



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

Programa de Iniciação científica voluntária- PICVOL

PROJETO: PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E
TERPENOS DE SEDA DO MILHO (*Stigma maydis*): ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE E CITOTOXICIDADE

PLANO DE TRABALHO: Avaliação do efeito gastroprotetor de
compostos bioativos presentes em *Stigma maydis* (seda do milho)

Área do conhecimento: Ciências Agrárias

Subárea do conhecimento: Ciência e Tecnologia de Alimentos

Especialidade do conhecimento: Valor Nutritivo de Alimentos

Relatório Final

Período da bolsa: 01/09/2023 a 31/08/2024

Este projeto é desenvolvido com bolsa de iniciação científica

Este projeto foi desenvolvido com bolsa de iniciação científica PICVOL

Autor: Rhyan Pablo da Cruz Santos.

Orientador: Elma Regina de Andrade Wartha .

SUMÁRIO

1	Introdução	5
1.1	A importância comercial do milho (<i>Zea mays</i>) e as propriedades benéficas do seu estigma (seda do milho)	5
1.2	Capacidade antioxidante e antiinflamatória de subprodutos do milho	7
1.3	Compostos fenólicos como substâncias antioxidantes presentes na seda do milho	8
1.4	Principais métodos para avaliação da atividade antioxidante	9
2	OBJETIVOS	10
2.1.	Objetivo Geral	10
2.2.	Objetivos específicos	10
3	Metodologia	11
3.1	Amostra	11
3.2	Secagem e obtenção de extratos	11
3.3	Avaliação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>	11
3.3.1.	<i>Redução radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)</i>	11
3.3.2.	<i>Captação do radical ABTS•+</i>	12
3.3.3.	<i>Capacidade antioxidante redutora do íon férrico (FRAP)</i>	12
3.3.4.	<i>Atividade quelante</i>	13
3.4	Teste de viabilidade celular em fibroblastos L929	13
3.5	Animais	14
3.6	Avaliação do efeito gastroprotetor do extrato aquoso de infusão obtida da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>) - Modelo úlcera aguda induzida por etanol acidificado	14
3.7	Análise estatística	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
4.1	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> de infusão de <i>Stigma maydis</i>	15
4.1.1	<i>Varredura do radical DPPH</i>	15
4.1.2	<i>Captação do radical ABTS</i>	16
4.1.3	<i>Atividade quelante de ferro</i>	17
4.1.4	<i>Capacidade redutora do íon férrico (FRAP)</i>	18

4.2	Atividade citotóxica em fibroblastos	19
4.3	Efeito gastroprotetor	20
5	CONCLUSÃO	22
6	PERSPECTIVAS DE FUTUROS TRABALHOS	22
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
7	OUTRAS ATIVIDADES	25
8	JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO PLANO DE TRABALHO	25

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cultivo de milho no campus Rural da Universidade Federal de Sergipe (A) e ilustração da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>) (B)	<u>6</u>
Figura 2 - Estrutura básica de um composto fenólico	<u>8</u>
Figura 3 - Atividade antioxidante de extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>) na presença do radical DPPH•	<u>15</u>
Figura 4 - Atividade antioxidante na presença do radical ABTS•+ de extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>).	<u>16</u>
Figura 5 - Atividade quelante de Fe ²⁺ pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>).	<u>18</u>
Figura 6 - Capacidade redutora do ferro pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>).	<u>19</u>
Figura 7 - Avaliação da citotoxicidade em fibroblastos pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>).	<u>20</u>
Figura 8 - Ensaio in vivo exibindo os aspectos macroscópicos da mucosa gástrica em ratos tratados com extrato aquoso obtido da infusão da seda do milho (<i>Stigma maydis</i>).	<u>20</u>

1 Introdução

A relação entre o ser humano e a natureza apresenta grande importância cultural, social, étnica e religiosa para uma nação. Desde os primórdios, diversas espécies de plantas são utilizadas de forma medicamentosa ou como parte dietética da população (Santos, 2024). Nesse aspecto, é perceptível que as escolhas individuais e coletivas de uma sociedade, atreladas a sua ligação com o meio ambiente, construam saberes que servirão de base para o tratamento de doenças, proteção e melhora da expectativa de vida da população.

Nessa perspectiva, nota-se que, ao longo dos anos, inúmeros estudos comprovaram o impacto que a alimentação apresenta no corpo humano, seja este positivo ou negativo. Dessa forma, procurou-se analisar - em nível celular - as propriedades existentes nos alimentos, principalmente os de origem vegetal. A partir disso, foram observadas propriedades presentes, tais como, antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas de sementes, chás, plantas fitoterápicas e vários outros alimentos (Amatto *et al.*, 2024; Ammar *et al.*, 2022; Shuaib, 2023).

1.1 A importância comercial do milho (*Zea mays*) e propriedades benéficas de seu estigma (seda do milho)

O cultivo de milho (Figura 1 A) enquadra-se na terceira cultura mais cultivada no mundo, apresentando elevada importância para a economia, tanto na produção de ração animal quanto no setor industrial, por meio da produção de óleos, amido e etanol (Referência?).

Dentre os componentes pertencentes ao milho, tem-se a flor feminina composta pelo *Stigma maydis*, popularmente conhecido como seda ou cabelo do milho (Figura 1 B), que é atualmente estudado na literatura em razão da sua propriedade antioxidante, decorrente dos diversos constituintes, nos quais destacam-se: flavonoides, esteroides, alcaloides, sitosterol, dentre outros (Hora; Santana, 2021).

Figura 1 - Cultivo de milho no campus Rural da Universidade Federal de Sergipe (A) e ilustração da seda do milho (*Stigma maydis*) (B).



Ilustração: Souza (2023).

Os flavonoides são substâncias antioxidantes presentes na seda do milho, os quais representam expressivo potencial protetor para a célula. A estabilização proporcionada por eles, a partir da doação de elétrons, reduz radicais livres e, conseqüentemente, evita a oxidação. Além disso, um estudo evidenciou que essas substâncias são capazes de inibir a oxidação lipídica, aumentar os níveis de enzimas antioxidantes e elevar a tolerância à atividade física em camundongos (Peng *et al.*, 2015).

A seda do milho (*Stigma maydis*), ilustrada na Figura 1B, é composta por fios dourados avermelhados, quando em meados de estação da maturidade, e que podem se tornar amarronzados na maturação completa do milho. Também, denominada, popularmente, por “cabelo do milho”, este subproduto do milho geralmente é descartado durante a retirada dos grãos da espiga. Sua composição consiste em cerca de 70% de carboidratos, 11% de resíduos minerais, 10% de lipídios e 6% de proteínas, além de ser rica em compostos fenólicos, flavonoides e óleos voláteis. Essas substâncias encontradas na seda do milho apresentam

propriedades antioxidante, antibacteriana, antialérgica, cardioprotetora, vasodilatadora, antiterogênicas, anticancerígenas e anti-inflamatórias (Elsayed *et al.*, 2022).

1.2 Capacidade antioxidante e antiinflamatória de subprodutos do milho

Jianwei Dong *et al.* (2014) avaliaram a atividade antioxidante e compostos fenólicos presentes na palha, no sabugo e na seda do milho, os quais foram extraídos com água destilada, etanol aquoso, metanol aquoso e acetato de etila, respectivamente. Após investigação dos conteúdos antioxidantes contidos, fez-se uso da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para determinar e quantificar essas substâncias. A partir disso, observou-se altos valores de conteúdo total de fenólicos, de flavonóides e de cetoesteróides na espiga e palha do milho, além de atividade antioxidante no estigma do milho (Dong *et al.*, 2014)

Em outra pesquisa, Chaiittianan *et al.* (2016) estudaram os estigmas de dois cultivos de milho diferentes: o do milho ceroso e do milho doce. Neste estudo, utilizou-se o método FRAP, em que foi analisada a capacidade de redução do íon férrico e o método de varredura do radical DPPH, em que se analisou o potencial de doação de hidrogênio. Ambos os métodos foram capazes de evidenciar a capacidade antioxidante dos cultivos, em que se observou maior atividade nos extratos do milho doce. A elevada concentração de fenólicos totais e flavonoides definiu a atividade antioxidante dos extratos obtidos (Hora; Santana, 2021).

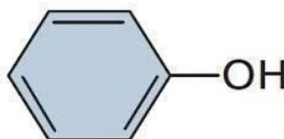
O estudo realizado por Yun Hee Jeong *et al.*, (2017) analisou a capacidade anti-inflamatória do extrato do *Stigma Maydis* (ESM). Para determinar o efeito analgésico e anti-inflamatório, foram realizadas interações com o ácido acético e o edema de ouvido induzido por xileno em camundongos. Os resultados encontrados evidenciaram a capacidade antiinflamatória do ESM, a partir da inibição de proteínas pró-inflamatórias (TNF, IL-6 e IL-1). Além disso, o ESM diminuiu as concentrações de iNOS e COX-2 e suprimiu a secreção de NO em macrófagos estimulados por LPS (Jeong *et al.*, 2017).

1.3 Compostos fenólicos como substâncias antioxidantes presentes na seda do milho (*Stigma maydis*)

Uma substância antioxidante apresenta a capacidade de inibir ou diminuir a oxidação de um substrato. Esse fenômeno ocorre, uma vez que os antioxidantes atuam estabilizando radicais livres, isto é, espécies reativas de oxigênio (ERO'S), que em altas concentrações trazem danos em diferentes graus à célula. As substâncias antioxidantes são classificadas em sintéticas ou naturais. Tocoferóis, vitamina C, carotenóides e compostos fenólicos são exemplos de antioxidantes naturais, enquanto que compostos como BHA (Butylated Hydroxyanisole) e BHT (Butylated Hydroxytoluene) são considerados sintéticos, haja vista que são produzidos apenas industrialmente (Sucupira *et al.*, 2012).

Os compostos fenólicos são as substâncias antioxidantes mais abundantes nos alimentos, principalmente os de origem vegetal. Neste viés, esse grupo é bastante estudado na literatura, em razão da sua capacidade de doar hidrogênio; sendo, portanto, considerado barreira protetiva para a célula. São constituídos pelo menos por um anel aromático (Figura 2), o qual está unido por uma ou mais hidroxilas (Araújo; Santos; Pinto, 2017). Ademais, esses compostos têm sido estudados por reduzir o risco de doenças crônicas não transmissíveis, como câncer e aterosclerose, devido à sua capacidade de reduzir radicais livres, evitar lipogênese e formar complexos estáveis com metais (Martínez-Valverde; Periago; Ros, 2000).

Figura 2 - Estrutura básica de um composto fenólico.



Fonte: Corrêa Rafaela et al (2014), Editora UFLA.

Jianwei Dong et al. (2014) reportaram a quantidade de compostos fenólicos totais presentes na seda do milho, na palha e no sabugo. Isso foi possível a partir do método Folin-Ciocalteu, que consiste em criar uma curva padrão de ácido gálico em diferentes concentrações. Os autores observaram maior quantidade de

fenólicos

totais no extrato etanólico. Ademais, o conteúdo de fenólicos totais encontrados na seda do milho foi percentualmente maior que na palha ou no sabugo (DONG *et al.*, 2014).

1.4 Principais métodos para avaliação da atividade antioxidante

Embora haja vários métodos para avaliação da atividade antioxidante, todos eles apresentam certas características em comum: Presença de um agente antioxidante, substrato adequado e uma estratégia de medida do ponto final. O DPPH é um dos métodos aplicados para essa avaliação, que consiste na capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres (Duarte-Almeida *et al.*, 2006). O método FRAP utiliza-se da redução do complexo férrico em complexo ferroso, quando aquele está na presença de um antioxidante e em meio ácido (Rufino *et al.*, 2006). Por fim, o método do radical ABTS baseia-se na habilidade de um antioxidante em capturar o radical ABTS, ocasionando, desse modo, um decréscimo na absorbância (Sucupira *et al.*, 2012).

Diante do exposto, evidencia-se a importância dessa temática para o campo científico, uma vez que as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias presentes no *Stigma maydis* são importantes na proteção celular; evitando, dessa forma, o aparecimento de diversas doenças cardiovasculares e cancerígenas.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito gastroprotetor e a atividade antioxidante da infusão aquosa obtida a partir da seda do milho (*Stigma maydis*).

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a atividade antioxidante do extrato aquoso de infusão da seda do milho por métodos *in vitro* distintos.
- Verificar o efeito citotóxico da infusão aquosa de *Stigma maydis*.
- Avaliar o efeito gastroprotetor da infusão aquosa em modelo animal.

3 Metodologia

3.1 Amostra

A coleta da seda do milho (*Stigma maydis*) foi realizada a partir do milho produzido no Campus Rural da Universidade Federal de Sergipe, em um período de 18 dias após floração da planta, sendo a melhor fase para colheita da seda do milho a partir da abertura do botão da flor (Figura 1). Após a colheita, as amostras foram encaminhadas ao laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Nutrição (DNUT/UFS) e secas a 60°C, durante 24h. Posteriormente, foram trituradas e embaladas a vácuo, sendo mantidas em freezer a -20 °C, para as análises subsequentes.

3.2 Secagem e obtenção de extratos

Inicialmente, foi obtida a infusão com a seda do milho desidratada em temperatura entre 95 – 100°C. Posteriormente, o chá pronto foi liofilizado em liofilizador (Liobras®, mod. L108, São Carlos, BR) para obtenção do extrato aquoso.

Para o extrato, foram usados 4 g da infusão em pó e diluídos em 200 mL de água destilada. A solução foi mantida sob agitação magnética e em temperatura ambiente (22 – 24°C) por 40 min. O extrato obtido foi filtrado a vácuo e congelado a - 80°C. Posteriormente, foi realizada a liofilização por 48 h, obtendo-se 848,2 mg de extrato seco (rendimento de 21%). O extrato seco foi dissolvido em diferentes concentrações, que foram utilizadas nas análises subsequentes.

3.3 Avaliação da atividade antioxidante *in vitro*

3.3.1. Redução radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

O método utilizado anteriormente por Brand-Williams et al. (1995) foi adotado com algumas modificações para a microplaca. Foram retiradas alíquotas de 50 µL de cada extrato, nas concentrações, e a estas foram adicionados 150 µL de solução metanólica de DPPH• (400 µM) . Após 30 minutos de repouso, a redução do radical DPPH• foi medida a 515 nm em leitor de placas multi (Detection microplate reader Synergy – BIOTEK, Vermont, EUA). Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante). O decréscimo dos valores de densidade óptica das amostras foi correlacionado com o do controle e

estabelecido o percentual de radical remanescente, expresso pela equação:

$$\% \text{ remanescente} = (\text{Abs amostra} \times 100) / \text{Abs controle}$$

Onde: “Abs amostra” e “Abs controle” são a absorbância observada na amostra e no sistema (sem antioxidante), respectivamente.

Os resultados também foram expressos em IC50, correspondente à quantidade de amostra necessária para neutralizar 50% do radical DPPH•.

3.3.2. *Captação do radical ABTS•+*

Foi adotado o método descrito por Re et al. (1999), com algumas adaptações para microplacas. O ABTS foi preparado 16 horas antes das análises com adição de persulfato de potássio e solução estoque de ABTS•+, sendo mantido em ambiente escuro. No dia da análise o radical foi estabilizado em 720 nm, sendo diluído em etanol.

Em ambiente escuro, uma alíquota de 30 µL de cada diluição foi transferida para microplaca em quadruplicata, adicionando-se então 300 µL do radical ABTS•+ (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) . Após 6 minutos, foi realizada a leitura em leitor de placas multi (Detection microplate reader Synergy – BIOTEK, Vermont, EUA), a 734nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de radical remanescente da mesma equação utilizada no método DPPH e também, expressos em IC50, correspondente à quantidade de amostra necessária para neutralizar 50% do radical ABTS•+.

3.3.3. *Capacidade antioxidante redutora do íon férrico (FRAP)*

O método empregado por (Oyaizu, 1986) foi utilizado com algumas modificações para microplaca. Em ambiente escuro, alíquotas de 9 µL de cada diluição de extrato foram retiradas para a placa em quadruplicata, foram adicionados 27 µL de água destilada juntamente com 270 µL de reagente FRAP (TPTZ, solução de cloreto férrico e tampão acetato 0,3 M pH 3,6 – proporção 1:1:10). A placa foi mantida em estufa a 37°C por 30 minutos.

Em seguida, foram realizadas leituras em leitor de placas multi (Detection microplate reader Synergy – BIOTEK, Vermont, EUA), a 595 nm. Todas as leituras

foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos em μM equivalentes de trolox, utilizando a curva Trolox nas concentrações de 100 a 2.000 μM ($y = 0,0009x + 0,1422$; $R^2=0,993$).

3.3.4. Atividade quelante

Inicialmente, alíquotas de 50 μL de cada concentração de extrato foram pipetadas para microplacas, seguidas de 160 μL de água ultrapura e 20 ml de sulfato ferroso 0,3 mM. Após 5 minutos, foram adicionados 20 μL de ferrozina 0,8 mM. Após 15 min, as absorbâncias foram lidas em em leitor de placas multi (Detection microplate reader Synergy – BIOTEK, Vermont, EUA), a 562 nm. As análises foram acompanhadas de sistema (sem antioxidante) e EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) na concentração de 50 $\mu\text{g/ml}$. Os resultados foram expressos na porcentagem restante de Fe^{2+} calculada a partir da seguinte equação:

$$\% \text{Fe}^{2+} \text{ restante} = (\text{Abs do sistema} - \text{Abs da amostra} \times 100) / \text{Abs do sistema}$$

Onde: “Sample Abs” e “Control Abs” são, respectivamente, as absorbâncias observadas na amostra e no sistema (sem antioxidante).

3.4 Teste de viabilidade celular em fibroblastos L929

Os testes foram realizados conforme estudo realizado anteriormente (Oliveira et al., 2017). A viabilidade celular foi avaliada usando o ensaio colorimétrico de metiltiazolil tetrazólio (MTT) para medir a atividade do metabolismo celular. Fibroblastos L929 foram cultivados em DMEM (Sigma Aldrich, EUA) contendo 10% de soro bovino fetal (Life Technologies, Índia), 50 UI/mL de penicilina (Life Technologies, Índia) e 50 $\mu\text{g/mL}$ de estreptomicina (Life Technologies, Índia) em um atmosfera de 5% CO_2 (37°C).

Os fibroblastos foram semeados em placas de cultura de 96 poços (2 x 10⁴ células/poço) e depois tratados com EAq nas concentrações finais de 50, 100 e 200 $\mu\text{g/mL}$ por 24 h. Em seguida, o MTT (0,5 mg/mL em solução salina tamponada com fosfato (PBS)) foi colocado em contato com as células e incubado a 37°C por 3 h. Após a remoção do MTT, foi adicionado dimetilsulfóxido (DMSO, 100%;

Merck, Brasil) para solubilizar os cristais do sal de tetrazol e a absorbância foi medida a 570

nm. Os testes foram realizados três vezes e em triplicata e depois normalizados considerando a absorbância do controle como 100% de viabilidade.

3.5 Animais

Foram utilizados camundongos heterogênicos, machos, da linhagem Swiss (28- 32 g), provenientes do Biotério Central da UFS. Os animais foram alojados em caixas plásticas (dimensões de 30 x 19 x 13 cm) contendo 5 camundongos cada, em ambiente com temperatura controlada (21-23°C) e mantidos com água e ração *ad libitum* e ciclo claro/escuro de 12 h/12 h.

Os protocolos experimentais foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFS sob o protocolo CEUA N° 4575141221. Para realização dos experimentos, os animais foram distribuídos aleatoriamente nos grupos experimentais. O avaliador estava encoberto sobre a identidade dos grupos experimentais.

3.6 Avaliação do efeito gastroprotetor do extrato aquoso de infusão obtida da seda do milho (*Stigma maydis*) - Modelo

Para avaliação da atividade gastroprotetora foi utilizado o método descrito por Mizui e Doteuchi (1983), de úlcera aguda induzida por etanol acidificado. Após 12 horas de jejum alimentar, os animais (n=8) foram submetidos a administração por via oral (gavagem) de veículo (Tween 80 a 0,2% em água, 10 mL/kg, v.o.), ranitidina (fármaco padrão, 50 mg/kg, v.o.) ou extrato aquoso nas concentração de 300 mg/kg (v.o.). Após 60 min., os camundongos receberam, via oral (gavagem), água ou solução de etanol a 60% contendo HCl a 0,3 M (10 mL/kg). Transcorrido o período de indução da lesão gástrica (60 min.), os animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical (sob anestesia com inalação de halotano), os estômagos foram retirados e abertos pela grande curvatura e feita fotografados a distância de 15 cm.

3.7 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão. As diferenças entre as médias foram testadas para significância estatística empregando análise de variância (ANOVA), e teste de Tukey. Todas as análises estatísticas foram

realizadas com o software GraphPad 8.0, adotando-se significância estatística de $p < 0,05$.

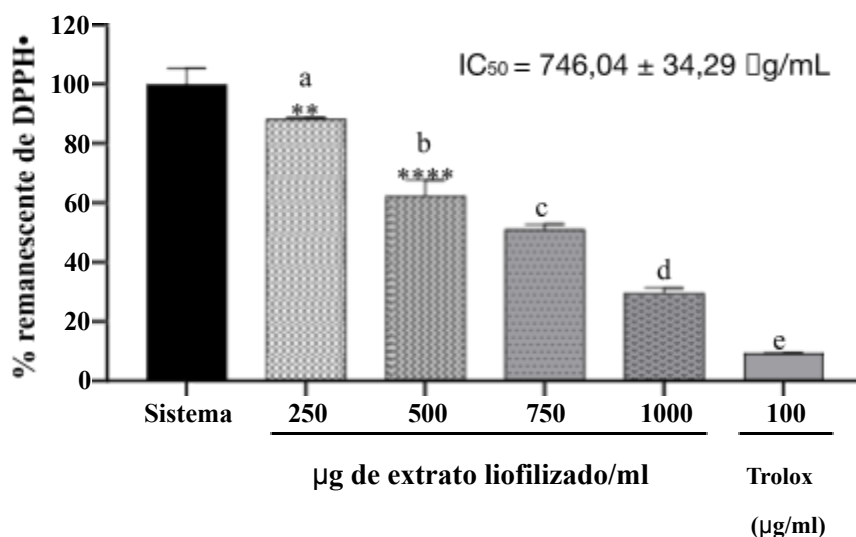
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Atividade antioxidante *in vitro* de infusão de *Stigma maydis*

4.1.1 Varredura do radical DPPH

Na figura 3, pode-se notar o percentual de inibição do radical DPPH pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*), caracterizando expressiva atividade antioxidante.

Figura 3 - Atividade antioxidante de extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*) na presença do radical DPPH•.



Resultados expressos em média ($n = 3$) ± desvio padrão. Análise one-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey como post-hoc. **: $p = 0,0087$ em relação ao sistema (sem antioxidante); ****: $p < 0,0001$ em relação ao sistema. Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre grupos. Sistema: sem antioxidantes.

Observou-se a atividade antioxidante na presença do radical DPPH. O eixo Y representa o % remanescente de DPPH, enquanto que o eixo X representa a concentração do extrato liofilizado/mL (Figura 1). Constatou-se que a medida que a concentração do extrato foi aumentada, maior foi a atividade antioxidante, demonstrando efeito dose-dependente. Além disso, observa-se que o valor de IC 50 compreende concentração abaixo do valor máximo, o que demonstra a efetividade do

extrato, haja vista que com apenas 750µg/mL consegue inibir 50% a ação do radical.

O método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é uma técnica comumente empregada para avaliar a capacidade antioxidante de compostos ou extratos, pelo qual se

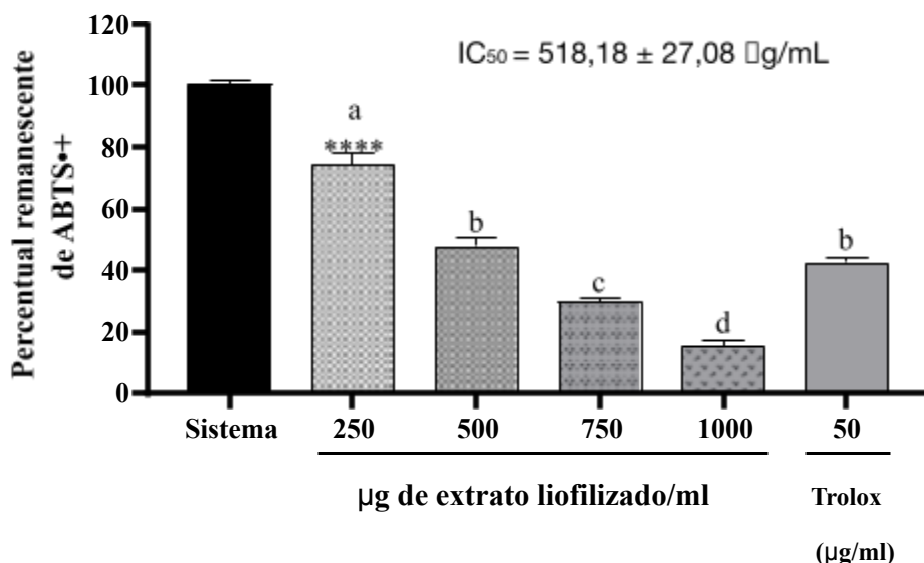
fundamenta na capacidade de um antioxidante em sequestrar radicais livres, o que reflete sua eficácia na redução do estresse oxidativo (DUARTE-ALMEIDA *et al.*, 2006).

Ummara Khan et al. (2023) verificaram a otimização das condições de extração e isolamento de compostos fenólicos ligados à seda do milho (*Stigma maydis*) e seus efeitos antioxidantes, cuja extração otimizada foi a de hidrólise alcalina de fitoquímicos ligados da seda de milho a partir do conteúdo fenólico total e na atividade de eliminação de radicais DPPH. Nesse estudo, corroborou-se a capacidade antioxidante da seda do milho (Khan Ummara et al, 2023, [s. d.]).

4.1.2 Captação do radical ABTS

Foi avaliada a atividade antioxidante do extrato obtido da infusão da seda do milho na presença do radical ABTS. O eixo Y representa o % remanescente de ABTS, enquanto que o eixo X representa a concentração do extrato liofilizado/mL (Figura 4).

Figura 4 - Atividade antioxidante na presença do radical ABTS•+ de extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*).



Resultados expressos em média ($n = 3$) ± desvio padrão. Análise one-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey como post-hoc.****: $p < 0,0001$ em relação ao sistema (sem antioxidante). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre grupos. Sistema: sem antioxidantes.

Da mesma forma que a atividade antioxidante frente ao radical DPPH, foi também observada a relação dose-dependente entre o extrato e a atividade

antioxidante, isto é, quanto maior a concentração do extrato, maior é a atividade de inibição radicalar. Ademais, o IC₅₀, teve maior efetividade de redução de 50% do radical ABTS quando comparado ao DPPH, considerando que necessita de concentração de aproximadamente 519 µg/mL frente a 746 µg/mL para o DPPH.

O método de redução do radical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina- 6-sulfônico)) é empregado para avaliar a capacidade antioxidante de diversas substâncias. Semelhante ao método DPPH, mede a habilidade de compostos ou extratos em sequestrar radicais livres, fornecendo indicativo da atividade antioxidante e, por consequência, da proteção contra o estresse oxidativo (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

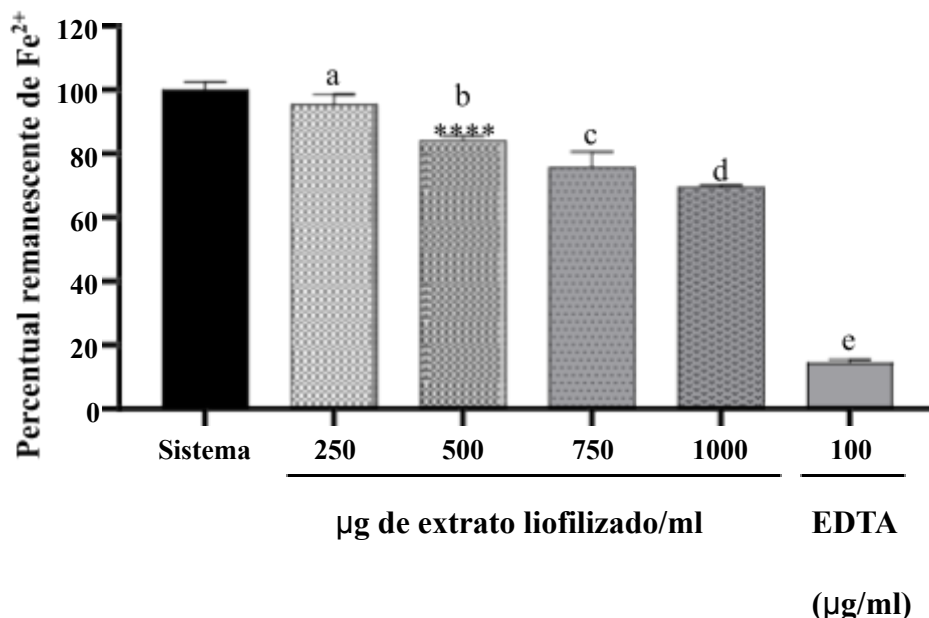
Wang et al. (2022) reportaram flavonóides da seda do milho (*Stigma maydis*) com atividade antioxidante e inibitória da tirosinase . Os compostos foram avaliados pelos métodos de varredura do DPPH, capacidade redutora do ferro (FRAP) e redução do radical ABTS. Nesse estudo, constatou-se maior atividade de eliminação de radicais livres do que o antioxidante padrão trolox pelo método de captura do radical ABTS (Wang *et al.*, 2023).

4.1.3 Atividade quelante de ferro

Observou-se a atividade quelante do ferro detectado por ferrozina (Figura 5). O eixo Y representa o % remanescente de Fe⁺², enquanto que o eixo X representa a concentração do extrato liofilizado/mL. Apesar do efeito dose-dependente ter sido mais discreto em relação aos demais métodos, anteriormente citados, destaca-se que quanto maior a concentração do extrato, maior é sua atividade quelante (Figura 5).

Asuman Kan et al. (2012) observaram propriedades neuroprotetoras *in vitro* dos extratos de *Stigma maydis* de quatro variedades de milho, em que utilizou métodos que revelam a capacidade antioxidante com base no íon ferro, são eles: capacidade de quelação do ferro e capacidade redutora do ferro. Nesse estudo, evidenciou-se que o aumento da absorbância na reação foi diretamente proporcional à capacidade redutora dos extratos (Kan *et al.*, 2012).

Figura 5 - Atividade quelante de Fe^{2+} pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*).



Resultados expressos em média ($n = 3$) $\pm$ desvio padrão. Análise one-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey como post-hoc.****: $p < 0,0001$ em relação ao sistema (sem antioxidante). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre grupos. Sistema: sem antioxidantes.

4.1.4 Capacidade redutora do íon férrico (FRAP)

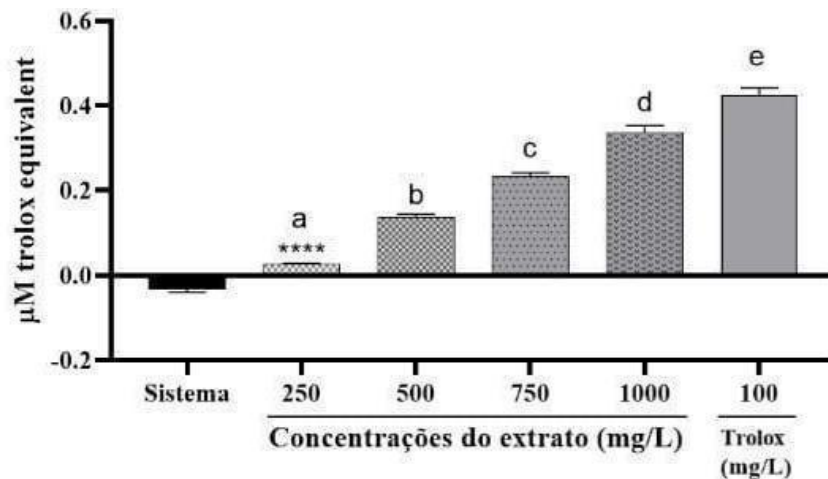
Finalizando o potencial antioxidante do extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*) foi feita a avaliação da capacidade redutora do ferro, conforme ilustrada na figura 6. O eixo Y representa a concentração μM trolox equivalente, enquanto que o eixo X representa a concentração do extrato (mg/L). Também, pode-se observar o efeito dose-dependente, à medida que aumentou a concentração do extrato houve acréscimo na atividade antioxidante.

O método FRAP é comumente utilizado para analisar a capacidade antioxidante de compostos, extratos ou alimentos. Essa abordagem avalia a capacidade de uma substância em converter íons férricos (Fe^{3+}) em íons ferrosos (Fe^{2+}), refletindo a potência antioxidante do material investigado (Rufino et al., 2006).

Zoran Maksimovic et al. (2005) determinaram o conteúdo de polifenóis e atividade antioxidante de extratos de *Stigma maydis*. A atividade antioxidante dos extratos aquosos de acetona foi medida pelo ensaio FRAP. Foi identificada correlação

linear positiva entre a atividade antioxidante e os teores de todas as classes de polifenóis examinadas.

Figura 6 - Capacidade redutora do ferro pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*).



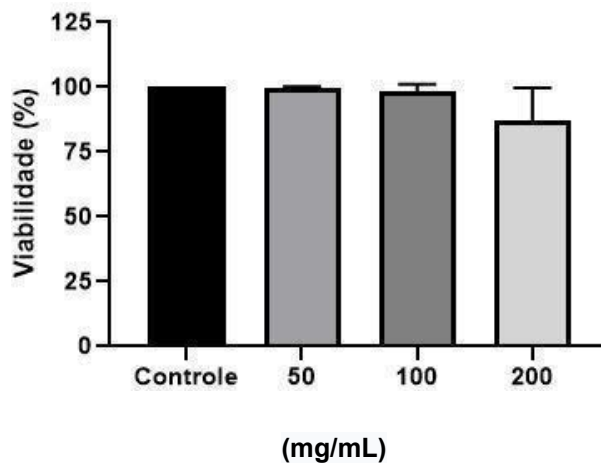
Resultados expressos em média ($n = 3$) $\pm$ desvio padrão. Análise one-way ANOVA seguida pelo teste de Tukey como post-hoc.****: $p < 0,0001$ em relação ao sistema (sem antioxidante). Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa entre grupos. Sistema: sem antioxidantes.

4.2 Atividade citotóxica em fibroblastos

Foi observada a citotoxicidade ou não em fibroblastos L929 representada na figura 7, cujo eixo Y consiste no percentual de viabilidade, enquanto que o eixo X, a concentração do extrato (mg/L). Destaca-se que não houve diferença quanto a efeito citotóxico nas diferentes concentrações do extrato, cujos percentuais de viabilidade celular compreenderam acima de 85%; sendo assim, não houve efeito danoso para as células.

Jeong et al. (2017) analisaram as propriedades antiinflamatórias do *Stigma maydis*, além do seu mecanismo molecular. Determinou-se o efeito analgésico e antiinflamatório do *Stigma maydis* a partir de respostas de contorção induzidas por ácido acético e edema de orelha induzido por xileno em camundongos. Como resultado, o estudo identificou que o *Stigma maydis* foi capaz de reduzir os níveis de iNOS e COX-2 sem causar citotoxicidade.

Figura 7 - Avaliação da citotoxicidade em fibroblastos pelo extrato aquoso de infusão liofilizada obtida da seda do milho (*Stigma maydis*).

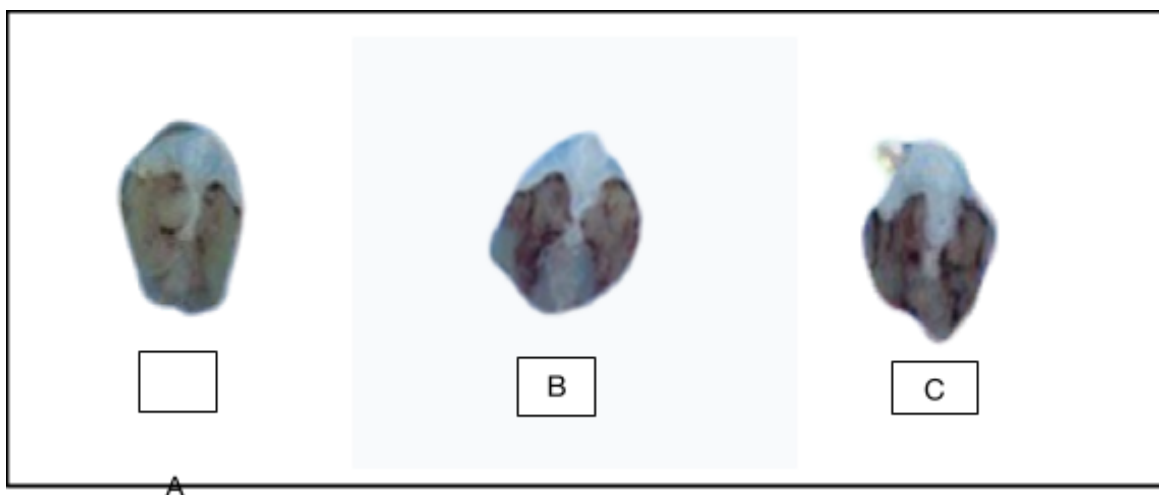


Resultados expressos em média ($n = 3$) $\pm$ desvio padrão.

4.3 Efeito gastroprotetor

Foi realizado teste para verificar o efeito gastroprotetor em modelo animal de úlcera aguda induzida por etanol acidificado, como pode ser observado nas figuras 8A, B e C.

Figura 8 - Ensaio *in vivo* exibindo os aspectos macroscópicos da mucosa gástrica em ratos tratados com extrato aquoso obtido da infusão da seda do milho (*Stigma maydis*).



(A) Grupo controle positivo (-) sem tratamento; **(B)** Grupo controle positivo (+) tratado com dexametasona e **(C)** Grupo tratado com úlcera aguda induzida por etanol acidificado + 300mg/kg de extrato aquoso de infusão da seda do milho. Ilustração: Alves (2024).

O etanol acidificado provocou lesões graves na mucosa gástrica do controle positivo com indução de úlcera gástrica (+), apresentando ulcerações e focos

hemorrágicos no estômago, como pode ser observado na Figura 6B, em comparação ao controle positivo sem indução (Figura 8A). Contudo, não foi observado efeito gastroprotetor no grupo induzido com úlcera aguda, tratado com o extrato aquoso (Figura 8C) em comparação com o grupo lesionado (figura 8B). Os aspectos morfológicos não se diferenciaram entre ambos grupos como podem ser verificados na figura 8C comparando-a com a figura 8B.

5 CONCLUSÃO

A infusão aquosa da seda do milho apresenta-se como fonte relevante de compostos fenólicos e flavonóides. A partir dos métodos, FRAP, DPPH, ABTS e atividade quelante do ferro, constatou-se a atividade antioxidante do cabelo do milho, rico em diversos compostos com atividade antioxidante.

Apesar de não ter sido observado efeito gastroprotetor, a infusão a partir da seda do milho (*Stigma maydis*) apresenta expressiva atividade antioxidante e não causa toxicidade ao organismo, logo os compostos bioativos presentes na seda do milho, como antioxidantes naturais, podem atuar como agentes protetivos na redução do risco de diversas doenças crônicas não transmissíveis. No entanto, faz-se necessária a continuidade dessa temática, a partir de mais estudos, para maiores esclarecimentos.

6 PERSPECTIVAS DE FUTUROS TRABALHOS

Dar continuidade a atividade antioxidante e antiinflamatória da infusão a partir da seda do milho (*Stigma maydis*) em outros modelos de ensaio *in vivo*, além de testar outras concentrações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- AMATTO, P. de P. G.; CHAVES, L.; BRAGA, G. G.; CARMONA, F.; PEREIRA, A. M. S. Effect of *Crocus sativus* L. (saffron) and crocin in the treatment of patients with type-2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 319, n. Pt 2, p. 117255, 30 jan. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117255>.
- AMMAR, R. B.; KHALIFA, A.; ALAMER, S. A.; HUSSAIN, S. G.; HAFEZ, A. M.; RAJENDRAN, P. Investigation of the potential anti-urolithiatic activity of *Alhagi maurorum* (Boiss.) grown wild in Al-Ahsa (Eastern Province), Saudi Arabia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, p. e259100, 27 abr. 2022. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.259100>.
- DONG, J.; CAI, L.; ZHU, X.; HUANG, X.; YIN, T.; FANG, H.; DING, Z. Antioxidant activities and phenolic compounds of cornhusk, corncob and stigma maydis. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 1956–1964, nov. 2014. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140177>.
- ELSAYED, N.; MARREZ, D. A.; ALI, M. A.; EL-MAKSoud, A. A. A.; CHENG, W.; ABEDELMAKSoud, T. G. Phenolic Profiling and In-Vitro Bioactivities of Corn (*Zea mays* L.) Tassel Extracts by Combining Enzyme-Assisted Extraction. **Foods**, v. 11, n. 14, p. 2145, 20 jul. 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11142145>.
- HORA, D.; SANTANA, N. R. Avaliação metabolômica e atividade antioxidante, citotóxica e antimicrobiana de extratos do estigma de *zea mays* l. 5 mar. 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufba.br/handle/ri/32956>. Acesso em: 11 jun. 2024.
- JEONG, Y. H.; OH, Y.-C.; CHO, W.-K.; YANG, H. J.; MA, J. Y. Maydis Stigma Elicits Analgesia and Blocks Edema in Mice and Inhibits Inflammation in Macrophages. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 45, n. 7, p. 1477–1496, 2017. <https://doi.org/10.1142/S0192415X1750080X>.
- MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. [Nutritional importance of phenolic compounds in the diet]. **Archivos Latinoamericanos De Nutricion**, v. 50, n. 1, p. 5–18, mar. 2000.
- MIZUI, T.; DOTEUCHI, M. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Jpn J Pharmacol*, v. 33, p. 939-945, 1983
- PENG, K.-Z.; YANG, X.; ZHOU, H.-L.; PAN, S.-X. Safety Evaluation, in Vitro and in Vivo Antioxidant Activity of the Flavonoid-Rich Extract from Maydis stigma. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 20, n. 12, p. 22102–22112, 10 dez. 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules201219835>.
- SANTOS, L. SciELO - Brasil - A medicina tradicional ribeirinha em vozes femininas A medicina tradicional ribeirinha em vozes femininas. 2024. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/bgoeldi/a/8jGMjnhd5yQVf8DkTjdFbsw/?lang=pt>. Acesso em: 11 jun. 2024.

SHUAIB, M. SciELO - Brasil - Traditional knowledge about medicinal plant in the remote areas of Wari Tehsil, Dir Upper, Pakistan Traditional knowledge about medicinal plant in the remote areas of Wari Tehsil, Dir Upper, Pakistan. 2023. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/t9vFsDcpjdtGTcrxPTB44YG/?lang=en>. Acesso em: 11 jun. 2024.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Methods for Measuring Antioxidant Activity of Fruits. **UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde**, v. 14, p. 263–269, 1 jan. 2012. .

ARAÚJO, D. S. de; SANTOS, J. dos; PINTO, L. C. Teor de compostos fenólicos totais em variedades de uvas roxas (*Vitis labruscas*). **Nutrição Brasil**, v. 16, n. 4, p. 231–235, 24 out. 2017. <https://doi.org/10.33233/nb.v16i4.1274>.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; SANTOS, R. J. dos; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 446–452, jun. 2006. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612006000200031>.

RUFINO ET AL. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP) - Portal Embrapa. 2006.

Disponível em:

<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/664098/metodologia-cientifica-determinacao-da-atividade-antioxidante-total-em-frutas-pelo-metodo-de-reducao-do-ferro-frap>. Acesso em: 1 jul. 2024.

KAN, A.; ORHAN, I.; COKSARI, G.; SENER, B. In-vitro neuroprotective properties of the Maydis stigma extracts from four corn varieties. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 63, n. 1, p. 1–4, fev. 2012. <https://doi.org/10.3109/09637486.2011.590797>.

KHAN UMMARA ET AL, 2023. Optimizing extraction conditions and isolation of bound phenolic compounds from corn silk (*Stigma maydis*) and their antioxidant effects. [s. d.]. Disponível em:

<https://www-periodicos-capes-gov-br.ezl.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/busca.html?task=detalhes&source=&id=W4383621033>. Acesso em: 16 ago. 2024.

MAKSIMOVIC ET AL., 2005. Polyphenol contents and antioxidant activity of Maydis stigma extracts. [s. d.]. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ezl.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/busca.html?task=detalhes&source=&id=W2015960883>. Acesso em: 17 ago. 2024.

WANG, J.-Y.; ZHOU, W.-Y.; HUANG, X.-X.; SONG, S.-J. Flavonoids with antioxidant

and tyrosinase inhibitory activity from corn silk (*Stigma maydis*). **Natural Product Research**, v. 37, n. 5, p. 835–839, mar. 2023.

<https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2089986>.

7 OUTRAS ATIVIDADES

- Curso cuidado da criança com sobrepeso e obesidade na Atenção Primária à Saúde.
- IX SEMAC- Perda de massa gorda e a preservação de massa magra em atletas de elite.
- IX SEMAC- Tenda Maria Emília: Ampliando diálogos a cerca da segurança alimentar e nutricional entre as distintas áreas de conhecimento.
- IX SEMAC- I Mostra de pesquisa do programa de Pós Graduação em Ciências da Nutrição (PPGCNUT/UFS).
- Curso preparatório Pré-Pibic.
- Extensão: Núcleo de pesquisa Materno Infantil.

8 JUSTIFICATIVA DE ALTERAÇÃO NO PLANO DE TRABALHO

Não houve alteração.