



Estudo comparativo entre a quantidade de fenólicos totais presentes em folhas e cálices de *Hibiscus sabdariffa* L

Marianna Lima de Carvalho¹, Bruna Ribeiro da Silva², Manoel Marques da Silva³, Kelly Anne Vale Carcará⁴, Rosiane Rodrigues de Amorim⁵

¹Graduanda do curso de Tecnologia em Alimentos- IFPI. Bolsista do CNPq, e-mail: mariannadecarvalho@gmail.com

²Graduanda do curso de Tecnologia em Alimentos- IFPI. e-mail: brunaribeiro2010@gmail.com

³Técnico do laboratório de Alimentos –IFPI. e-mail: manoelmarques@ifpi.edu.br

⁴Graduanda do curso de Tecnologia em Alimentos- IFPI. e-mail: kellykrkra@hotmail.com

⁵Graduanda do curso de Tecnologia em Alimentos- IFPI. e-mail: anyesporteradical@hotmail.com

Resumo: O objetivo desse trabalho foi correlacionar a quantidade de fenólicos e atividade antioxidante presentes nos extratos aquosos, hidroetanólicos e etanólicos das folhas e cálices do *Hibiscus sabdariffa* L. Os extratos foram obtidos, utilizando 10 g de folhas e cálices previamente triturados e 100 mL de solvente (água e álcool). A determinação dos fenólicos totais foi pelo método de Folin-Ciocalteu, utilizando-se como padrão o ácido gálico e a atividade antioxidante pelo método de captura de radicais livres por DPPH (radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila). Os teores de fenólicos totais das folhas foram de 45,08 e 108,39 µg/ml de equivalente ácido gálico nos extrato aquoso e etanólico, respectivamente e para os cálices foram 12,10 e 19,24 µg/ml de equivalente ácido gálico nos extrato aquoso e etanólico, respectivamente. Já para a atividade antioxidante utilizando o radical DPPH os extratos aquosos das folhas e cálices apresentaram uma proteção do radical de 70,21% e 32,26%, respectivamente. Demonstrou-se, dessa forma, que as folhas e cálices do *H. Sabdariffa* L possuem compostos com propriedades de combater os radicais livres e seu consumo deve ser estimulado, pois traria benefícios à saúde da população.

Palavras-chave: atividade antioxidante, concentração, vinagreira

1. INTRODUÇÃO.

Hibiscus sabdariffa L. (*Malvaceae*) é uma importante planta medicinal, originária da Índia, do Sudão e da Malásia, sendo posteriormente levada para a África, Sudeste da Ásia e América central. É conhecida como “azedinha, azeda-da-guiné, caruru-azedo, caruru-da-guiné, cha-da-jamaica, pampolha, pampulha, papoula, papoula-de-duas-cores, quiabeiro-azedo, quiabo-azedo, quiabo-de-angola, quiabo-róseo, quiabo-roxo, rosélia e vinagreira” (MUKHTAR, 2007). Em busca de mais alimentos ricos em compostos fenólicos e consequentemente com alta atividade antioxidante, a indústria alimentícia já se utiliza dos benefícios do *H. sabdariffa* L., tanto de suas folhas quanto do cálice, que é a parte da corola composta por cinco pétalas de intensa coloração vermelha. Atualmente, pesquisas têm demonstrado que os compostos fenólicos são fitoquímicos que apresentam grande interesse nutricional por contribuir para a saúde humana, devido à capacidade anticarcinogênica e antimutagênica (HEIN, 2002; SHAHIDI et al., 2007).

Em função da elevada atividade antioxidante que possuem, uma variedade de compostos fenólicos desempenha um papel importante nos processos de inibição do risco das doenças cardiovasculares e podem atuar sobre o estresse oxidativo, relacionado com diversas patologias crônico-degenerativas, como o diabetes, o câncer e processos inflamatórios. Entretanto, quando em concentração muito elevada ou em composição inadequada, estes compostos podem conferir características indesejáveis, como o escurecimento enzimático de frutas e a interação com proteínas, carboidratos e minerais (IMEH; KHOKHAR 2002). A eficácia da ação antioxidante dos componentes bioativos depende da estrutura química e da sua concentração no alimento. Por sua vez, o teor de fitoquímicos em hortaliças é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, sistema de produção, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros (KAHKONEN et al., 1999; KAUR; KAPOOR, 2001; KOLEVA et al., 2002; MELO et al., 2006).



Os compostos fenólicos presentes nas plantas estão relacionados, principalmente, com a proteção, conferindo alta resistência a microrganismos e pragas. Nos alimentos, estes compostos podem influenciar o valor nutricional e a qualidade sensorial, conferindo atributos como cor, textura, amargor e adstringência. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010). Objetivou-se fazer um quadro comparativo entre as quantidades de fenólicos totais e sua relação com a atividade antioxidante encontrados nas folhas e cálices do *H. sabdariffa* L. através das análises dos extratos etanólico, aquoso e hidroetanólico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados cálices e folhas do hibisco adquiridos em mercado central de Teresina- PI, que selecionados e analisados no Laboratório de Tecnologia em Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI). As amostras foram lavadas para a retirada de sujidades e higienizadas, depois tiveram as folhas separadas do caule, assim como os cálices. Estes foram trituradas separadamente em liquidificador doméstico. Os extratos etanólicos, aquosos e hidroetanólicos foram obtidos utilizando 10 g de cada amostra moída (folha e cálice) em três erlenmeyers, sendo adicionados 100 ml de seus respectivos solventes. As amostras foram homogeneizadas durante uma hora com auxílio de um agitador magnético, sendo posteriormente filtradas com papel filtro e mantidas sob refrigeração até serem submetidas às análises.

2.1 Determinação de fenólicos totais

A determinação dos fenólicos totais seguiu a metodologia adaptada descrita por Swain & Hills (1959). Das triplicatas do extrato aquoso, hidroetanólico e etanólico de cada amostra, tomou-se 0,5 mL em tubo de ensaio e 2,5 mL do reagente Folin Ciocalteu. A solução foi homogeneizada e, após 3 minutos, acrescentou-se 2 mL de solução saturada de carbonato de sódio. Decorrida 1 hora de repouso em ambiente escuro, foram realizadas as leituras em triplicata das absorbâncias em espectrofotômetro (Coleman 33D) a 760 nm. Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL para construir a curva de calibração, com o programa Origin 6.1 e se obteve a equação da reta. A partir da reta obtida, realizou-se o cálculo do teor de fenólicos totais, expresso em µg de ácido gálico/ 100 g de amostra.

2.2 Determinação da atividade antioxidante

Utilizou-se metodologia adaptada por Pereira (2010), este método tem por base a redução do radical DPPH, que ao fixar um H⁺ (removido do antioxidante em estudo), leva a uma diminuição da absorbância. As determinações foram realizadas preparando primeiramente tubos de ensaio com 1 ml de extrato aquoso, 1,5 ml de DPPH e 2,5 ml de álcool metílico, além de preparar também a amostra controle que continha apenas 1,5 ml de DPPH e 2,5 ml de metanol, deixando durante 60 minutos em repouso no escuro. Adicionando-se depois no espectrofotômetro cada amostra contida nos tubos de ensaios. As leituras das absorbâncias foram realizadas logo após a introdução no espectrofotômetro e depois em intervalos de 10, 20, 25 e 30 minutos, e todas as mudanças na absorbância da amostra foram acompanhadas a 517 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante).

2.3 Análise Estatística

As médias dos dados obtidos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas por Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas usando o programa estatístico ASSISTAT versão 7.6. Para a determinação da equação que forneceu os dados utilizados para se calcular a atividade antioxidante foi utilizado o programa Origin 6.1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos teores fenólicos que foram obtidos a partir dos extratos aquosos, hidroetanólicos e etanólicos na análises foram apresentados na Tabela 1 abaixo.



Tabela 1- Teores de fenólicos totais elaborados a partir de *H. Sabdariffa* por diferentes solventes extratores por (expressos µg/ml em equivalente de ácido gálico).

Extratos da Folha	Média± Desvio Padrão *	Extratos do Cálice	Média ± Desvio Padrão
Aquoso	45,08 ±8,36 ^b	Aquoso	12,10 ± 0,53 ^c
Etanólico	108,39 ±4,28 ^a	Etanólico	19,24 ± 3,56 ^c
Hidroetanólico	93,83 ±12,08 ^a	Hidroetanólico	49,93 ± 1,45 ^b

Fonte: Análise feita por alunos no Laboratório de Tecnologia de Alimentos – IFPI. As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Tukey HSD, $p < 0,05$). *Os dados são as médias de três repetições ± desvio padrão. Compostos fenólicos totais expresso em µg/ml do equivalente ácido gálico.

Das amostras analisadas a que apresentou a maior média da concentração de compostos fenólicos foi o extrato etanólico das folhas do *H. sabdariffa* L no valor de 108,39 µg/ml, sendo muito superior em relação ao maior índice encontrado nos extratos do cálice que foi de 49,93 µg/ml. A diferença entre os índices de fenólicos totais entre as folhas e o cálice pode ser explicada pelos vários fatores que interferem na leitura de absorbâncias como, por exemplo, a foto-oxidação sofrida pelos reagentes. Segundo Duarte-Almeida (2006), outra grande dificuldade apresentada pelo método original é a necessidade de grande quantidade de cubetas para que se possam realizar as replicatas e os ensaios com soluções padrão. Importante ressaltar que ocorreu significativa variância entre os tipos de extratos, sendo já bastante discutido na literatura que é causado pelo fato do etanol ter um maior poder extrator, como Carvalho (2007) corrobora afirmando que 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, sendo que foi observado que os compostos fenólicos do maxixe são extraídos em maior proporção quando se utiliza álcool em relação à água.

O método de Folin-Ciocalteu não fornece valores exatos do teor de fenólicos, já que outros compostos redutores, como o ácido ascórbico, também reagem com o ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico formando o complexo azul de molibdênio (HUONG et al., 2005). O total de fenólicos obtidos do cálice está de acordo com o resultado encontrado por Maciel (2011) que foi 162,1 mg/ 100g do equivalente ácido gálico (GAE/100g), que se utilizou de mesma metodologia deste trabalho, embora tenha usado unidades diferentes. A autora Todeschini (2010) também encontrou resultado muito semelhante em relação ao total de fenólicos (180 mg GAE/100G) em seu vasto trabalho na comparação de diversos tipos de *Hibiscus* e ainda relacionou- isso à intensidade da coloração das plantas. Como era de se esperar as folhas do *H. sabdariffa* L também apresentaram maior atividade antioxidante em relação aos cálices, isso se deve aos compostos bioativos, como os fenóis, pois na literatura há grandes estudos relacionando estas substâncias, como afirmam Roesler (2007), Pereira (2010) e Sousa (2007) em seus trabalhos. A figura 1 e 2 abaixo mostra de forma clara a oxidação do reagente DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra, pois no decorrer de cada intervalo da leitura da absorbância ocorre diminuição da quantidade do reagente, se mantendo estável no final da análise.

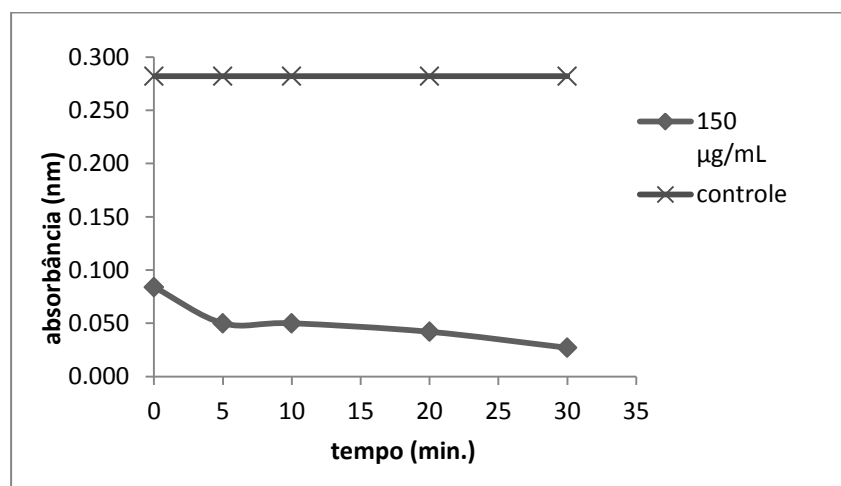


Figura 1- Leitura das absorvâncias das folhas de *H. sabdariffa* L em relação aos intervalos de tempo

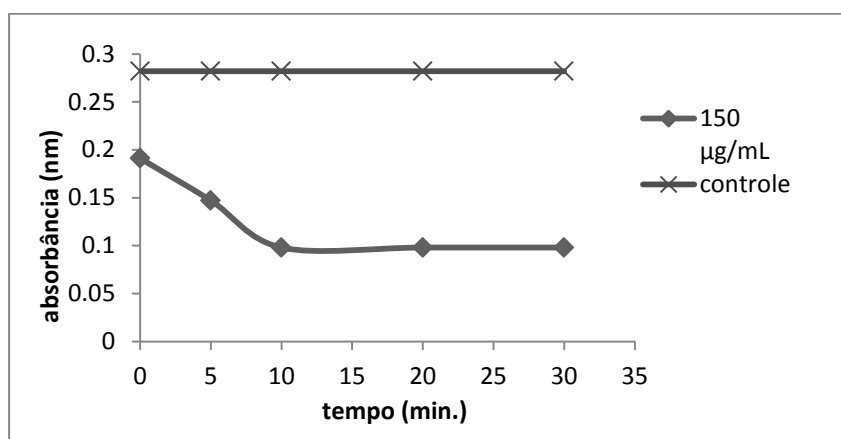


Figura 2- Leitura das absorvâncias dos cálices de *H. sabdariffa* L em relação aos intervalos de tempo

Este método se baseia na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um radical livre, o DPPH, que ao se reduzir perde sua coloração púrpura. Desta forma, avalia apenas o poder redutor do antioxidante, que ao doar um elétron se oxida, e por este motivo não detecta substâncias pró-oxidantes (DUARTE-ALMEIDA, 2006). Como já foi exposto que há diversas variáveis quanto à metodologia usada que pode causar interferência quanto aos resultados, fica válido também para a detecção de atividade antioxidante. As metodologias para a determinação da capacidade antioxidante são numerosas e podem estar sujeitas a interferências, além de se basearem em fundamentos diversos. Dessa forma, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas, já que nenhum ensaio usado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra (HUANG et al., 2005; PRIOR et al., 2005).



Tabela 2 -Atividade antioxidante pelo método do de captura de radicais DPPH, expressos em percentual de proteção do radical do extrato aquoso.

Tempo de Intervalo *	% de Proteção (Folha)	% de Proteção (Cálice)
T ₀	70,21	32,26
T ₁	82,26	47,87
T ₂	82,26	65,24
T ₃	85,10	65,24
T ₄	90,42	65,95

*T₀- Leitura feita logo após a introdução da amostra; T₁-Leitura feita após 10 minutos; T₂- Leitura feita após 20 minutos; T₃- Leitura feita após 25 minutos e T₄- Leitura feita após 30 minutos.

A tabela 2 expõe o quanto é superior à atividade antioxidante das folhas em relação aos cálices, comparando com o maior percentual de proteção do radical dos extratos de maxixe encontrados por Pereira (2010), que foi de 35%, deixou-se claro o grande potencial antioxidante das folhas e cálices de *H. Sabdariffa* L. Verificou-se que a extração etanólica resulta em extratos com maiores conteúdos de compostos fenólicos e, conseqüentemente, com maior capacidade de sequestrar radicais livres, ou seja, maior atividade antioxidante.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, nas condições de realização dessa pesquisa, pode-se inferir que as análises tiveram resultados significativos corroborando com o já descrito pela literatura e outros autores, também é oportuno salientar que deveria haver mais pesquisas voltadas para a metodologia de quantificação de fenóis e antioxidantes. Pelos efeitos benéficos dos compostos fenólicos e atividade antioxidante, sendo que o *H. Sabdariffa* L possui quantidades consideráveis dessas substâncias, devem-se manter mais estudos nessa área de forma que aumente o seu consumo pela população brasileira.

REFERÊNCIAS

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm. Wiss. Technol.**, v. 28, p. 25-30, 1995.

CARVALHO, J. C. T. et al. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In. SIMÕES, C. M. O. et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007.

DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício et al . Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH• . **Ciênc. Technol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 2, June 2006. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000200031&lang=pt >. Acesso em: 25 de jun. de 2012.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-



Ciocalteou reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 8.139-8.144, 2010.

HEIN, K.E.; TAGLIAFERRO A.R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional biochemistry**, Stonehaum, v.13, p. 572-584, 2002.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, 2005.

IMEH. U.; KHOKHAR. S. Distribution of Conjugated and Free Phenols in Fruits: Antioxidant Activity and Cultivar Variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 6.301-6.306, 2002.

KAHKONEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal Food Science Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001.

KOLEVA, L. I. et al. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002.

MACIEL, M. J. Avaliação do extrato alcoólico de hibiscos (*Hibiscus Sabdariffa* L.) como fator de proteção bacteriana e antioxidante em alimentos. 2011. 62f. Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos. ICTA, UFRGS. Porto Alegre, 2011.

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MUKHTAR, M.A. The effect of feeding rosella (*Hibiscus sabdariffa*) seed on broiler chicks performance. **Research Journal Animal and Veterinary Science**, v.2, p.21-23, 2007. Disponível em: < <http://www.aensiweb.com/rjavs/rjavs/2007/21-23.pdf> >. Acesso em:25 jun. 2012.

PEREIRA, Denise Vilela et al. Capacidade antioxidante e fenólicos totais de maxixe (*Cucumis anguria* L.). V CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO. Maceió, 2010.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53: 4290-4302, 2005.

ROESLER, Roberta et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, Mar. 2007. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100010&lang=pt >. Acesso em: 09 de jul. de 2012

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PA-THIRANA, C.M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.55, n. 4,p. 1212-1220,2007.

STEPHANE, G.; PEIERRE, B.; PASCALINE, A.; MARIE J. A. Rapid Determination of Polyphenols and Vitamin C in Plant-Derived products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53. n. 5, p. 1370-1373, 2005.



SOUSA, C.M.M et al.; Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, Mar./Apr. 2007.

TODESCHINI, Letícia; CARVALHO, Heloisa Helena Chaves. Quantificação de polifenóis totais e antocianinas em diferentes extratos de *Hibiscus sabdariffa* L. SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA. Porto Alegre: UFRGS, 2010.