

PROPRIEDADE ANTIOXIDANTE E TOXICIDADE DA NOZ PECÃ E SEU EFEITO NO SÊMEN BOVINO – Resultados parciais.

DANIEL TOBIAS BUENO CAVALHEIRO ^{1,2*}, CAMILA KETERINE GORZELANSKI
TRENKEL ³, RODRIGO MATEUS DE SOUZA ⁴, DALILA MOTER BENVENEGNÚ ⁵,
ADALGIZA PINTO NETO ²

1 INTRODUÇÃO

As biotecnologias usadas na reprodução animal maximizam o melhoramento genético dos animais, bem como, viabilizam a perpetuação de características zootécnicas desejáveis no plantel (OLIVEIRA et al., 2018), contudo, sabe-se que no processo de criopreservação do sêmen ocorre diminuição da motilidade espermática, comprometimento da viabilidade acrossomal, além da redução da capacidade fertilizante e da viabilidade dos espermatozoides, o que é provocado devido ao mecanismo de peroxidação lipídica, decorrente do excesso de espécies reativas ao oxigênio (ROS), que provocam injúrias a membrana plasmática dos gametas (SILVA et al., 2013).

Silva (2017) relatou que os antioxidantes são compostos que inibem os efeitos deletérios do estresse oxidativo, sendo que diversos pesquisadores têm adicionado ao sêmen bovino, substâncias com ações antioxidantes objetivando melhorar a viabilidade dos diluentes de criopreservação.

A *Carya illinoensis*, planta popularmente conhecida como noqueira-pecã ou por seus frutos a noz pecã, caracteriza-se por ser uma excelente fonte de ácidos graxos monoinsaturados, apresenta propriedades antioxidantes, justificada pela alta concentração de compostos fenólicos e taninos (BENVENEGNÚ, 2010). Amaral et al. (2019) relataram que muitos estudos farmacológicos e fitoterápicos estão sendo realizados com o uso da noz pecã, devido seus efeitos promissores como agente antioxidante.

Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de minimizar os efeitos nocivos da criopreservação do sêmen, mediante a utilização de crioprotetores e aditivos no sêmen, como por exemplo, os compostos antioxidantes, que exercem papel fundamental na redução dos efeitos deletérios causados pelo estresse oxidativo (GUERRA et al., 2012).

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná, contato: danielkobiasbueno@gmail.com

² Grupo de Pesquisa: LABRA – Laboratório de Reprodução Animal. **Orientadora** Profa. Adalgiza Pinto Neto.

^{3,4} Acadêmicos do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná.

⁵ Doutora em Farmacologia, Professora Adjunta da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Realeza, Paraná.

2 OBJETIVOS

Avaliar a propriedade antioxidante e a toxicidade do extrato da casca de noz pecã, sobre a viabilidade do sêmen bovino diluído.

3 METODOLOGIA

Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – UFFS, protocolo CEUA nº 6089171220, e está sendo realizado no Laboratório de Reprodução Animal - LABRA, da SUHVU, *Campus Realeza*, UFFS.

Para avaliação das propriedades antioxidantes do extrato de noz pecã, utilizou-se o método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), conforme Brand-William et al. (1995). Inicialmente, foi realizado o preparo do radical, para tanto, adicionou-se 0,1 mm - 0,03943 g do reativo DPPH dissolvido em 10 mL de metanol a 80%, após, foi pipetada uma alíquota de 2.700 µL do mesmo, a qual foi acondicionada em tubos de ensaio com 300µL do extrato de noz pecã. Ademais, realizou-se a preparação das soluções branco e controle.

As amostras foram mantidas em repouso e ao abrigo da luz, e após 30 minutos e 24 horas realizou-se as medidas de absorbância inicial e final, respectivamente, por meio de espectrofotômetro a 517 nm. As medidas das amostras foram realizadas em triplicata, a fim de viabilizar possíveis erros no momento da pipetagem das amostras.

O cálculo de porcentagem de inibição do radical pelo extrato da casca de noz pecã foi realizado pela seguinte fórmula:

$$AA(\%): 1 - (3 - 2) \times 100 / 1$$

Sendo, AA (%) correspondente à atividade antioxidante do extrato da casca de noz pecã, 1 - média absorbância da solução controle, 2 - média da absorbância da solução branco da amostra e 3 - média da absorbância da solução de DPPH com extrato da casca de noz pecã.

Para a avaliação da viabilidade seminal, três bovinos, em idade reprodutiva, das raças Angus, Braford e Brahman, foram submetidos a uma coleta e avaliação do sêmen, mediante utilização de eletroejaculador, segundo as normas e protocolos do CBRA (2013).

O sêmen foi diluído em diluidor comercial (OptiXcellR, IMV Technologies), com adição do extrato da casca de noz pecã. As amostras de sêmen foram submetidas à análise da cinética espermática pelo CASA (IVOS-IIR, Hamilton Thorne), da morfologia espermática (CBRA, 2013) a fim de averiguar possíveis graus de toxicidade do extrato de noz pecã sob a viabilidade dos espermatozoides.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após realização do método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), para avaliação das propriedades antioxidantes do extrato de noz pecã, obteve-se as seguintes médias de absorvância inicial e final, nos períodos de 30 minutos e 24 horas, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1: Média de absorvância inicial e final do extrato da casca de noz pecã (ECNP), pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), nos períodos de 30 minutos e 24 horas.

| SOLUÇÃO | Absorvância inicial (30 minutos) | Absorvância final (24 horas) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------|
| Branco da Amostra (ECNP + Etanol) | 0,469 nm | 0,390 nm |
| Amostra (DPPH + ECNP) | 0,802 nm | 0,708 nm |

Considerando que para a determinação do potencial antioxidante do extrato da casca de noz pecã, também se realizou a mensuração da absorvância do controle (DPPH + água), a qual foi de 1,603 nm. Dessa forma, com a obtenção dos valores médios, foi possível determinar o percentual de atividade antioxidante do extrato da casca de noz pecã, que foi de 79,22% e 86,16% após leitura com 30 minutos e 24 horas, respectivamente.

Oliveira (2015) relatou que o método DPPH vêm sendo empregado em diferentes métodos de determinação do efeito antioxidante de diferentes substâncias, com variadas concentrações e tempos de reação, o que resulta em distintas medidas de absorvância que estão sendo relatadas. Haja vista que, a metodologia empregada na verificação das propriedades antioxidantes por meio do DPPH consiste em verificar a capacidade da substância em sequestrar o radical DPPH, uma vez que, após reagir com um composto antioxidante, o DPPH é reduzido e seu consumo é monitorado por meio do decréscimo da absorvância em espectrofotômetro com comprimento de onda de 517 nm (OLIVEIRA, BARBOSA, FLORES, 2021).

Partindo do exposto, o estudo em questão demonstra uma redução da absorvância média das amostras contendo o radical DPPH e o extrato da casca de noz pecã, nos diferentes períodos (Tabela 1), o que remete à ação antioxidante apresentada pelo extrato, o que pode ser justificado pela redução da absorvância do controle que foi de 1,603 nm para 0,802 nm e 0,708 nm, com 30 minutos e 24 horas de reação, respectivamente. O que elucida o consumo do DPPH pelo extrato da casca de noz pecã, demonstrando seu efeito como agente antioxidante.

Mediante utilização de diferentes concentrações do extrato da casca de noz pecã no sêmen

bovino, observou-se a tendência da formação de precipitações em forma de aglomerados densos nas amostras (Figura 1), haja vista que, a presença dos mesmos era maior, conforme aumentava-se a concentração do ECNP no sêmen diluído.

Figura 1: Amostra de sêmen bovino diluído e acrescido com extrato da casca de noz pecã. **Círculo:** precipitações na forma de aglomerados. **Seta:** cabeça de um espermatozoide. **Fonte:** Autor



Todavia, não foi possível evidenciar alterações morfológicas e/ou sob a cinética espermática que indiquem efeitos tóxicos do extrato aquoso da casca de noz pecã sob a viabilidade dos espermatozoides, uma vez que se observou a formação de precipitados na lâmina que inviabilizaram essa quantificação. Diante desse contexto, é coerente supor acerca da origem da formação desses precipitados nas amostras de sêmen, seja decorrente da presença de filamentos celulares fúngicos em forma de hifas, uma vez que, de acordo com Nogara (2018), a prevalência de doenças de caráter fúngico é alta em culturas de nozes (*Carya illinoensis*).

Ademais, sugere-se a ocorrência de interações do extrato aquoso da casca de noz pecã com os constituintes do diluente seminal, o que poderia acarretar na formação das precipitações evidenciadas nas amostras, fazendo-se necessária a investigação das possíveis interações entre os compostos, substituindo-se o diluente empregado no estudo, por outro diluente menos enriquecido, a fim de minimizar a reações de precipitação observada.

Dessa forma, o estudo ainda apresentará continuidade, com o intuito de determinar a causa da formação de tais precipitações e assim viabilizar a avaliação do efeito do extrato da casca de noz

pecã, em suas diferentes concentrações como agente antioxidante do sêmen bovino refrigerado.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se, por meio dos resultados parciais obtidos, que se faz necessário a investigação sobre a ocorrência das precipitações nas amostras de sêmen acrescidas com extrato da casca de noz pecã, o que inviabilizou a quantificação da viabilidade do estudo, e assim a avaliação da ação do ECNP como antioxidante em diferentes concentrações no sêmen bovino refrigerado. Ainda é válido ressaltar que a pandemia causada pelo Covid-19 prejudicou o cronograma de realização do projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, A. A.; et al. Antioxidant Evaluation of Extracts of Pecan NutShell (*Carya illinoensis*) in Soybean Biodiesel B100. **Global Challenges**, v. 3, p. 1-10, 2019.

BENVEGNÚ, M. D. Ação protetora da *Carya illinoensis* sobre a toxicidade induzida por ciclofosfamida em ratos. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Farmacologia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, p. 107, 2010.

BRAND-WILLIAM W; et al. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss Technol.** London, v.28, p.25-30, 1995.

CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2ª ed. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, MG. 45p, 2013.

GUERRA, P. M. M; et al. Uso de antioxidantes no sêmen ovino. **Ciência Animal**, Fortaleza, p. 1-11, 2012.

NOGARA, W. J. P. Cultura da noz-pecã (*Carya illinoensis*): aspectos de produção, comercialização e perspectivas futuras na região sul do Brasil. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Pós-Graduação em MBA em Gestão do Agronegócio, Departamento de Economia Rural e Extensão, Setor de Ciências Agrárias), Universidade Federal do Paraná, 2018.

OLIVEIRA, G. L. S. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.17, n.1, p.36-44, 2015.

OLIVEIRA, W; et al. Criopreservação de sêmen e emprego de vitaminas no meio diluidor: Revisão de Literatura. **Scientific Electronic Archives**, v. 11, n.6, p. 1-8, 2018.

OLIVEIRA, M. C.C.; BARBOSA, R. C. F.; FLORES, D. C. Atividade antioxidante de frutas cítricas: adaptação do método DPPH para experimentação em sala de aula. **Química Nova Escola**, v. 10, 2021.

SILVA, C. N; et al. Ação de antioxidantes na manutenção da viabilidade espermática de sêmen bovino criopreservado. **Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 9, n. 17, p. 1-17, 2013.

SILVA, C. N; Uso De Antioxidantes em Diluentes de Criopreservação de Sêmen Bovino. **Tese de Doutorado** (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia), Universidade federal de Goiás, Goiânia, p. 95, 2017.

Palavras-chave: toxicidade; viabilidade espermática; estresse oxidativo; antioxidante.

XI JORNADA DE
INICIAÇÃO CIENTÍFICA
E TECNOLÓGICA

EVENTO ON-LINE
23 A 26 DE NOVEMBRO



Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2020 - 0399

Financiamento: UFFS; Fundação Araucária.