóis, vitaminas e proteínas (Adedapo et al., 2009; Verma et al., 2009; Arora e Onsure 2014). Contudo, o conhecimento completo sobre os tipos de metabólitos que estão presentes em cada órgão, e os seus papéis farmacológicos, biológicos e ecológicos, não estão completamente elucidados (Torres-Castillo et al., 2013).

Alguns estudos sobre caracterização macromolecular na planta foram realizados nos últimos anos, incluindo uma proteína com a capacidade de aglutinar inibidores de proteases, lectinas, carboidratos e conteúdos lipídicos (Santos et al., 2005). Diferentes partes da planta, incluindo folhas, caule, raízes, sementes e flores foram relatadas como fonte de diferentes compostos bioquímicos com ação anticancerígena, antiinflamatória, antidiabética, antioxidante e antimicrobiana (Sixl-Daniell et al., 2011). Estudos recentes demonstram que *M. oleifera* contém aminoácidos essenciais, carotenoides e componentes com propriedades nutracêuticas, comprovando sua importância na preparação de alimentos e seu valor como suplemento nutricional (Moyo et al., 2012; Martin et al., 2013; Teixeira et al., 2014).

No que diz respeito aos estudos farmacológicos da *M. oleifera* vários trabalhos científicos já foram realizados (Chumark et al., 2008; Singh et al., 2009; Sixl-Daniell et al., 2011; Shaban et al., 2012; Vongsak et al., 2013). Porém, a investigação do potencial antioxidante associado às atividades fotoprotetora e antiglicante é desconhecida. Diante disso, este estudo teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante, por meio dos testes *in vitro* de sequestro de radical livre estável DPPH, efeito quelante do íon ferro (FRAP), da peroxidação lipídica (TBARS) e sequestro do óxido nítrico dos extratos das folhas e flores de *M. oleifera*. Neste estudo foi avaliada a atividade fotoprotetora por meio da análise espectrofotométrica e antiglicante utilizando a mobilidade proteica em eletroforese, assim como o conteúdo fenólico e de flavonoides totais e quantificou a vitamina C presente nos extratos das folhas e flores de *M. oleifera*.

2 - Material e Métodos

2.1 - Reagentes

Os reagentes utilizados nos testes antioxidantes, Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico), DPPH (2,2-difenil-1-picril hidrazil), TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina), AAPH (dihidrocloridrato do 2,2'-azobis-(2-metilpropanoamidina)) foram adquiridos da *Sigma Chemical Company* (Brasil). Todos os outros reagentes utilizados neste estudo foram de grau analítico.

2.2 - Coleta e preparação do Material vegetal

As partes vegetais (folhas e flores) de *Moringa oleifera* foram coletadas no Campus da Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista (22°39'00,66''S e 50°26'15,86''O, altitude 845m). A coleta foi realizada em três indivíduos, durante o verão, de forma sustentável e sem causar impacto ambiental para os espécimes.

As folhas e flores foram primeiramente selecionadas, limpas, e depois submetidas ao processo de secagem, separadamente, em estufa de ar circulante (Cienlab, Brasil), à temperatura de 40°C, até obter a propriedade organoléptica da cor própria para a trituração. Cada parte vegetal foi triturada em moinho (Cienlab, CE-430, Brasil). Os pós resultantes foram armazenados em frascos plásticos escuros e com tampa revestida de sílica para manter uma baixa umidade.

2.3 - Preparação dos Extratos

2.3.1 - Extrato aquoso fresco e liofilizado

As folhas e flores frescas da *M. oleifera* foram trituradas em processador com água deionizada na proporção de 1:10 (p:v) por 5 minutos. Após este período, os extratos obtidos foram filtrados à vácuo em papel filtro. Em seguida foram utilizados nos ensaios. Para obtenção do extrato fresco liofilizado, o extrato liquefeito e filtrado das folhas e flores frescas foram congelados e liofilizados (Liotop, L101, Brasil).

2.3.2 - Extrato hidroetanólico

Os extratos hidroetanólicos das folhas e flores secas da *M. oleifera* foram preparados na proporção de 1:10 (p/v) com solução de etanol a 70% em água deionizada, por maceração mecânica e ao abrigo da luz por 24 horas. Após este período, o extrato obtido foi filtrado a

vácuo e o resíduo vegetal reextraído por duas vezes. Os volumes resultantes das três extrações foram reunidos e concentrados em evaporador rotativo (Marconi, MA-120, Brasil) sob vácuo. O extrato resultante foi congelado a -18°C e posteriormente foi liofilizado.

2.3.3 - Extrato etanólico

Os extratos etanólicos das folhas e flores secas da *M. oleifera* foram preparados na proporção de 1:10 (p/v) de etanol PA e submetidos à agitação mecânica por um período de 24 horas em temperatura ambiente, logo após foram filtrados a vácuo e os resíduos vegetais extraídos novamente por duas vezes. Os extratos resultantes foram reunidos e levados ao evaporador rotativo e posteriormente em uma estufa para secagem.

2.4 – Ensaios *in vitro* do potencial antioxidante

2.4.1 – Sequestro do radical DPPH.

A atividade sequestradora do radical DPPH foi determinada nos extratos diluídos em álcool etílico absoluto nas concentrações de 1000, 2000, 3000, 5000 e 10000 $\mu\text{g/mL}$, de acordo com a técnica descrita por Blois (1958) e Brand-Williams et al. (1995). A atividade sequestradora do radical DPPH foi expressa em porcentagem, sendo calculada de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) / A_{\text{controle}}] \times 100$$

Onde A_{amostra} é a absorbância das amostras após 30 minutos e A_{controle} é a absorbância do controle. A concentração ($\mu\text{g/mL}$) da amostra necessária para sequestrar 50% da concentração inicial de DPPH (EC50) foi calculada. Ácido gálico foi utilizado como controle positivo.

2.4.2 – Teste do poder antioxidante de redução do Ferro (FRAP).

A capacidade antioxidante de redução do ferro foi determinada pelo método FRAP de acordo com Benzie e Strain (1996). No escuro, o reagente FRAP foi preparado com 25mL de tampão acetato 300mM (pH 3,6), 2,5mL de TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) 10mM em solução de HCl a 40mM e 2,5mL de FeCl_3 20mM. Foram misturados 90 μL das amostras nas concentrações de 1000, 2000, 3000, 5000 e 10000 $\mu\text{g/mL}$ ou padrão com 270 μL de água ultrapura e 2,7ml do reagente FRAP. Em seguida, foram agitados em vórtex (Marconi, Brasil) e mantidos em banho-maria (Cienlab, Brasil) por 30 minutos a 37°C . Depois de resfriadas as amostras e padrão, foram lidas a 595nm em espectrofotômetro UV- visível. Os resultados foram expressos em μM equivalente de Trolox (ET) por g de extrato seco.

2.4.3 -Determinação da peroxidação lipídica (TBARS).

A determinação do conteúdo de substâncias reativas com o ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Esterbauer e Cheeseman, 1990) foi realizada para quantificar o nível de inibição da peroxidação lipídica de acordo com metodologia descrita por Costa et al. (2012). A gema de ovo utilizada como substrato rico em lipídios (Guimarães et al., 2010), foi homogeneizada (1%, w/v) em tampão fosfato 50mM (pH 7,4). Deste homogenato, 0,5mL foi sonicado e com 0,1mL dos extratos (3000, 5000 e 10000 µg/mL) ou controle positivo (Trolox 140 µg/mL). A peroxidação lipídica foi induzida pela adição de 0,1 mL de solução de 2,2'-azobis-2-amidinopropano (AAPH; 0,12 M), durante 30 min a 37°C. Após o resfriamento, foi adicionado 0,5mL de ácido tricloroacético (15%) e 0,5mL de ácido tiobarbitúrico (0,67%) e aquecido a 97°C por 15 minutos para obtenção da cor rosa. As amostras foram centrifugadas com 1mL de n-butanol a 1200 rpm durante 10 min. Após o resfriamento, as absorbâncias dos sobrenadantes dos tubos foram medidas a 532 nm utilizando um espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em porcentagem de TBARS: $(A_{\text{CONTROLE}} - A_{\text{AMOSTRA}} \times 100 / A_{\text{CONTROLE}})$. Onde A_{CONTROLE} é a absorbância obtida apenas com AAPH sozinho e A_{CONTROLE} a absorbância das amostras com extrato ou com controle positivo.

2.4.4 – Óxido Nítrico.

A atividade de sequestro de radical NO foi determinada utilizando nitroprussiato de sódio (SNP) gerado no sistema de NO. O NO gerado pelo SNP em solução aquosa e em pH fisiológico reage com o oxigênio para produzir íons nitrito que foram mensurados pelo reagente Greiss (Green, 1982; Marocci, 1994). Em 320µL de cada extrato foram adicionados 360µL de solução de SNP (concentração final, 25mM) com 216 µL reagente Greiss em solução tampão de fosfato salino (PBS), em pH 7,4, foram incubados à 37°C por 150 minutos. Após 60 minutos da incubação, as absorbâncias das amostras foram mensuradas a 540nm e comparadas com a solução branca correspondente. As absorbâncias obtidas com os extratos foram submetidas à equação resultante da curva de calibração padrão de nitrito de sódio ($y=0,0052x+0,0349$).

2.4.5 – Atividade antioxidante pelo método hemolítico

2.4.5.1 - Obtenção de Eritrócitos

A obtenção dos eritrócitos foi realizada conforme protocolo de pesquisa submetido à Comissão de Ética em Pesquisa (processo nº 833.386, aprovado em 16/09/2014). O sangue foi coletado em tubos com EDTA de voluntários sadios por punção venosa. Logo após, o mesmo

foi centrifugado (2500rpm/5min, a temperatura ambiente) para obter a fração correspondente aos eritrócitos. Os eritrócitos foram lavados três vezes em Tampão Fosfato de Sódio (PBS) a 10mM, pH=7,4 contendo NaCl 150mM por centrifugação (2500rpm/5min). Posteriormente foi realizada a diluição para a obtenção da concentração de 10%.

2.4.5.2 - Ensaio de Hemólise

A ação do extrato sobre os eritrócitos foi avaliada tanto na ausência de radicais livres como na presença do radical 2,22-Azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH) de acordo com a metodologia descrita por Yang et al., 2006 e Banerjee et al., 2008.

Para avaliação do extrato sobre a lise de eritrócitos, 400µl da suspensão contendo 10% de eritrócito foi incubada com 200µl do extrato em diferentes concentrações e 5,0mL tampão fosfato de sódio (10mM/NaCl 150mM, pH=7,4), por 6 horas a 37°C, com agitação lenta e constante. O mesmo procedimento foi realizado com a inclusão do radical AAPH a 50mM. Após incubação, foi realizada a centrifugação (2500rpm/10min) obtendo-se o sobrenadante e a leitura foi realizada a cada 60 minutos.

Os graus de hemólise foram avaliados de acordo com a concentração de hemoglobina presente no sobrenadante, por meio da leitura da absorbância em 540nm. O grau de hemólise foi determinado de acordo com a equação: $\% \text{ hemólise} = 100 \times \frac{\text{Absorbância (teste)} - \text{Absorbância (controle negativo)}}{\text{Absorbância (controle positivo)} - \text{Absorbância (controle negativo)}}$ para a 3ª e 5ª hora de observação. Onde, o controle positivo representa 100% e hemólise, preparado com 400µL da solução de eritrócitos 400µL solução AAPH 50mM e 5,2mL de PBS; o controle negativo preparado com 400µL da solução de eritrócitos e 5,6mL de PBS.

2.5 – Atividade Fotoprotetora

2.5.1 Espectrofotométrico

Para a determinação da absorbância máxima (A máx.), os extratos secos na concentração de 10000 µg/mL foram diluídos em álcool etílico absoluto PA e os extratos aquosos das folhas e flores frescas foram preparados com água deionizada, no momento do teste, de acordo com o item 2.2.1. Foi realizada a varredura entre os comprimentos de onda de 290 a 400nm com intervalos de 5nm em espectrofotômetro, com cubeta de quartzo (1,0cm caminho óptico), para verificar a absorção nas regiões ultravioleta A e B (UVA e UVB). Foi utilizado o álcool etílico absoluto PA como branco e o experimento foi realizado em triplicata. Logo após foi realizada a análise das áreas sob as curvas encontradas na varredura dos

extratos em comparação com área de varredura do filtro padrão (Metoxicinamato de Octila, Sigma[®]), de acordo com o descrito por Rosa et al. (2008) e Velasco et al. (2011).

2.6 – Avaliação da atividade antiglicante

O teste da mobilidade relativa em eletroforese (MRE) foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Miura et al. (1994). BSA (0,3mg/mL de proteína) foi diluído em 10 mM tampão fosfato (PBS) em ribose (400 mM) e glioxal (MGO) (2,5 mM) a 37°C durante 24 h, na presença e ausência dos extratos vegetais (10000 µg/mL). A SDS-PAGE foi realizada com 4% de gel de empilhamento e 10% de gel de separação. Uma alíquota de solução de BSA glicada foi misturada com um volume igual de SDS tampão de amostra (20 mg/ml de SDS, 30% glicerol, 0,25 M tampão Tris-HCl, pH 6,8) e fervida por 3 minutos. Quinze microlitros da solução mista foram aplicados no gel de empilhamento e gel de separação e foi executado em uma corrente constante de 20mA, por aproximadamente 3 horas. Após a finalização da eletroforese, o gel foi fixado com etanol a 60%, e em seguida corado com Coomassie-Blue (R-250). Os resultados foram expressos na MRE utilizando o BSA nativo como a base.

2.7 - Determinação do conteúdo de fenóis totais

O conteúdo de fenóis totais foi determinado nos extratos diluídos nas concentrações de 1000, 2000, 3000, 5000 e 10000 µg/mL em álcool etílico absoluto, de acordo com o método colorimétrico do reagente fenol Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965) utilizando ácido gálico como padrão. Inicialmente foi adicionado 0,1mL das amostras a 5mL de água deionizada e 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu. Na amostra branco, foi misturado 5,1mL de água deionizada e 0,5mL do reagente Folin-Ciocalteu. Depois de misturadas, as amostras foram mantidas à temperatura ambiente por 3 minutos, em seguida, foi adicionado 1,4mL de solução de carbonato de sódio 25% e 3mL de água deionizada. A mistura permaneceu por 1 hora à temperatura ambiente no escuro e a absorbância foi mensurada a 765nm em espectrofotômetro UV-visível. O teor de fenóis totais foi determinado a partir de uma curva de calibração de ácido gálico e expressos como mg equivalente de ácido gálico (EAG) por g de extrato seco. Cada amostra foi testada em triplicata.

2.8 - Determinação do conteúdo de flavonoides totais

Os flavonoides totais foram mensurados pelo método de ensaio colorimétrico (Christ e Mueller, 1960). Foram misturados 1mL das amostras nas concentrações de 1000, 2000, 3000, 5000 e 10000 µg/mL com 4mL de etanol a 70% e 0,5mL de solução de NaNO₂ a 5%. Após 6

minutos, foi adicionado 0,5mL de solução AlCl_3 a 10% e 3mL de solução NaOH 1M, seguido por adição de água deionizada até obter o volume de 10mL. A mistura foi agitada e incubada por 15 minutos a temperatura ambiente, em seguida, submetida à leitura em espectrofotômetro UV-visível a um comprimento de onda de 510nm contra o controle. O controle continha todos os reagentes exceto a amostra. Os flavonoides foram calculados a partir da curva de calibração de rutina e expressos como mg equivalente rutina (ER) por grama de extrato seco. Cada amostra foi testada em triplicata.

2.9 – Quantificação de Vitamina C (ácido ascórbico)

A quantificação de vitamina C foi realizada por titulação pelo método de Tillmans (IAL, 1985) que se baseia na redução do 2,6-diclorofenol indofenol-sódio (DCFI) pelo ácido ascórbico. Para a padronização da solução titulante DCFI, 1mL de solução padrão de ácido ascórbico foi pipetado em balão de 25mL e completou-se o volume com solução de ácido oxálico 2%. Essa solução foi titulada a fim de obter o DCFI padrão. Para a titulação da amostra a ser quantificada, pesou-se 20g de amostra e 50g de solução de ácido oxálico 2%. Após serem misturados e homogeneizados, 20g desse extrato foi transferido para um balão de 50mL, completado com solução de ácido oxálico 2% e filtrado. Uma alíquota de 10mL do filtrado foi transferida para *erlenmeyer* e titulado com solução padrão de DCFI até o aparecimento de uma coloração rosa persistente durante 15 segundos (DCFI amostra). O teste foi realizado em triplicata e a quantificação de vitamina C foi expressa em mg/100g.

3 - Resultados

3.1 - Atividade antioxidante pelo método do DPPH e FRAP e determinação de fenóis e flavonoides totais.

Na Tabela 1 estão apresentados valores da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH e FRAP dos extratos hidroetanólico e etanólico de folhas e flores secas de *M. oleifera* em diferentes concentrações (1000, 2000, 3000, 5000 e 10000 $\mu\text{g/mL}$). Estes resultados demonstram que os extratos tanto hidroetanólico como etanólico apresentaram maior atividade antioxidante pelo método do DPPH para a concentração de 10000 $\mu\text{g/mL}$. O extrato das folhas secas apresentou os respectivos valores da atividade sequestradora do íon DPPH, 74,30% para o extrato hidroetanólico e 56,69% para o etanólico. Já os extratos de flores secas apresentaram 46,15% para o extrato hidroetanólico e 63,33% para o etanólico. Quanto ao controle positivo (ácido gálico), o mesmo apresentou 79,98 em uma concentração

de 80 µg/mL.

Empregando a metodologia de ação quelante do íon ferro (FRAP) é possível observar que os maiores valores foram obtidos para a concentração de 10000 µg/mL, sendo de 161,22 mM/mL ET para o extrato hidroetanólico da folha e 159,55 mM/mL ET para etanólico. Já para os extratos da flor seca o maior valor de FRAP foi observado para o extrato hidroetanólico na concentração de 5000 (117,89 mM/mL ET) e para o etanólico foi observado na concentração de 10000 µg/mL (143,44 mM/mL ET) (Tabela 1).

Na determinação do conteúdo fenólico e de flavonoides totais todos os extratos avaliados (folhas e flores secas) apresentaram maiores teores na concentração de 10000 µg/mL. Para os extratos de folhas secas o extrato hidroetanólico apresentou 161,42 mg/EAg de fenóis totais e 179,33 mg/ERu de flavonoides totais, já o extrato etanólico apresentou 165,58 mg/EAg de fenóis totais e 360,66 mg/ERu de flavonoides totais. No extrato das flores secas foi observado um teor fenólico de 116,42mg/EAg e flavonoídico de 89,00 mg/ERu, para o extrato hidroetanólico o teor fenólico total foi de 210,58mg/EAg e flavonoídico total foi de 373,17mg/ERu (Tabela 1).

Tabela 1 - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (%) e quelante de Ferro (FRAP em mM) e determinação de fenóis e flavonoides totais em extrato hidroetanólico e etanólico de folhas e flores secas de *Moringa oleifera*.

Extrato	Concentração (ug/mL)	Folha (seca) de <i>M. oleifera</i>				Flor (seca) de <i>M. oleifera</i>			
		DPPH	FRAP ^a	FT ^b	FIT ^c	DPPH	FRAP ^a	FT ^b	FIT ^c
Hidroetanólico	1000	6,02	-	20,58	40,67	1,46	15,11	17,25	15,70
	2000	16,87	39,00	41,42	37,33	4,39	40,11	33,08	23,17
	3000	23,69	78,44	49,75	51,50	8,06	73,44	53,92	-
	5000	39,36	122,89	93,08	95,67	19,05	117,89	67,25	51,50
	10000	74,30	161,22	161,42	179,33	46,15	4,60	116,42	89,00
Etanólico	1000	-	14,55	24,75	49,00	12,92	-	44,75	61,50
	2000	5,51	67,33	44,75	97,30	25,83	41,77	69,75	119,83
	3000	18,11	98,44	76,41	200,66	41,25	48,44	94,42	172,33
	5000	42,51	140,66	94,75	254,83	65,41	97,88	143,92	268,17
	10000	56,69	159,55	165,58	360,66	63,33	143,44	210,58	373,17
Ácido gálico	80	79,98							

^amM/mL equivalente Trolox; ^bequivalente mg de ácido gálico por g de extrato; ^cmgequivalente de rutina por g do extrato

Na Tabela 2 estão apresentados valores da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH e FRAP dos extratos aquoso seco e aquoso fresco de folhas e flores de *M.*

oleifera em diferentes concentrações (1,0, 10,0, 50,0, 100,0%). Estes resultados demonstram que os extratos tanto aquoso seco como o fresco apresentaram maior atividade antioxidante pelo método do DPPH na concentração de 100,0% (81,27% e 75,0% respectivamente). Já os extratos de flores apresentaram na mesma concentração, 80,90% para o aquoso seco e 93,20% para o fresco. Quanto ao controle positivo (ácido gálico), o mesmo apresentou 79,98% em uma concentração de 80 µg/mL. Semelhantemente, para o teste FRAP foi possível observar que os maiores valores foram obtidos para a concentração de 100,0%, sendo de 155,11 mM/mL ET para o aquoso seco da folha e 154,0mM/mL ET para o fresco. Já para os das flores foram para o aquoso seco 160,00mM/mL ET e fresco 146,77 mM/mL ET (Tabela 2).

Na determinação do conteúdo fenólico e de flavonoides totais todos os extratos avaliados (folhas e flores) apresentaram maiores teores na concentração de 100%. O extrato aquoso seco das folhas apresentou 158,08mg EAG/g de fenóis totais e 152,33 mg ERu/g de flavonoides totais, já o aquoso fresco das folhas apresentou 201,42 mg EAG/g de fenóis totais e 241,50 mg ERu/g de flavonoides totais. No aquoso seco das flores foi observado um teor fenólico de 83,92mg EAG/g e flavonoídico de 49,00 mg ERu/g, para o aquoso fresco das flores o teor fenólico total foi de 108,08mg EAG/g e flavonoídico total foi de 114,00mg ERu/g (Tabela 2).

Tabela 2 - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (%) e quelante de Ferro (FRAP em mM) e determinação de fenóis e flavonoides totais em extrato aquoso de folhas e flores frescas de *Moringa oleifera*.

Extrato	Concentração (%)	Folha de <i>M. oleifera</i>				Flor de <i>M. oleifera</i>			
		DPPH	FRAP	FT ^a	FIT ^b	DPPH	FRAP	FT ^a	FIT ^b
Aquoso seco	1,0	2,39	-	10,58	22,33	6,80	-	-	19,00
	10,0	5,18	16,22	23,92	33,33	81,36	-	1,42	14,83
	50,0	32,27	142,88	90,58	81,50	43,63	54,00	38,92	18,17
	100,0	81,27	155,11	158,08	152,33	80,90	160,00	83,92	49,00
Aquoso fresco	1,0	4,41	-	4,75	-	5,33	-	-	-
	10,0	29,42	66,22	39,92	-	13,10	-	17,25	-
	50,0	82,35	149,00	110,52	129,00	62,62	117,33	64,75	44,83
	100,0	75,00	154,00	201,42	241,50	93,20	146,77	108,08	114,00
Ácido gálico	80	79,98							

^amM/mL equivalente Trolox; ^bequivalente mg de ácido gálico por g de extrato; ^cmgequivalente de rutina por g do extrato

Ainda para a avaliação antioxidante, foram calculados os valores das concentrações efetivas (EC_{50}) para todos os extratos avaliados pelo método do sequestro do íon DPPH. Na Tabela 3 é possível observar que os extratos aquosos frescos das folhas e flores apresentaram menores valores de EC_{50} (folha = 22,73 e flor = 50,49), sendo que estes valores foram próximos ao calculado para o controle positivo padrão (Ácido gálico = 43,82).

Tabela 3 - Atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH (EC_{50}) dos extratos hidroetanólico, etanólico e aquoso de folhas e flores secas e frescas de *Moringa oleifera*.

Parte vegetal	Extrato	EC_{50}
Folha	Hidroetanólico	7424,71
	Etanólico	8930,83
	Aquoso (seco)	64,85
	Aquoso (fresco)	22,73
Flor	Hidroetanólico	11116,60
	Etanólico	3842,23
	Aquoso (seco)	52,32
	Aquoso (fresco)	50,49
Ácido gálico		43,82

3.2 - Atividade antioxidante pelo método da peroxidação lipídica (TBARS), sequestro do íon Óxido Nítrico (NO) e método hemolítico para os extratos com maior atividade antioxidante avaliado pelo DPPH.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da atividade antioxidante pelo método do TBARS e do sequestro do NO para o extrato hidroetanólico da folha seca. A maior porcentagem de atividade antiperoxidação lipídica foi observada na concentração de 10000 $\mu\text{g/mL}$ (60,62%), esta concentração também resultou em maior sequestro do íon NO (77,51 Equivalente Nitrito).

Os resultados para o extrato aquoso das folhas e flores frescas estão apresentados na Tabela 5. Foi possível observar que para as folhas frescas a maior porcentagem de atividade antiperoxidação lipídica foi observada na concentração de 100 % (52,63%) e esta concentração também resultou em maior sequestro do íon NO (75,01 Equivalente Nitrito). Similarmente para o extrato aquoso das flores, este apresentou a maior porcentagem de atividade antiperoxidação observada na concentração de 50% (28,07%) e na concentração 100% apresentou maior sequestro do íon NO (74,25 Equivalente Nitrito).

Para análise da atividade antioxidante pelo método hemolítico foi realizada a avaliação do extrato hidroetanólico da folha seca de *M. oleifera* em diferentes concentrações (Figura 1 e Tabela 6). De acordo com os resultados, é possível observar que o extrato apresentou potencial para sequestrar o radical livre e impossibilitar a ação hemolítica do AAPH para todas as concentrações avaliadas e seguiu uma tendência de concentração/dependente (Figura 1). A concentração de 1000 μ L/mL apresentou o maior valor de porcentagem de inibição da hemólise de 2,4% para determinação da 3ª hora e de 7,57% para 4ª hora (Tabela 6).

Tabela 4 - Atividade antioxidante pelo método peroxidação lipídica (TBARS) e sequestro do Óxido Nítrico (NO) do extrato hidroetanólico da folha seca de *Moringa oleifera*.

Extrato	Concentração (ug/mL)	Folha (seca)	
		TBARS (%)	NO
Hidroetanólico	3000	54,37	75,59
	5000	41,87	76,55
	10000	60,62	77,51

Tabela 5 - Atividade antioxidante pelo método peroxidação lipídica (TBARS) e sequestro do Óxido Nítrico (NO) do extrato aquoso das folhas e Flores frescas de *Moringa oleifera*.

Extrato	Concentração (%)	Folha		Flor	
		TBARS	NO	TBARS	NO
Aquoso	10%	12,28	74,63	15,78	74,05
	50%	28,07	74,44	28,07	72,90
	100%	52,63	75,01	22,80	74,25

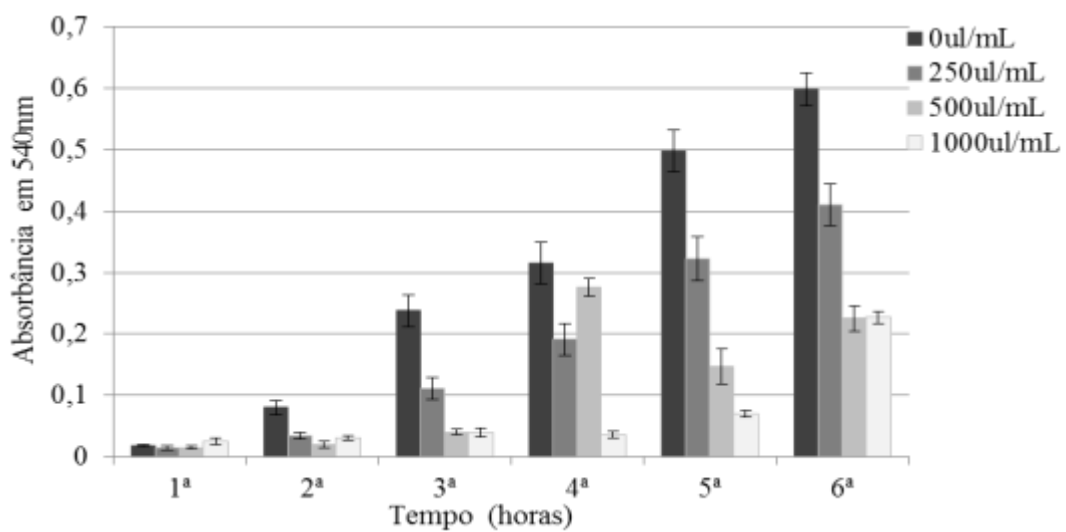


Figura 1 - Atividade antioxidante pelo método de hemólise do extrato hidroetanólico da folha seca de *Moringa oleifera* durante 6 horas de incubação e mensurada a 540nm em espectrofotômetro.

Tabela 6 - Atividade antioxidante pelo método de hemólise do extrato hidroetanólico da folha seca de *Moringa oleifera*.

Concentração ($\mu\text{L/mL}$)	% Hemólise/tempo (horas)	
	3 ^a	5 ^a
250	30,92	62,12
500	2,40	24,24
1000	2,40	7,57

3.3 - Determinação do teor de Vitamina C.

A quantificação de vitamina C nos extratos aquosos de folhas e flores frescas de *M. oleifera*, demonstrou que os mesmos possuem 583,12 mg de vitamina C em 100g de folhas frescas e 765mg em flores frescas.

3.4 - Avaliação do potencial fotoprotetor.

3.4.1 - Determinação da determinação do comprimento de onda máximo e da absorbância máxima dos extratos de folhas e flores de *M. oleifera*.

A varredura espectrofotométrica dos extratos das folhas e flores (hidroetanólico, etanólico, aquoso seco e aquoso fresco) de *M. oleifera* avaliados no intervalo de comprimento de ondas entre 290 e 400 nm estão apresentados na Figura 1 e 2, respectivamente. Todos os extratos avaliados apresentaram absorbância entre 1,0 e 3,0 nos comprimentos de 290 a 380nm, de modo semelhante ao perfil espectrofotométrico descrito pelo controle positivo (metoxicinamato de octila - OMC)

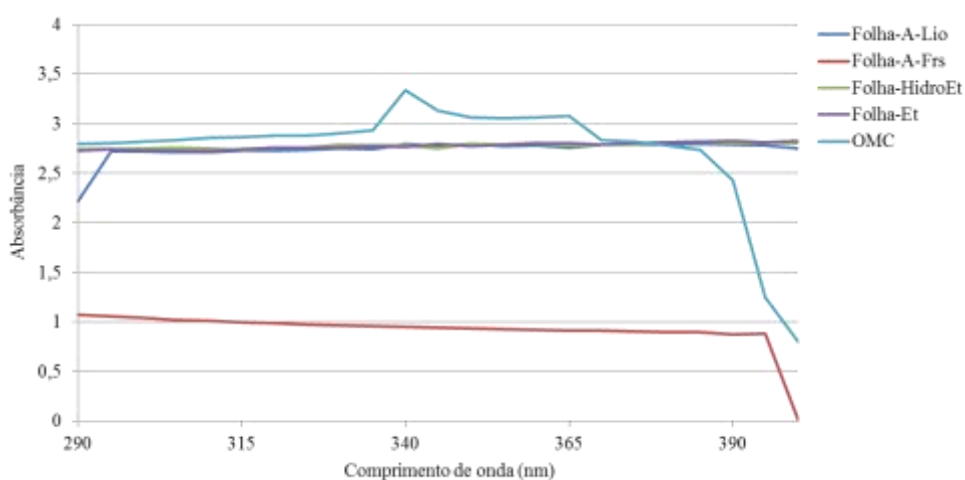


Figura 1 - Espectros de absorção UV-visível e Comprimento de onda máximo e Absorbância dos extratos da Folha de *M. oleifera* em comparação com o padrão (Metoxicinamato de Octila, Sigma®) **OMC**= Metoxicinamato de Octila, **Folha-A-Lio**= extrato aquoso liofilizado

(10.000 µg/mL), **Folha-A-Frs**= extrato aquoso fresco(100%), **Folha-HidroEt**= extrato hidroetanólico (10.000µg/mL), **Folha-Et**= extrato etanólico (10.000µg/mL).

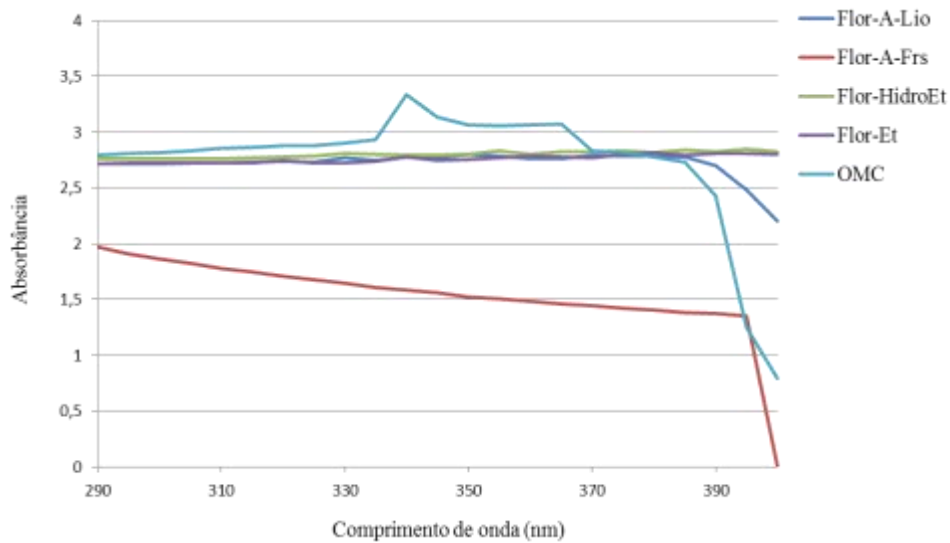


Figura 2 - Espectros de absorção UV-visível e Comprimento de onda máximo e Absorbância dos extratos da Flor de *M. oleifera* em comparação com o padrão (Metoxicinamato de Octila, Sigma®) **OMC**= Metoxicinamato de Octila, **Flor-A-Lio**= extrato aquoso liofilizado (10.000 µg/mL), **Flor-A-Frs**= extrato aquoso fresco (100%), **Flor-HidroEt**= extrato hidroetanólico (10.000µg/mL), **Flor-Et**= extrato etanólico (10.000µg/mL).

3.5 Antiglicação por meio da Mobilidade Relativa em Eletroforese (MRE).

Na Figura 3 estão apresentados os perfis eletroforéticos das amostras de BSA sob glicação na presença ou ausência do extrato de *M. oleifera* tanto o da folha como o da flor. É possível observar que os extratos aquosos das folhas e das flores frescas apresentaram melhor atividade antiglicante com relação à glicação do BSA promovida pelo MGO e em comparação com os demais extratos avaliados. Já para a glicação do BSA com ribose é possível observar que o extrato que apresentou maior atividade antiglicante foi o hidroetanólico da folha em comparação aos demais extratos avaliados.

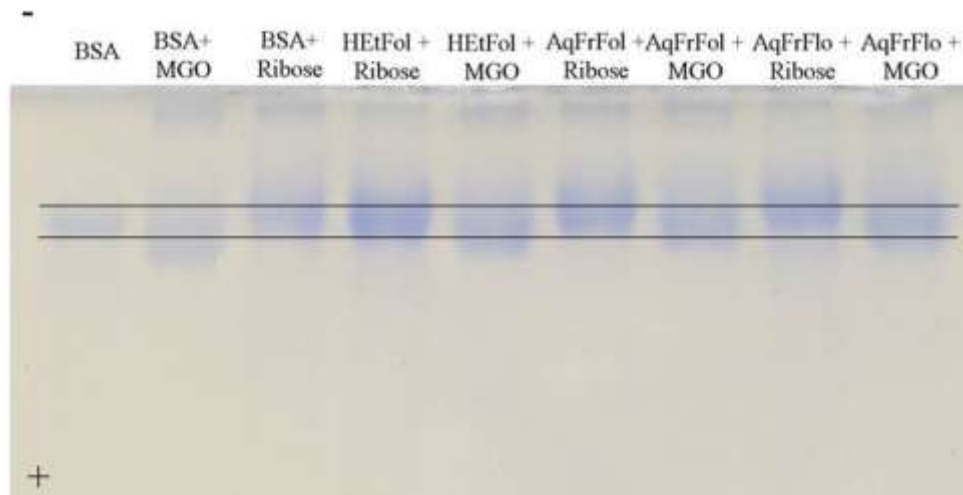


Figura 3. Teste de mobilidade relativa em eletroforese para avaliação da capacidade antiglicação pelo sistema BSA+MGO e BSA+Ribose de extratos de folhas e flores de *M. oleifera*. Onde BSA=Albumina Sérica Bovina; HETFol = Extrato Hidroetanólico da Folha; AqFrFol = Extrato Aquoso Fresco da Folha e AqFrFlo = Extrato Aquoso Fresco da Flor (barras marcando o ponto de corrida no gel).

4 – Discussão

Trabalhos científicos sobre *M. oleifera* têm demonstrado que esta espécie apresenta diferentes compostos fenólicos com propriedades alimentares e medicinais, com impacto tanto na saúde humana como de animais (Ghasiet al., 2000; Richter et al., 2003; Qwele et al., 2013; Waterman et al., 2014).

No presente estudo podemos constatar que a *M. oleifera* pode representar uma importante fonte de compostos antioxidantes presente em suas folhas e flores, independentemente da forma de obtenção de extrato. Isto pode ser observado pelos métodos de avaliação antioxidante adotados, como a avaliação do sequestro do íon DPPH e o efeito quelante do ferro (FRAP). Ressaltando ainda que estes dados reforçam e corroboram com os resultados anteriormente encontrados por Singh et al (2009); Verma et al (2009); Moyo et al(2012); Alhakmani et al (2013); Nambiar et al(2013), Fernandes et al(2015) e Rodríguez-Pérez et al (2015). Porém, estes estudos avaliaram os extratos e componentes antioxidantes de partes vegetais (folhas, flores, frutos e sementes) separadamente e com uma única metodologia de obtenção. Desta forma, o presente estudo diferencia-se, pois o mesmo baseou-se na avaliação de diferentes partes vegetais (folha e flor) e metodologias de obtenção dos extratos e consequentemente compostos antioxidantes, principalmente na maior concentração avaliada (10.000µg/mL).

Substâncias antioxidantes presentes nos extratos reagem com o DPPH, que é um radical estável, e converte-o em 2,2-difenil-1-picril hidrazina. O grau de descoloração indica o potencial antioxidante do extrato. Um extrato que apresenta alto potencial em sequestrar radicais livres possui baixo valor de EC_{50} , ou seja, inibe a oxidação do radical em 50% (Roesler et al., 2007). Com o cálculo do EC_{50} a partir da equação da reta de cada extrato, os extratos que apresentaram menor valor de EC_{50} entre as amostras analisadas foram os extratos aquosos tanto da planta fresca como seca. Masum et al. (2012) demonstraram em seus estudos que diferentes extratos e frações obtidas das folhas de *M. oleifera* apresentaram menores valores e EC_{50} .

Diante do comprovado potencial antioxidante dos extratos de *M. oleifera* e sabendo que os compostos fenólicos, mais precisamente a classe dos flavonoides, representam os compostos com tal atividade, o presente estudo determinou o conteúdo fenólico e flavonoídico total nos mesmos. Os resultados obtidos estão de acordo com trabalhos prévios (Atawodiet al., 2010; Sreelatha et al., 2011, Coppin et al., 2013 e Jaiswal et al., 2013), onde os mesmos demonstraram a presença de diferentes compostos fenólicos e flavonoides como componentes presentes nos extratos estudados.

Apesar da literatura científica sobre a potencialidade antioxidante da *M. oleifera* ser amplamente demonstrada, poucos estudos avaliaram tal potencial por meio de diferentes metodologias e extratos, assim como as partes da planta como fonte de compostos bioativos. O presente estudo buscou sanar a ausência desta informação e proporcionar o aumento das formas de investigação desta potencialidade. Sendo assim, o mesmo utilizou a metodologia da peroxidação lipídica (TBARS) e do sequestro do íon Óxido Nítrico, para determinar qual dos extratos e a correspondente parte vegetal analisada, apresentam maior atividade antioxidante. Desta forma foi possível observar uma atividade antioxidante mais pronunciada para os extratos da folha de *M. oleifera*, e estes resultados estão de acordo com os demonstrados em estudos realizados por Chumarket al. (2008), Khongrum et al. (2012), Kumbhare et al. (2012) e Moyo et al. (2012).

Quanto à avaliação da atividade antioxidante pelo método hemolítico, sabe-se que reagente AAPH se decompõe a 37°C em solução aquosa e gera radicais alquila que na presença do oxigênio são convertidos no radical peroxila correspondente. Esses radicais peroxila induzem a peroxidação lipídica dos ácidos graxos poliinsaturados das membranas dos eritrócitos levando a peroxidação lipídica (Banerjee et al., 2008). O extrato hidroetanólico das folhas de *M. oleifera* apresentou efeito protetor contra a hemólise induzida pelo AAPH,

durante todo o tempo de incubação. Estes resultados estão de acordo com os estudos realizados por Yang et al. (2006), Schmitz et al. (2008) e Phruksanan et al. (2014).

Diante dos resultados obtidos na avaliação antioxidante e na determinação de teores totais de fenóis e flavonoides, e considerando as informações científicas sobre a alta presença de ácido ascórbico (Vitamina C) nos extratos e preparações a base de *M. oleifera* (Makkar e Becker, 1996; Shih et al., 2011), este estudo quantificou a mesma nas folhas e flores frescas, pois de acordo com Davey et al., (2000) o ácido ascórbico é um composto muito instável e pode ser degradado durante o processamento. Ainda sobre os valores determinados de vitamina C nos extratos avaliados, estes apresentaram superiores aos encontrados na literatura científica (Sreeramulu et al., 1983), porém esta diferença pode ser explicada pelos estudos realizados por Matsuura et al. (2001) e Cardoso et al. (2011) onde demonstraram que fatores como: solo, tipo e frequência de irrigação podem promover diferenças nos valores de vitamina C, pois estes podem variar de acordo com a fertilidade do solo e disponibilidade de nutrientes. Além disso, solos pobres em nitrogênio e baixa frequência de irrigação podem aumentar a concentração de vitamina C em vegetais e frutas.

Quanto ao potencial fotoprotetor da *M. oleifera*, sabe-se que a exposição crônica ou repetida à radiação UVB promove tanto o fotoenvelhecimento da pele, quanto a promoção de fotocarcinogênese (Matsumura e Ananthaswamy, 2002; Guineet al., 2012), sendo assim a busca e o desenvolvimento de fotoprotetores, de origem natural e presentes na alimentação devem ganhar atenção dos pesquisadores. Diante disso, no presente trabalho foram detectados que extratos de *M. oleifera*, têm potencial fotoprotetor, já que apresentaram em espectro de varredura, absorbância na região de incidência da radiação UVA e UVB (290-400nm).

A busca por possíveis resultados positivos se fundamenta com os relatos prévios (Oberley 2008; Mukhtar 2003; Petrova et al. 2011), que a irradiação UVB gera espécies reativas de oxigênio (ROS), reagindo com moléculas fotossensíveis, o que resulta num desequilíbrio entre as ROS e promove danos para as estruturas moleculares, como o DNA, as proteínas e os lipídeos. A varredura do composto fotoprotetor padrão Metoxicinamato de Octila, obteve pico de absorbância em 3,4 no comprimento de onda 340nm e este descreveu comportamento semelhante aos obtidos pelos diferentes extratos tanto os das folhas como das flores, sugerindo assim uma ação fotoprotetora dos mesmos.

Quanto ao potencial antiglicante, estudos recentes realizados por Lunceford e Gugliucci (2005) e Ramkissoon et al. (2013), têm demonstrado a importância da investigação da capacidade antiglicante de compostos naturais de origem vegetal, principalmente correlacionado com a atividade antioxidante dos mesmos, e suas ações tanto na prevenção

como no tratamento de doenças degenerativas correlacionadas com o envelhecimento. Diante disso os extratos de *M. oleifera* avaliados neste estudo podem contribuir de forma direta para a elucidação completa do mecanismo de ação dos componentes naturais desta espécie, e suas ações farmacológicas já comprovadas em trabalhos científicos (Biswas et al., 2012). Apesar disso, e de acordo com Peng et al. (2008) é difícil decidir exatamente em que sentido ou em qual fase há intervenção dos extratos para reduzir a formação de produtos finais da glicação avançada - AGEs (advanced glycation end-products). No entanto, Gugliucci et al. (2009) e Beaulieu et al. (2010) consideraram em seus estudos que a alta capacidade antioxidante está correlacionada com a atividade antiglicação, e esta pode ser provocada pela eliminação de radicais livres e/ou atividades de captura de íons de metais.

4 Conclusão

Diante dos resultados obtidos neste estudo foi possível constatar que *M. oleifera* possui potencial para ser utilizada como fonte de compostos antioxidantes com atividade fotoprotetora e antiglicante, principalmente devido à presença de compostos fenólicos e entre estes, os flavonóides.

Referências

- Adedapo, A., Mogbojuri, O. M., Emikpe, B. O., 2009. Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleifera* in rats. *J. Med. Plants Res.* 3 (8): 586-591.
- Alhakmani, F.; Kumar, S.; Khan, S. A., 2013. Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 3 (8): 623-627.
- Arantes, C. C., Paterniani, J. E. S., Rodrigues, D. S., Hatori, P. S., Pires, M. S. G., 2015. Diferentes formas de aplicação da semente de *Moringa oleifera* no tratamento de água. *Rev. Bras. Eng. Agríc. Amb.* 9 (3): 266–272.
- Arora, S.; Onsare, J. G., 2014. In vitro antimicrobial evaluation and phytoconstituents of *Moringa oleifera* pod husks. *Ind. Crops Prod.* 52, 125– 135.
- Atawodi, S. E.; Atawodi, J. C.; Idakwo, G. A.; Pfundstein, R. H.; Wurtele, G.; Bartsch, H.; Owen, R. W., 2010. Evaluation of the Polyphenol Content and Antioxidant Properties of Methanol Extracts of the Leaves, Stem, and Root Barks of *Moringa oleifera* Lam. *J. Med. Food.* 13 (3): 710-716.
- Banerjee, A., Kunwar, A., Mishra, B., Priyadarsini, K.I. 2008. Concentration dependent antioxidant/pro-oxidant activity of curcumin Studies from AAPH induced hemolysis of RBCs. *Chem. Biol. Interact.* 174, 134–139.

Beaulieu, L.F., Harris, C.S., Saleem, A., Cuerrier, A., Haddad, P.S., Martineau, L.C., Benett, A.I., Arnason, J.T., 2010. Inhibitory effect of the creetradicional medicine wiishichimanaanh (*Vacciniumvitis-idaea*) on Advanced glycationendproduct formation: Identification of active principles. *Phytother. Res.* 24, 741-747.

Benzie, I.F., Strain, J.J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* 239, 70–6.

Biswas, S. K., Chowdhury, A., Das, J., Roy, A., Hosen, S. M. Z., 2012. Pharmacological Potentials of *Moringa Oleifera* LAM.: A Review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 3(2): 305-310.

Blois, M.S., 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nat.* 181, 1199-1200.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT Food Sci. Technol.* 28 (1): 25-30.

Cardoso, L. D. M.; Martino, H. S. D.; Moreira, A. V. B.; Ribeiro, S. M. R.; Pinheiro-Sant'Ana, H. M. Cagaita, 2011. (*Eugenia dysenterica* DC.) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: Physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. *Int. Food Res. J.* 44 (7):2151-2154.

Christ, B., Mueller, K. H., 1960. On the serial determination of the content of flavonol derivatives in drugs. *Archiv. der Pharm.* 293, 1033–1042.

Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N. P., Phivthong-ngam, L., Ratanachamnong, P., Srisawat, S., Pongrapeeporn, K. S., 2008. The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *J. Ethnopharmacol.*

Coppin, J. P.; Xua, Y.; Chena, H.; Panb, Min-Hsiung; Hoc, Chi-Tang; Juliania, R.; James E. Simona, QingliWua., 2013. Determination off lavonoidsby LC/MS andanti-inflammatoryactivity in *Moringa oleifera*. *J. Funct. Foods.* 5, 1892 - 1899.

Costa, D. A.; Oliveira, G. A. L.; Sousa, D. P.; Freitas, R. M., 2012. Avaliação do potencial antioxidante in vitro do composto ciano-carvona. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 33 (4): 567-575.

Davey, M. W.; Montagu, M. V.; Inzé, D.; Sanmartin, M.; Kanellis, A.; Smirnoff, N.; Benzie, I. J. J.; Favell, D.; Fletcher, J., 2000. Plant L ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *J. Sci. Food Agr.* 80 (7):825-860.

Esterbauer H, Cheeseman KH., 1990. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Meth. Enzymol.* 186, 407-21.

Fernandes, D. M., Sousa, R. M. F., Oliveira, A., Morais, S. A. L., Richter, E. M., Muñoz, R. A. A., 2015. *Moringa oleifera*: A potential source for production of biodieseland antioxidant additives. *Fuel.* 146, 75–80.

Ghasi, S.; Nwobodo, E.; Ofili, J.O., 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *J. Ethnopharmacol.* 69, 21–25.

Green, L.C.; Wagner, D.A.; Glogowski, J.; Skipper, P.L.; Wishnok, J.S.; Tannenbaum, S.R., 1982. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrite in biological fluids. *Anal. Biochem.* 126 (126), 131-138.

Gugliucci A, Kotani K, Taing J., 2009. Short-term low calorie diet intervention reduces serum advanced glycation end products in healthy overweight or obese adults. *Ann. Nutr. Metab.* 54, 197–201.

Guimarães A. G., Oliveira G. F., Melo M. S., Cavalcanti S. C., Antonioli A. R., Bonjardim L. R., Silva F. A., Santos J. P. A., Rocha R. F., Moreira J. C. F., Araújo A. A., Gelain D. P., Quintans L. J., 2010. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 107 (6): 949-57.

Guinea, M., Franco, V., Araujo-Bazán, L., Rodríguez-Martín, I., González, S., 2012. In vivo UVB- photoprotective activity of extracts from comercial marine macroalgae. *Food Sci. Technol. Int.* 50, 1109-1117.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. 1985. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análises de alimentos. 3ed. São Paulo: IAL, v. 1533p.

Jaiswal, D., Rai, P. K., Mehta, S., Chatterji, S., Shukla, S., Rai, D. K., Sharma, G., Sharma, B., Khair, S., Watal, G., 2013. Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidetive stress. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 426-432.

Khongrum, J., Wattanathorn, J., Muchimapura, S., Thukhum-mee, W., Thipkaew, C., Wannanon, P. and Tong-un, T., 2012 *Moringa oleifera* Leaves Extract Attenuates Neuropathic Pain Induced by Chronic Constriction Injury. *Am. J. Appl. Sci.* 9 (8): 1182-1187.

Kumbhare M. R., Guleha V., Sivakumar T., 2012. Estimation of total phenolic content, cytotoxicity and in-vitro antioxidant activity of stem bark of *Moringa oleifera*. *Asian Pac. J. Trop Dis.* 144-150.

Lunceford, N., Gugliucci, A., 2005. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. *Fitoterapia.* 76, 419-431.

Makkar, H.P.S.; Becker, K., 1996. Nutritional value and whole and ethanol antinutritional components of extracted *Moringa oleifera* leaves. *Anim. Feed Sci. Tech.* 63, 211-228.

Marcocci, L.; Maguier, J.J.; Droy-Lefaix, M.T.; Packer, L., 1994. The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract. *Biochem.Res. Commun.* 201, 748-55.

Martin, C.; Martin, G.; Martin A.; Garcia, T. F., Hernandez, E.; Puls, J., 2013. Potential applications of *Moringa oleifera*. A critical review. *Pastos y Forrajes.* 36 (2): 137-149.

Masum N. H., Hamid, K., Zulfiker, A. H., Hossain, K., Urmi, K. F., 2012. In vitro Antioxidant Activities of Different parts of the Plant *Moringa oleifera* Lam. *Research J. Pharm. and Tech.* 5(12).

- Matsumura, Y., Ananthaswamy, H. N., 2002. Short-term and long-term cellular and molecular events following UV irradiation of skin: implications for molecular medicine. *Expert. Ver. Mol. Med.* 4, 1-22.
- Matsuura, F. C. A. U., Cardoso, R. L., Folegatti, M. I. S., Oliveira, J. R. P., Oliveira, J. A. B., Santos, D. B., 2001. Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). *Rev. Bras. Frutic.* 23, 602-606.
- Miura, S., Watanabe, J., Tomita, T., Sano, M., Tomita, I., 1994. The inhibitory of tea polyphenols (flavan-3-ol derivatives) on Cu²⁺ mediated oxidative modification of low density lipoprotein. *Biol. Pharm. Bull.* 17, 1567-1572.
- Moyo B., Oyedemi S., Masika P.J., Muchenje, V., 2012. Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Sci.* 91, 441–447.
- Mukhtar, H. 2003. Eat Plenty of Green Leafy Vegetables for Photoprotection: Emerging Evidence. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 121.
- Nambiar, V., Matela, H., Baptist, A., 2013. Total antioxidant capacity using ferric reducing antioxidant power and 2, 2-diphenylpicrylhydrazyl methods and phenolic composition of fresh and dried drumstick (*Moringa oleifera*) leaves. *Int. J. Green Pharm.* 7.1, 66.
- Oberley, T.D., 2002. Oxidative damage and cancer, *American Journal of Pathology*, 160, 403-408.
- Peng, X., Cheng, K.-W., Ma, J., Chen, B., Ho, C.-T., Lo, C., et al. 2008. Cinnamon bark proanthocyanidins as reactive carbonyl scavengers to prevent the formation of advanced glycation end products. *J. Agr. Food Chem.* 56, 1907–1911.
- Petrova, A., Davids, L.M., Rautenbach, F., Marnewick, J.L., 2011. Photoprotection by honeybush extracts, hesperidin and mangiferin against UVB-induced skin damage in SKH-1 mice. *J. Photochem. Photobiol. B.* 103, 126-139.
- Phrueksanan, W., Yibchok-Anun, S., Adisakwattana, S. 2014. Protection of *Clitoria ternatea* flower petal extract against free radical-induced hemolysis and oxidative damage in canine erythrocytes. *Res. Vet. Sci.* 97, 358–364.
- Qwele, K.; Hugo, A.; Oyedemi, S.O.; Moyo, B.; Masika, P.J.; Muchenje, V., 2013. Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with *Moringa (Moringa oleifera)* leaves, sunflower cake and grass hay. *Meat. Sci.* 93, 455–462.
- Ramkisson, J.S., Mahomoodally, M.F., Ahmed, N., Subratty, A.H., 2013. Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 561-569.
- Richter, N.; Siddhuraju, P.; Becker, K., 2003. Evaluation of nutritional quality of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as an alternative protein source for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquacult. Int.* 217, 599– 611.

Rodríguez-Pérez, C.; Quirantes-Piné, R.; Fernández-Gutiérrez, A.; Segura-Carretero, A., 2015. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Ind. Crop. Prod.* 66, 246–254.

Roesler, L.G.; Malta, L.C.; Carrasco, L.C.; Holanda, R.B.; Sousa, C.A.S., Pastore, G.M., 2007. Atividade antioxidante de Frutas do Cerrado. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 27 (1):53-60.

Rosa, M.B., Oliveira, T.G., Carvalho, C.A., Silva, F.D., Carvalho, L.M., Nascimento, P.C. Peres, R.L., 2008. Estudo espectrofotométrico da atividade fotoprotetora de extratos aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea var capitata*, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum runderale* (Jacq.) Cass e *Sonchus*. *Rev. Eletrônica Farm.* 5 (1): 101-110.

Santos, A.F.S., Argolo, A. C. C., Coelho, L. C. B. B., Paiva, P. M. G., 2005. Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds. *Water Res.* 39, 975–980.

Schmitz, W. O., Simão, A. N. C., Cecchini, R., Saridakis, H. O. 2008. Estresse oxidativo em eritrócitos submetidos a 2,2-Azobis amidinopropano (AAPH): efeito antioxidante e antihemolítico do chá verde (*Camellia sinensis*). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar.* 12 (3): 175-179.

Shaban, A., Mishra, G. M., Nautiyal, R., Srivastava, S., Tripathi, K., Chaudhary, P., Verma, S.K., 2012. In vitro cytotoxicity of *Moringa oleifera* against different human cancer cell lines (Article). *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 5, 271– 272.

Shih, M. C.; Chang, C. M.; Kang, S. M.; Tsai, M. L., 2011. Effect of Different Parts (Leaf, Stem and Stalk) and Seasons (Summer and Winter) on the Chemical Compositions and Antioxidant Activity of *Moringa oleifera*. *Int. J. Mol. Sci.* 12 (9): 6077-88.

Silva, T. C. S.; Nunes, T. P., Costa, D. G.; Lima, Lucas, A. L. C. L., Silva, G. F., Oliveira Junior, A. M., 2013. Utilização de sementes de *Moringa oleifera* Lam como alternativa para produção de biodiesel. *Rev. Geintec.* 3 (2): 012-025.

Singh, B. N., Singh, B.R., Singh, R.L., Prakash, D., Dhakarey, R., Upadhyay, G., Singh, H.B., 2009. Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem. Toxicol.* 47, 1109–1116.

Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela, R. M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152–178.

Singleton, V.L., Rossi, J.A. Jr., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.

Sixl-Daniell, Karin, Sixl, W., Sixl, G., Fuchs, W., 2011. On the use of *Moringa oleifera* as a medicinal plant in India and the Philippines. *LV. Évfolyam.* 57– 63.

Sreelatha, S. and Padma, P.R. 2011. Modulatory effects of *Moringa oleifera* extracts against hydrogenperoxide-induced cytotoxicity and oxidative damage. *Hum. Exp. Toxicol.* 30(9): 1359–1368.

- Sreeramulu, N.; Ndossi, G.; Mtotomwema, K., 1983. Effect of cooking on the nutritive value of common food plants of Tanzania: Part 1 Vitamin C in some of the wild green leafy vegetables. *Food Chem.* 10 (3): 205-210.
- Teixeira, E. M. B., Carvalho, M. R. B., Neves, V. A., Silva, M. A., Arantes-Pereira, L., 2014. Chemical characteristics and fractionation of proteins from *Moringa oleifera* Lam. Leaves. *Food Chem.* 147, 51–54.
- Torres-Castillo, J. A., Sinagawa-García, S. R., Martínez-Ávila, G. C. G., López-Flores, A. B., Sánchez-González, E. I., Aguirre-Arzola, V. E., Torres-Acosta, R. I., Olivares-Sáenz, E., Osorio-Hernández, E., Gutiérrez-Díez, A., 2013. *Moringa oleifera*: phytochemical detection, antioxidants, enzymes and antifungal properties. *Phyton. Int. J. Exp. Bot.* 82, 193-202.
- Velasco, M. V. R.; Balogh, T. S.; Pedriali, C. A.; Sarruf, F. D.; Pinto, C. A. S. O.; Kaneko, T. M.; Baby, A. R., 2011. Novas metodologias analíticas para avaliação da eficácia fotoprotetora (in vitro) – revisão. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 32 (1): 27-34.
- Verma, A. R., Vijayakumar M., Mathela, C. S., Rao, C. V., 2009. In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food Chem. Toxicol.* 47, 2196–2201.
- Vongsak, B., Sithisarna, P., Mangmoolb, S., Thongpraditchotec, S., Wongkrajanc, Y., Gritsanapana, W., 2013. Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method. *Ind. Crop. Prod.* 44, 566– 571.
- Waterman, C., Cheng, D. M., Rojas-Silva, P., Poulev, A., Dreifus, J., Lila, M. A., Raskin, I., 2014. Stable, water extractable isothiocyanates from *Moringa oleifera* leaves attenuate inflammation in vitro. *Phytochem.* 103, 114–122.
- Yang, H., Chen, S., Chang, N., Chang, J., Lee, M., Tsai, P., Fu, H., Kao, W., Chiang, H., Wang, H., Hseu, Y. 2006. Protection from oxidative damage using *Bidens pilosa* extracts in normal human erythrocytes. *Food Chem. Toxicol.* 44, 1513–1521.



INDUSTRIAL CROPS AND PRODUCTS

An International Journal

INFORMATIONPACK

AUTHOR

TABLE OF CONTENTS

ISSN:0926-6690

●	Description	p.1
●	Audience	p.1
●	Impact Factor	p.1
●	Abstracting and Indexing	p.1
●	Editorial Board	p.1
●	Guide for Authors	p.2
		p.5

DESCRIPTION

Industrial Crops and Products, an International Journal, publishes academic and industrial research on **industrial** (non-food) **crops** and **products**, containing both crop-oriented and product-oriented research papers - a platform where agricultural research meets industrial R&D.

For more information/suggestions/comments please contact AuthorSupport@elsevier.com

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our support pages: <http://support.elsevier.com>

AUDIENCE

Scientists in the areas of agronomy, crop protection, post-harvest and processing research, product testing and evaluation, distribution, marketing and economics.

IMPACT FACTOR

2013: 3.208 © Thomson Reuters Journal Citation Reports 2014

ABSTRACTING AND INDEXING

AGRICOLA

Elsevier BIOBASE
Chemical Abstracts

Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences
EMBASE

Environmental Abstracts
GEOBASE

CAB Abstracts
Scopus
EM Biology

EDITORIALBOARD

Editors-in-Chief:

N. Belgacem, INPG, St Martin d'Herès, France

M.T. Berti, North Dakota State University, Fargo, North Dakota, USA

E. Frollini, Macromolecular Materials and Lignocellulosic Fibers Group, Institute of Chemistry of São Carlos University of São Paulo Carlos, São Paulo, Brazil

M.J. Pascual-Villalobos, Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario, La Alberca, Murcia, Spain

D.T. Ray, University of Arizona, Tucson, Arizona, USA

Associate Editors

J. Bras, Grenoble INP - Pagora, St. Martin d'Hères Cedex, France

O. Koul, Insect Biopesticide Research Centre, Jalandhar, India

W.W. Schloman Jr., Stow, Ohio, USA

Editorial Advisory Board

E. Alexopoulou, Center for Renewable Energy Sources and Saving-CRES, Athens, Greece

Non-Food Crops

A. Ashori, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran

Non-wood fibers; pulp and paper technology; wood-plastic composite; wood cement bonded composite; fibres

A Biswas, USDA/ARS/NCAUR, Peoria, Illinois, USA

J-F. Bloch, Grenoble INP - Pagora, St. Martin d'Hères Cedex, France

Mechanics of fibres and fiber mats; structure; simulation; heat and mass transfer; optics

S. Boufi, University of Sfax, Sfax, Tunisia

Natural fibres based composites; nanocomposite based on nanosized cellulose filler; surface modification of cellulose fibres

A.J.F. Carvalho, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos -SP-, Brazil

Starch; thermoplastic starch; polymers and monomers from renewable resources; cellulose fibers and nanofibers

S.C. Cermak, U.S. Department of Agriculture (USDA), Peoria, Illinois, USA

Chemistry; Organic; New Crops; Lubricants; Distillation

R. Chhabra

Non-Newtonian behaviour; rheology; viscoelasticity; yield stress; shear-thinning; shear-thickening; thixotropy; food processing; baking characteristics.

M.J. Cocero Alonso, Universidad de Valladolid, Valladolid, Spain

T.A. Coffelt, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Maricopa, Arizona, USA

Plant breeding (germplasm evaluation and enhancement); genetics and agronomics (planting and harvesting dates, water use, fertility, plant populations, cropping systems, etc.) of oilseed crops and guayule.

K. Cornish, Ohio State University, Wooster, Ohio, USA

rubber; plant physiology; biomass; biofuels; resins.

M.D. Curt, Universidad Politécnica de Madrid (UPM), Madrid, Spain

Crops for biomass and biofuels; agronomy; improvement and processing

D.A. Dierig, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Maricopa, Arizona, USA

Oilseeds, plant genetic resources, new industrial crop breeding.

S.Z. Erhan, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Wyndmoor,

Pennsylvania, USA

fats and oils, polymerization, chemical engineering, ink, lubricant, grease, metalworking fluids, industrial uses of vegetable oils, biodiesel, bioethanol, biooil

R.L. Evangelista, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Peoria, Illinois, USA

Postharvest handling of crops; crop processing; oilseed processing; vegetable oil refining; plant oil characterization; seed protein characterization

M. Foster, Texas A&M University, College Station, Texas, USA

the production agriculture aspects of natural rubber and oilseed crops

A. Gandini, Universidade de Aveiro, Aveiro, Portugal

Chemistry of vegetal biomass; furan and furanics

R. Gesch, U.S. Department of Agriculture (USDA), Agricultural Research Service (ARS), Morris, Minnesota, US