



POLIFENÓIS E ATIVIDADE ANTIRRADICAL LIVRE DO CÁLICE DA VINAGREIRA (*Hibiscus sabdariffa*, L).

Larissa Lages Rodrigues¹, Maria Marcia Dantas de Sousa², Jurandy do Nascimento Silva³, Alessandro de Lima⁴

^{1,2} Graduandas em Tecnologia em alimentos- IFPI. e-mail: larisages@hotmail.com; mariamarciadantas@hotmail.com

³ Técnico de Laboratório de Alimentos- IFPI. e-mail: jurandy@ifpi.edu.br

⁴ Professor Doutor- IFPI. e-mail: alessandro@ifpi.edu.br

Resumo: Os antioxidantes agem nos organismos vivos por meio de diferentes mecanismos com o intuito de neutralizar os radicais livres, combatendo assim as diversas doenças crônicas não transmissíveis. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antioxidante e quantificar os fenólicos totais do cálice da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*) a partir da obtenção dos extratos aquoso, etanólico e acetônico. Os extratos foram obtidos utilizando-se 20 g da amostra, previamente triturada, e 100 mL de solvente (água, álcool e acetona). A atividade antioxidante foi realizada utilizando-se o radical ABTS•+, os valores de TEAC foram de 99,4; 101,4 e 132,1 mM/g, respectivamente, para os extratos aquoso, etanólico e acetônico. Os fenólicos totais foram analisados por espectrofotometria utilizando o reagente de Follin Dennis, obteve-se valores de 79,2; 83,6 e 80,0 mg/100g para os extratos aquoso, etanólico e acetônico respectivamente. Todos os extratos apresentaram elevada capacidade antioxidante, se destacando o extrato acetônico.

Palavras-chave: abts, antioxidante, cálice, fenólicos

1. INTRODUÇÃO

Apesar de todo desenvolvimento tecnológico e da realização de diversas pesquisas concretizadas até hoje, as informações existentes ainda são insuficientes para desvendar a função de todos os alimentos no organismo humano. Os pesquisadores vêm analisando cada vez mais os chamados alimentos funcionais, dentre os quais, os estudos dos alimentos que atuam como antioxidantes no organismo combatendo radicais livres e por consequência prevenindo o surgimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis, como aterosclerose, doenças cardiovasculares e o câncer. Todos os estudos mostram que o sistema de defesa antioxidante humano endógeno não é completo, necessitando, portanto, dos antioxidantes dietéticos, o que confirma a importância da ingestão diária destes compostos. Dessa forma, o consumo de antioxidantes apresenta vários benefícios, proporcionando uma melhoria na qualidade de vida da população (RATNAM et al., 2006).

Sies e Stahl (1995) conceituam antioxidantes como qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz. Já Oga; Camargo e Batistuzzo (2008) conceituam radical livre como qualquer espécie química capaz de existir independentemente, que contenha um ou mais elétrons não pareados ocupando orbitais atômicos ou moleculares. Em geral essas espécies são instáveis, têm meia-vida muito curta e reagem rapidamente com diversos compostos e alvos celulares, podem ser formados pela perda ou adição de um único elétron a um composto não radicalar.

Os antioxidantes, de acordo com sua forma de neutralização dos radicais livres, podem ser classificados em duas categorias principais: antioxidantes primários e antioxidantes secundários. São considerados primários os compostos capazes de inibir ou retardar a oxidação por inativação de radicais livres graças à doação de átomos de hidrogênio ou de elétrons, o que transforma os radicais em substâncias estáveis. Os antioxidantes secundários apresentam uma grande variedade de modos de ação: ligação de íons metálicos (alteração de valência); inativação de EROs, conversão de hidroperóxidos em espécies não-radicalares ou absorção de radiação UV (MAISUTHISAKUL; SUTTAJIT e PONGSAWATMANIT, 2007). Esses antioxidantes agem nos organismos vivos por

meio de diferentes mecanismos. Dentre estes, podem ser citados: a complexação de íons metálicos, a captura de radicais livres, a decomposição de peróxidos, a inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e a modulação de vias sinalizadoras celulares (VASCONSELOS; SILVA e GOULART, 2006).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular e pela exposição à fatores exógenos. Contudo, na condição de pró-oxidante a concentração desses radicais pode aumentar devido à maior geração intracelular ou pela deficiência dos mecanismos antioxidantes (CERUTTI, 1991, 1994).

Os constituintes alimentares mais estudados atualmente que apresentam propriedades antioxidantes são os compostos fenólicos que atuam como sequestradores de radicais e como quelantes de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação, como na de propagação do processo oxidativo. Isto leva a produção de produtos intermediários, relativamente estáveis devido à ressonância do anel aromático apresentada por estas substâncias (NAWAR, 1985).

A vinagreira também chamada de azedinha, azeda-da-guiné, caruru-azedo, carurada-guiné, chada-jamaica, pampolha, pampulha, papoula, papoula-de-duas-cores, quiabeiro-azedo, quiabo-azedo, quiabo-de-angola, quiabo-róseo, quiabo-roxo, rosélia e vinagreira”. É um arbusto perene, que pode atingir cerca de 2 a 3m de altura, sendo cultivada devido ao interesse em suas folhas, cálices, sementes e fibras, que são utilizados na alimentação de animais, como fonte de fibras para a indústria de tecido e papel e para preparar bebidas com objetivos culinários e medicinais.

Diante da relevância que tem alcançado as análises à procura de alimentos como fonte de antioxidantes, este trabalho teve como objetivo quantificar o teor de fenólicos totais, assim como avaliar a atividade antioxidante do cálice da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*, L).

2.MATERIAL E MÉTODOS

Os Cálices da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*, L) foram adquiridos no mercado central de Teresina, de onde foram transportados para o Laboratório de Alimentos do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI, Campus Teresina Zona Sul, onde foram higienizados com água clorada (50 ppm) e triturados em moinho analítico, seguido da retirada de alíquotas para o preparo dos extratos.

A obtenção dos extratos aquoso, etanólico e acetônico do cálice da vinagreira foi realizado partindo de 20 g da amostra, onde as extrações foram realizadas na proporção de 1:10 (amostra : solvente) e os solventes utilizados foram acetona P.A, álcool etílico absoluto P.A e água destilada. As amostras foram submetidas à agitação constante, em mesa giratória, durante uma hora e em seguida filtradas à vácuo utilizando papel filtro Whatman nº4. Os extratos obtidos foram armazenados em frascos de vidro âmbar e estocados sob refrigeração até o momento das análises.

Para a verificação da atividade antioxidante, usou-se a metodologia descrita por *Re et al.* (1999), onde inicialmente gerou-se o radical a partir da reação de 7 mM de ABTS•+ com 2,45 mM de persulfato de potássio (Figura 1), deixando-se em seguida a solução incubada à temperatura ambiente e na ausência de luz por 12 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até obter-se uma solução com absorvância de $0,70 \pm 0,01$, a 734 nm.

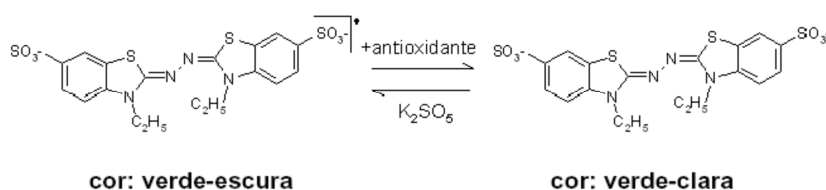


Figura 1. Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio, extraído de RUFINO et al. (2007).



Para realizar as leituras, foram adicionados 40 μL da amostra a 1.960 μL da solução de ABTS \bullet^+ . Determinou-se a absorbância em espectrofotômetro a 734 nm, nos tempos de 2, 5, 10, 20, 30 minutos de reação. Como solução padrão, usou-se o antioxidante sintético trolox nas concentrações de 2,5 - 15 μM em etanol. Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em mM de trolox por grama de amostra.

A determinação dos compostos fenólicos totais foi segundo metodologia de Swain (1959), sendo adaptada por Lima (2008), onde do filtrado final de cada amostra, pegou-se 0,5 mL e adicionou-se 8 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin Ciocalteau. Procedeu-se homogeneizando a solução e, após 3 minutos, colocou-se 1 mL da solução de NaCO_3 . Transcorrido 1 hora em repouso no escuro, foram realizadas as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro a 720 nm, como solução padrão utilizou-se o ácido gálico, para construção da curva de calibração nas concentrações de 5, 10, 20, 40, 60 e 80 mg/L. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão, foi aplicado a Análise de Variância (ANOVA), seguido de teste de Tukey para avaliar possíveis diferenças estatísticas.

3.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antioxidante frente ao radical livre sintético ABTS, encontram-se descritos na tabela 0. Os resultados deste estudo foram expressos como valor de TEAC (atividade antioxidante total equivalente ao trolox) que é dito como a concentração de TROLOX que apresenta o mesmo percentual de inibição que uma concentração de 1nM do composto utilizado como referência.

Na tabela 01 é possível verificar que os três extratos estudados apresentaram elevada capacidade de sequestrar os radicais ABTS \bullet^+ com valores TEAC variando de 34,925 mM/g, aos 2 minutos, a 99,425 mM/g aos 30 minutos para o extrato aquoso. O extrato etanólico apresentou valores TEAC que variaram de 59,925 mM/g, no tempo 2 minutos, a 101,425 mM/g no tempo 30 minutos; Já o extrato acetônico apresentou maior atividade antioxidante ($p < 0,05$) em relação aos demais extratos estudados, com uma variação nos valores TEAC de 87,675 a 132,175 mM/g, nos tempos de 2 e 30 minutos, respectivamente.

Lima (2008) avaliando polpas das frutas do pequi encontrou valores TEAC de 2,27 e 0,92 no tempo de 30 minutos para os extratos aquoso e etanólico respectivamente. Já Vieira et al. (2011) analisando extrato aquoso de polpas de frutas obteve TEAC de (1,605) acerola, (0,094) bacuri, 0,198 para goiaba, (0,140) cajá, (0,212) caju e (0,075) para tamarindo. Demonstrando que o cálice da vinagreira possui uma elevada capacidade em combater os radicais livres, possuindo um alto potencial a ser explorado como alimento funcional.

Tabela 1. Valor TEAC (Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao TROLOX), expressos em mM de trolox / g de amostra fresca pelo método ABTS para os extratos aquoso, etanólico e acetônico do cálice da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*).

Extratos	VALOR TEAC (mM de trolox/g de amostra fresca)				
	2 min	5 min	10 min	20 min	30 min
Aquoso	34,925 \pm 0,01 ^{a,A}	81,675 \pm 0,02 ^{a,B}	90,925 \pm 0,04 ^{a,C}	97,175 \pm 0,04 ^{a,D}	99,425 \pm 0,04 ^{a,E}
Etanólico	59,925 \pm 0,04 ^{b,B}	84,675 \pm 0,03 ^{b,C}	89,925 \pm 0,03 ^{b,D}	96,925 \pm 0,03 ^{b,E}	101,425 \pm 0,03 ^{b,F}
Acetônico	87,675 \pm 0,05 ^{c,C}	122,175 \pm 0,02 ^{c,D}	125,175 \pm 0,02 ^{c,E}	130,175 \pm 0,01 ^{c,F}	132,175 \pm 0,00 ^{c,G}

^{a, A, B, C} Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não apresentam diferença estatística entre si pelo teste de Tukey a 5%. Letras minúsculas comparação entre extratos e letras maiúsculas comparação entre os tempos.

Na figura 2 é possível se visualizar a curva cinética da atividade antioxidante dos extratos do cálice da vinagreira. Sendo que o padrão trolox reage rapidamente com radicais livres e aos 2 minutos praticamente estabiliza-se. Os extratos aquoso, etanólico e acetônico reagem bem até os 5 minutos com os radicais livres e permanecem reagindo até os 30 minutos só que de forma menos acentuada.

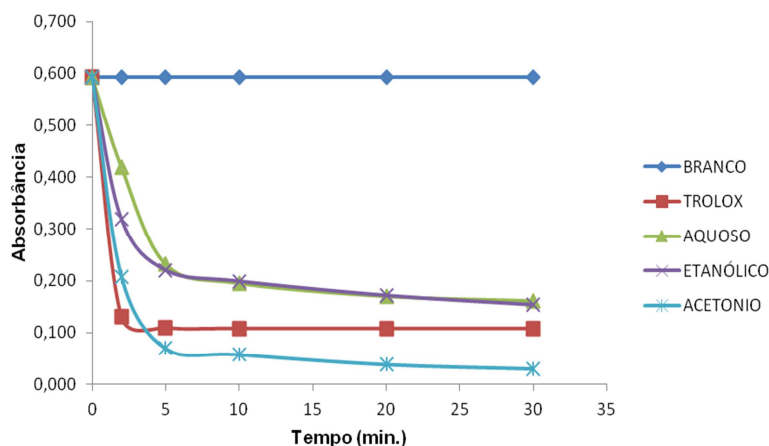


Figura 2. Curva cinética do potencial antioxidante do extrato aquoso, atânico e acetônico da cálice da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*, L).

Na tabela 2 pode ser visualizado os valores encontrados para quantificação de fenólicos totais dos extratos do cálice da vinagreira, na qual pode-se constatar que os teores de fenólicos totais para os três extratos ficaram muito próximos (entre 79,22 a 80,02mg/100g), não havendo diferença estatística entre os mesmos ($p > 0,05$). A maior parte dos compostos fenólicos não é encontrada no estado livre na natureza, mas sob a forma de ésteres ou heterosídeos sendo, portanto, solúveis em água e em solventes orgânicos polares.

Tabela 2: Teores de fenólicos totais (expresso em equivalente de ácido gálico) no extrato aquoso, etanólico e acetônico do cálice da vinagreira (*Hibiscus sabdariffa*, L).

Extratos	Teores de fenólicos totais em mg/100g da amostra
Aquoso	79,22±9,90 ^a
Etanólico	83,63±14,20 ^a
Acetônico	80,02±2,74 ^a

^{a,b,c} Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Duzzioni et al. (2010) avaliando o extrato acetônico de frutas cítricas obteve 648,6 mg/100g para valência, 551,9 mg/100g para murcote e 455,2 mg/100g para o limão Taiti, valores superiores ao encontrados neste estudo para o cálice da vinagreira.

Soares et al. (2008) descreve que as discrepâncias nos valores de teores de compostos fenólicos totais podem ser influenciadas por diversos fatores como: a maturação, a espécie, práticas de cultivo, origem geográfica, estágio de crescimento, condições de colheita e processo de armazenamento das frutas, além da peculiaridade metodológica relacionada ao solvente extrator e aos fenólicos usados como padrão para a quantificação dos compostos fenólicos.

4. CONCLUSÕES

Constatou-se que o cálice da vinagreira possui uma elevada capacidade antioxidante, muito superior a várias frutas reconhecidas como boas fontes de antioxidantes dietéticos; e boa fonte de



fenólicos totais. O que há de maior relevância neste trabalho é o fato de transmitir conhecimentos novos, visto que a escassez de informações sobre o cálice da vinagreira, é evidente..

REFERÊNCIAS

CERUTTI, P.A. **Oxidant stress and carcinogenesis.** *European Journal of Clinical Investigation.* Oxford, 1991.

CERUTTI, P.A. **Oxy-radicals and cancer.** *Lancet*, London, 1994.

DUZZIONI, G. A. et al. Determinação da atividade antioxidante e de constituintes bioativos em frutas cítricas. **Alim. Nutr.**,2010.

LIMA, A. **Caracterização química, avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo, e identificação dos compostos fenólicos presentes no pequi(Caryocar brasiliense, Camb.).** Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo,2008.

MAISUTHISAKUL, P.; SUTTAJIT, M.; PONGSAWATMANIT, R. **Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants.** *Food Chemistry*, London, 2007.

NAWAR, W.W. Lipids. *In:* FENNEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry.** 2.ed. New York:Marcel Dekker, 1985.

OGA, Seizi; CAMARGO, M.M.A; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos da toxicologia .** 3 ed. São Paulo: Ateneu, 2008.

RATNAM, D. et al. **Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective.** *J. Control Release*, 2006.

RE, R. et al. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.** *Free Radical Biology & Medicine*, 1999.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *AmericanJournal of Clinical Nutrition*, Bethesda, 1995.

SOARES. M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Rev. Bras. Frutic.**,Jaboticabal – São Paulo,2008.

Vasconcelos, S. M. L.; Silva, A. M.; Goulart, M. O. F.; **Nutrire**, 2006.

VIEIRA, M. L. Fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* de polpas de frutos tropicais. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal – São Paulo, 2011.



19 a 21 de outubro - Ciência, tecnologia e inovação: ações sustentáveis para o desenvolvimento regional