



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 3.607, de 17/10/05, D.O.U. nº 202, de 20/10/2005
ASSOCIAÇÃO EDUCACIONAL LUTERANA DO BRASIL

Olga Rabelo Mendes

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA FLOR DE (*Hibiscus sabdariffa*
L.) COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE PALMAS - TO**

PALMAS-TO

2015

Olga Rabelo Mendes

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA FLOR DE (*Hibiscus sabdariffa*
L.) COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE PALMAS - TO**

Monografia apresentada como requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia, coordenada pela Prof^a MSc. Marta Cristina de Menezes Pavlak, no Centro Universitário Luterano de Palmas.

Orientadora: Prof^a. MSc. Isis Prado Meirelles de Castro.

PALMAS-TO

2015

Olga Rabelo Mendes

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA FLOR DE *Hibiscus sabdariffa*
L. COMERCIALIZADA NO MUNICÍPIO DE PALMAS –TO**

Monografia apresentada como requisito parcial da disciplina TCC em Ciências Farmacêuticas do Curso de Farmácia, coordenada pela Prof^a MSc. Marta Cristina de Menezes Pavlak, no Centro Universitário Luterano de Palmas.

Aprovada em: ____ / ____ /2015.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. MSc. Isis Prado Meirelles de Castro
Centro Universitário Luterano de Palmas

Prof^a. MSc. Walkíria Regis
Centro Universitário Luterano de Palmas

Prof^a. MSc. Juliane Farinelli Panontin
Centro Universitário Luterano de Palmas

Palmas- TO

2015

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais, Nelson Rabelo e Maria Darci Rabelo, que sempre me incentivaram a estudar e deram todo o apoio do mundo para que pudesse alcançar meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

À Deus;

Aos meus pais, Nelson e Maria Darci, os melhores do mundo, pelo apoio e ajuda incondicional em todos os momentos da minha vida;

Aos meus irmãos (Cida, Ivan, Ronaldo e Denis), pelo apoio e torcida;

À minha orientadora, MSc. Isis Prado Meirelles pela paciência, oportunidade e aprendizado;

Aos professores e amigos pelo aprendizado, apoio, risadas e ótima convivência;

A todos que torceram por mim.

“Sucesso significa realizar seus próprios sonhos, cantar sua própria canção, dançar sua própria dança, criar do seu coração e apreciar a jornada, confiando que não importa o que aconteça tudo ficará bem. Criar sua própria aventura!”

Elana Lindquist

RESUMO

MENDES, O. R. **Avaliação da atividade antioxidante da flor de *Hibiscus sabdariffa* L. comercializada no município de Palmas – TO.** 37 f. 2015. Monografia (Graduação em Farmácia). Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA). Palmas-TO, 2015.

Hibiscus sabdariffa é uma planta que vem sendo comercializada, na sua maioria, sob forma de flor seca desidratada que são preparadas por infusões aquosas promovendo efeito benéfico à saúde. O objetivo deste trabalho foi verificar a atividade antioxidante de três amostras da flor seca de hibisco (A, B, C) em extrato alcoólico a 95%, e em extratos aquoso quente (infusão e decocção). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análises Químicas e Bromatologia do Complexo Laboratorial do CEULP-ULBRA. Realizou-se a triagem fitoquímica destas amostras para verificar os compostos fitoquímicos como saponinas, taninos, alcaloides, antraquinona e flavonoides, observando a presença de classes potencialmente antioxidantes. A atividade antioxidante foi avaliada pelo método fotolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (2-2-difenil-1-picrilidrazida). Os testes fitoquímicos resultaram na presença de alcaloides, taninos condensados e hidrolisados, e flavonoides, sendo este último, compostos com potencial atividade antioxidante. No extrato alcoólico das amostras avaliadas, obteve-se maior porcentagem de inibição do radical livre (26,6% para a amostra A, 26,7% para a amostra B e 26,8% para a amostra C) que nos extratos aquosos quente, obtendo-se para a infusão, 14,0% (A), 14,3% (B) e 10,4% (C) e para a decocção, 15,0% (A), 11,4% (B) e 11,5% (C). Observa-se que a temperatura influenciar na atividade antioxidante, pois os compostos fenólicos são sensíveis ao calor. A forma de armazenamento também tem influencia, pois a amostra C apresenta valores variáveis quando comparados às demais amostras, já que esta foi vendida a granel. Também se observa que, na amostra B, a temperatura (decocção), pode ter convertido taninos em flavonoides, o que responderia ao maior valor obtido em relação à infusão, que se utiliza de temperaturas mais brandas. Conclui-se que a forma de preparo e armazenamento das flores de hibisco influencia na atividade oxidante, que está sendo utilizada para combater radicais livres na possível prevenção de diabetes, obesidade, entre outras.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Infusão e decocção. DPPH.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Flor de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	12
Figura 2 - Resultados do teste de Mayer de amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	25
Figura 3 - Resultados do teste de Wagner de amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	25
Figura 4 - Resultados do teste de Dragendorff de amostras da <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	25
Figura 5 - Resultados do teste de antraquinonas livre nas amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas-TO.....	26
Figura 6 - Resultados do teste de heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntrager), de amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas-TO.....	26
Figura 7 - Resultado do teste de Shinoda das amostras do extrato da flor de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	27
Figura 8 - Resultados do teste para saponinas: teste de Espuma das amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	28
Figura 9 - Resultados do teste para saponinas: reação de Salkowski das amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	28
Figura 10 - Resultado do teste de gelatina de amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	29
Figura 11 - Resultado da reação de sais de ferro de amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	29
Figura 12 - Resultado da reação de acetato de chumbo de amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados das análises fitoquímicas das amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L adquiridas no município de Palmas-TO.....	24
Tabela 2 - Resultado da análise DPPH das amostras de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. adquiridas no município de Palmas- TO	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo geral.....	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
3.1 <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	12
3.2 Estudos Científicos.....	13
3.3 Metabólitos Secundários.....	14
3.4 Antioxidante.....	15
3.5 Radicais livres.....	16
3.6 Métodos de extração.....	17
3.6.1 Infusão.....	18
3.6.2 Decocção.....	18
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
4.1 Material vegetal.....	19
4.2 Período e local.....	19
4.3 Métodos.....	19
4.3.1. Preparo do material vegetal.....	19
4.3.2 Triagem fitoquímica.....	19
4.3.2.1 Alcalóides.....	19
4.3.2.2 Antraquinonas.....	20
4.3.2.2.1 Antraquinonas livres.....	20
4.3.2.2.2 Heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntrager direta).....	20
4.3.2.3 Flavonóides.....	20
4.3.2.3.1 Reação de Shinoda.....	20
4.3.2.4 Saponinas.....	21
4.3.2.4.1 Teste de espuma.....	21
4.3.2.4.2 Reação de Salkowski.....	21
4.3.2.5 Taninos.....	22
4.3.2.5.1 Reação de gelatina.....	22
4.3.2.5.2 Reação de sais de ferro.....	22
4.3.2.5.3 Reação de acetato de chumbo.....	22

4.3.3 Avaliação antioxidante	23
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Triagem fitoquímica	24
5.2 Método de DPPH.....	30
6 CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade, as plantas medicinais já eram utilizadas com o propósito de curar as enfermidades que apareciam, e com o aprimoramento dos estudos adquiriu-se um vasto conhecimento sobre as ações terapêuticas e a toxicidade de determinadas espécies. Até onde se tem conhecimento, a maioria das civilizações e culturas antigas, registram de alguma maneira a mística do uso de plantas. Nesses aspectos, nada representa uma convergência tão íntima entre a saúde humana e a preservação da diversidade vegetal, como a temática das plantas medicinais (RODRIGUES; AMARAL, 2011; SAAD et al., 2009; VEIGA JUNIOR, 2008).

Antigamente, os conhecimentos sobre as plantas medicinais eram adquiridos através de relatos de práticas vivenciadas no cotidiano de forma empírica, porém, na atualidade, temos além dessas informações como também as registradas em herbários e as publicações científicas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) vem estimulando o uso de fitoterápicos, reconhecendo assim, a importância e os benefícios dessa forma de tratamento (RODRIGUES; AMARAL, 2012; SAAD et al., 2009).

A correta identificação botânica das espécies é ponto-chave no uso racional de plantas medicinais (FLOGLIO et al., 2006; SAAD et al., 2009). Existem plantas muito diferentes que recebem nomes populares iguais, plantas morfologicamente semelhantes, mas com composição química bastante diversa. Portanto, deve-se ficar atento à nomenclatura, ou seja, o nome científico correto.

O uso de plantas medicinais para fins terapêuticos, pela população, é baseado na tradição popular ou cientificamente validada como medicinais. A validação de novas drogas vegetais através de pesquisas comprovando sua eficácia e segurança, vem a mostrar o caminho para que se possa fazer o correto aproveitamento destas plantas e seus derivados aplicados a fitoterapia. A maioria das plantas medicinais é utilizada empiricamente na forma de planta fresca colhida pelo próprio consumidor, ou como plantas secas empacotadas ou, ainda, adquiridas a granel no comércio, especialmente, no nordeste e região Amazônica (LORENZI; MATOS, 2008; SAAD et al., 2009).

O Ministério da Saúde aprovou a Portaria nº. 971, de 03 de maio de 2006, que estabelece a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), contemplando as áreas de homeopatia, plantas medicinais e fitoterapia, medicina tradicional chinesa/acupuntura, medicina antroposófica e termalismo social/crenoterapia. Essa portaria estabelece diretrizes e ações para toda a cadeia produtiva de

plantas medicinais e fitoterápicos, proporcionando também a valorização e preservação do conhecimento tradicional associado das comunidades e povos tradicionais (BRASIL, 2006; RODRIGUES; AMARAL, 2012; SAAD et al., 2009).

Hibiscus sabdariffa L. vem sendo utilizado para diversos fins. Esse estudo visa buscar um conhecimento que venha proporcionar mais informações sobre a atividade antioxidante, através da infusão e decocção. O profissional da saúde deve dar uma atenção especial ao uso de plantas medicinais, principalmente porque os idosos, estes são os que mais as utilizam e já fazem uso de algum medicamento, e podem ocorrer interações, alterando o efeito do mesmo ou vice-versa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Verificar a atividade antioxidante do extrato da flor de (*Hibiscus sabdariffa* L.) comercializadas em Palmas - TO

2.2 Objetivos específicos

- Fazer a triagem fitoquímica do extrato aquoso e etanólico da flor seca de (*H. sabdariffa* L.);
- Calcular a porcentagem de inibição de radicais livres pelo método do DPPH de diferentes extratos da flor seca de (*H. sabdariffa* L.);
- Relacionar o efeito da temperatura e da solubilidade na atividade antioxidante através dos métodos da infusão e decocção para o preparo do extrato.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Hibiscus sabdariffa* L.

H. sabdariffa L. é uma espécie vegetal que pertence à família Malvaceae, sendo um arbusto anual, ereto, podendo chegar de 2 a 3 m de altura, de folhas verdes, caule roxeado, flores de corola vermelho-amareladas, solitárias, axilares e cálice vermelho e persistente, pode ser cultivada em jardim e horta caseira. É originário da Índia, Sudão e Malásia, e largamente cultivado na América Central e Ocidental (FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013; VIZZOTTO; CASTILHO; PEREIRA, 2009).

A flor citada acima esta demonstrada na figura abaixo.

Figura 1. Flor do *Hibiscus sabdariffa*.



Fonte: VIZZOTTO; CASTILHO; PEREIRA, (2009).

No Brasil, é conhecida pelos sinônimos vulgares de vinagreira, quiabo-azedo, caruru-azedo e azedinha. Suas folhas são fonte de vitaminas A, B e C, ferro e fósforo e o cálice contém carboidratos, ferro, ácido ascórbico e β -caroteno (FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013; MAHADEVAN, 2009).

Atualmente, ela vem sendo utilizada na medicina popular, possuindo algumas propriedades terapêuticas como hipotensivo e redutor de colesterol. Devido o alto teor de antocianinas, vitamina C, licopeno, β -caroteno e polifenóis, tem grande atividade antioxidante, antimicrobiano, comprovando, assim, os grandes benefícios que tem para a saúde, de modo a vir auxiliar no tratamento de doenças degenerativas (GUINDANI et al., 2014; MACIEL et al., 2012; WAHABI et al., 2010).

3.2 Estudos Científicos

Alguns estudos realizados em espécies do gênero *Hibiscus* têm relatado o efeito anti-hipertensivo, principalmente pela presença dos flavonóides (HERRERA-ARELLANO et al., 2004; HERRERA-ARELLANO et al., 2007 apud OJEDA et al., 2010).

Já vem sendo comprovado que o consumo de flavonóides pode minimizar a pressão arterial, mostrando que certos flavonóides causam inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA) *in vitro*, além de possuir propriedade antioxidante e ação cardioprotetora relevante (GRASSI; DESIDERI; FERRI, 2014; MULVIHILL; HUFF, 2010; OJEDA et al., 2010).

Com essas informações, junto com a informação popular sobre utilização majoritária das folhas de *H. acetosella* em forma de salada e chás, estimula-se a pesquisa da ação protetora do sistema cardiovascular do extrato das folhas deste gênero. O cálice vem sendo utilizado na decoração de pratos, como saladas de alto valor antioxidante, ou no preparo de geleias, doces, sucos, xaropes, gelatinas, vinho, vinagre, molhos ou o consumo *in natura* (TABACH et al., 2014).

Em estudo realizado com ratos, verificou-se que a média de consumo de 150-180 mg/kg/dia do extrato aquoso-etanólico de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. mostrou-se segura. Mas, o consumo em altas doses pode aumentar a atividade de algumas enzimas no plasma (AKINDAHUNSI; OLALEYE, 2003).

Conforme Chao e Yin (2009) apud Maciel (2011), acredita-se que haja uma possível relação entre a quantidade de antocianinas e a atividade antimicrobiana do hibisco.

Assim, de acordo com um estudo realizado com o extrato aquoso do *Hibiscus*, verificou-se que é possível inibir o crescimento de algumas bactérias que se encontram principalmente em ambientes hospitalares, que são bactérias infecciosas, como as meticilinas-resistentes como *Stapylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* (LIU et al., 2005 apud MACIEL, 2011).

Maciel (2011) acrescenta que, o extrato alcoólico de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. foi testado como um agente antibacteriano diante dos microorganismos: *Bacillusstearothermophilus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Stapylococcus aureus*, *Clostridium sporogenes*, *Pseudomona fluorescence*. Os resultados demonstraram excelente atividade, podendo ser comparada a da Estreptomicina, no entanto a Estreptomicina não inibe a *E. coli*.

Conforme Maciel et al., (2012), a identificação da atividade antibacteriana de um composto é dada pela relação entre a Intensidade de Atividade Bacteriana/Bacteriostática (IINIB) e a Intensidade de Atividade de Inativação Bacteriana/Bactericida (IINAB).

Assim sendo, em estudo feito por Maciel et al., (2012), os resultados obtidos que foram utilizados extrato alcoólico dos cálices de *Hibiscus*, mostrou um poder antibacteriano maior que o extrato alcoólico dos frutos com sementes do *Hibiscus*. Esses resultados possivelmente podem estar relacionados com a maior quantidade de antocianina que foi encontrada no extrato alcoólico de cálices quando comparado ao extrato alcoólico dos frutos com sementes.

Tradicionalmente, o extrato aquoso de *H. sabdariffa* já vem sendo utilizado para controlar infecções hepáticas, como diurético, desordem gastrointestinal, febre e hipertensão (MONROY-ORTIZ; CASTILLO-ESPANNA, 2007).

No sul do México, a partir dos cálices secos desta planta, é preparada uma bebida popular (“água de Jamaica”), que também é tradicionalmente utilizada pela população para o tratamento da obesidade (TABACH et al., 2014; CID-ORTEGA; GUERRERO-BELTRÁN, 2012).

Estas atividades comprovadas cientificamente ou advindas do conhecimento popular, relacionam-se com a diversidade molecular dos vegetais que está relacionada ao seu metabolismo secundário, sendo este responsável pela produção de compostos químicos necessários para a sobrevivência da planta.

3.3 Metabólitos Secundários

A planta produz diversos constituintes químicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários fornecem substâncias envolvidas nas funções básicas essenciais da vida celular como: respiração e biossíntese de aminoácidos e outras substâncias necessárias para a vida da célula vegetal (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2002).

Já os metabólitos secundários são específicos das espécies e participam das interações intercelulares do próprio organismo ou com células de outros organismos, atuam em processos de polinização pela produção de substâncias que atraem os agentes vivos deste processo ou contribuem para a resistência dos organismos pela defesa contra pestes e outras

doenças, estabelecendo a competência para a guerra química dos ajustes necessários à convivência e sobrevivência ambiental (FILHO, 2010).

Assim, abrangem um grande número de classes de compostos químicos com diferentes polaridades, solubilidade, capacidade de formar pontes de hidrogênio, potencial de oxidorredução, que irão determinar tanto o tipo como a eficiência de atividade, assim como o meio e a estrutura celular em que podem atuar (BASTOS, 2011).

Existem vários fatores que, correlacionados, podem influenciar na produção e acúmulo de metabólitos secundários em plantas, como a sazonalidade, índice pluviométrico, radiação UV, ritmo circadiano, altitude, temperatura, idade da planta, indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos, micronutrientes e micronutrientes presentes no solo, além da composição atmosférica (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Para identificar estes metabólitos secundários presentes na planta se realiza a triagem fitoquímica (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2002; FILHO, 2010) e alguns metabólitos identificados na triagem são potenciais antioxidantes.

3.4 Antioxidante

Pode-se definir os antioxidantes como substâncias que, em baixas concentrações, são capazes de prevenir os efeitos nocivos da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, sequestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos (RODRIGUES et al., 2013; SUCUPIRA et al., 2012). Os sistemas antioxidantes são constituídos por diversas substâncias heterogêneas, como vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres, formados nas reações metabólicas ou por fatores exógenos ao organismo (MACIEL, 2011; PEREIRA; CARDOSO, 2012).

Os antioxidantes endógenos, produzidos pelo próprio organismo, são classificados em enzimáticos (superóxido dismutase citoplasmática e mitocondrial, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase) e não enzimáticos (glutathione, ácido lipóico, albumina, ubiquinona, metalotioneínas, transferrina, ceruloplasmina). Estes antioxidantes têm a função de proteger o organismo contra os radicais livres que ocasionam efeitos deletérios ao utilizar O₂ no processo de respiração celular (PEREIRA; CARDOSO, 2012; VANCINI et al., 2005).

As defesas antioxidantes exógenas referem-se aos antioxidantes obtidos por meio da alimentação, sendo os mais estudados o ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenoides, polifenóis e a antocianina (MACIEL et al., 2012; CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTOS, 2007).

Fica claro que os antioxidantes são substâncias importantes, pois promovem uma melhor proteção contra os danos causados pelos radicais livres (MACIEL, 2011).

Várias técnicas são utilizadas para avaliar a atividade antioxidante *in vitro*, permitindo uma rápida escolha de substâncias e/ou misturas de grande interesse, objetivando assim o controle de doença crônica-degenerativa. Dentre esses métodos destacam-se os métodos de sequestro de radicais livres como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina). Este método está baseado no deslocamento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH de cor violeta. Assim quando há adição de substância que pode ceder um átomo de hidrogênio, baseando-se na transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante, neutraliza-se o radical livre.

3.5 Radicais livres

Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem elétrons não pareados em sua camada de valência. Fazem parte das substâncias instáveis que se multiplicam em cascata, tendo um tempo de vida curto. Existem, portanto, compostos igualmente reativos, que não possuem elétron não-pareado na última camada e, com isso, não podem ser classificados como radicais livres, mas que indiretamente geram radicais livres. Os radicais livres cujo elétron encontra-se centrado nos átomos de oxigênio e nitrogênio são comumente denominados, respectivamente, de espécies reativas de oxigênio (ERO_S) e espécies reativas de nitrogênio (ERN_S) (KIRKHAM; BISWAS; RAHMAN, 2006; PEREIRA; CARDOSO, 2012; VANCINI et al., 2005).

Espécies reativas de oxigênio (ERO_S) são geradas constantemente no corpo humano. Todos os organismos vivos aeróbios, como o homem, utilizam o oxigênio na produção de energia. A redução do oxigênio à água fornece a energia que permite a impressionante complexidade dos organismos superiores. Cerca de 95 a 98% do oxigênio consumido durante a respiração celular é para a produção de energia, o restante (2 a 5% do oxigênio metabolizado) produz ERO_S (SOARES, 2013).

Encontram-se os radicais livres envolvidos em diversos processos fisiológicos como na fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes (SILVA; CERCHIARO; HONÓRIO, 2011).

Entretanto, em concentrações supra-fisiológicas e deficiência no sistema antioxidante endógeno pode resultar no desequilíbrio entre moléculas antioxidantes e oxidantes, causada por distúrbios na produção, distribuição ou por uma superabundância de EROs ou ERNs a partir de fontes endógenas ou fatores ambientais, predominando a ação danosa das EROs e ERNs sobre as células, que se caracteriza como estresse oxidativo (DEL RÉ; JORGE, 2012).

A proteção do organismo dos efeitos deletérios causados pelos radicais livres é feita através de um sistema antioxidante complexo, constituído de diversas enzimas e substâncias antioxidantes que podem ser perdidas ou potencializadas dependendo dos métodos de extração (VANCINI et al., 2005).

3.6 Métodos de extração

Os métodos de extração são utilizados com o objetivo de retirar da planta a substância esperada. Há muitos tipos de extração, que podem variar, dependendo da substância a ser extraída. Muitos fatores podem vir a interferir na substância a ser extraída, como da escolha da planta e da parte que vai ser utilizada, o solvente escolhido deve ser o mais seletivo possível, quanto maior a sua seletividade melhor vai ser para se obter a substância desejada, o método de extração. Na escolha do método deve-se verificar o tempo, temperatura e a agitação. De acordo com o tempo de extração, pode ocorrer uma variação, devido à escolha do material vegetal e do solvente a ser utilizado. A temperatura alta pode aumentar a solubilidade das substâncias, devido a isso, as extrações a quente ocorrem mais rapidamente que as realizadas a temperatura ambiente. No processo extrativo, o tempo pode ser diminuído com o auxílio da agitação. As técnicas utilizadas para a extração da matéria prima na atualidade são usualmente as mesmas que se usavam na antiguidade, claro que, com algumas modificações.

Nos últimos tempos vem se buscando recursos naturais com o propósito de controlar de forma profilática ou curativa as várias enfermidades.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Portaria nº 519, de 1998, considera que as flores do hibisco podem ser consumidas como chá, preparadas por meio de infusão ou decocção. Já as sementes do fruto do *Hibiscus sabdariffa*

L. surgem como subproduto concomitante ao cultivo em larga escala e a exploração comercial da planta. Essas estruturas vegetais podem ser fonte de antioxidantes. Ao serem trituradas são utilizadas na alimentação humana como fonte expressiva de proteína e, se torradas, são substitutas do café (ROSA, 2013; VIEIRA, 2013).

3.6.1 Infusão

É o método extrativo que se realiza pelo aquecimento do solvente (água), sendo este, abaixo do ponto de ebulição, adicionado sobre a droga, mantendo a mistura em recipiente fechado durante 10 minutos (ABREU, 2013). Só após este período a mistura é coada (filtrada através de tecidos) e a parte líquida é utilizada na preparação do remédio. Esta técnica é aplicada ao preparo de chá de drogas constituídas de substância voláteis, sublimáveis ou termolábeis, como as essências, por exemplo. Assim, o preparo de chá de drogas aromáticas (alecrim, alfavaca, alho, canela, capim-santo, cravo, erva-cidreira, eucalipto, etc.) utiliza este processo (ABREU, 2013; ROSA, 2013).

3.6.2 Decocção

É o método extrativo realizado pelo aquecimento concomitante da droga vegetal com o solvente (água), mantendo a fervura durante 10 minutos, ao fim dos quais, a mistura resfriada é coada (filtrada através de tecidos), e a parte líquida é usada para o preparo do remédio. Esta técnica é aplicada ao preparo de chás de drogas constituídas de substâncias termo-resistentes ou dificilmente extraíveis, tanto pela pequena solubilidade no solvente quanto pela grande resistência dos tecidos da droga (cascas, lenhos, tubérculos, raízes, etc.) (MACIEL et al., 2012).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

Três amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. totalizando 150g, foram adquiridas em uma ervanária (C) e farmácias de manipulação (A e B), localizadas no município de Palmas-TO.

4.2 Período e local

As análises foram realizadas nos meses de abril a maio de 2015, nos Laboratórios de Bromatologia e Análises Químicas, situados no Complexo Laboratorial do Centro Universitário Luterano de Palmas.

4.3 Métodos

4.3.1 Preparo do material vegetal

As amostras foram pulverizadas em moinho de facas e armazenadas em frascos âmbar, ao abrigo da luz, calor e umidade até serem utilizadas nos demais testes.

4.3.2 Triagem fitoquímica

A triagem foi realizada segundo a metodologia proposta por Costa (2002), sendo utilizadas espécies controle, plantas medicinais que possuem alto teor das classes químicas em estudo de acordo com a literatura. Assim, as espécies controle positivo foram: para alcalóides utilizou-se *Peumus boldus*, para antraquinonas a *Rhammus purshiana*, flavonóides a *Baccharis genistelloides*, saponinas a *Pheffia paniculate* e taninos a *Endopleura uch*.

4.3.2.1 Alcalóides

A extração foi realizada com 2 g da droga vegetal com 15 ml de HCl a 2% em banho maria por 5 minutos. Posteriormente foi extraída a mesma droga vegetal com 30 ml de HCL 0,1 N por 5 minutos em banho Maria. As soluções extrativas foram filtradas no funil de separação. Logo foi realizado o processo de purificação, onde foi adicionado 1,5 ml de

hidróxido de amônio para alcalinizar o pH da solução extrativa para 8. No funil de separação adicionou-se 2 vezes 15 ml de clorofórmio, agitou-se o funil. Recolheu-se a fase clorofórmica (inferior) em um béquer. Para obter o concentrado da solução, evaporou-se a 15 ml da fração clorofórmica (extrato rico em alcalóides) em cápsula de porcelana na chapa aquecedora. Ressuspendeu-se na capela o extrato com 12 ml de HCl 2% na cápsula de porcelana. A solução obtida a partir desse processo foi dividida em 4 tubos de ensaio, sendo realizadas as reações de caracterização utilizando os reagentes específicos: Wagner, Dragendorff e Mayer. A formação de precipitado após a adição dos reagentes indica a positividade para alcalóides.

4.3.2.2 Antraquinonas

Foi utilizado 1g da droga vegetal na preparação dos testes para detectar a presença de antraquinonas livres e heterosídicas.

4.3.2.2.1 Antraquinonas livres

Em tubo de ensaio foi adicionado 1g da droga vegetal e 10 ml de eter etílico. Em seguida foi adicionado 1 ml de amônia 10% (v/v), agitando em seguida. O resultado positivo para presença de antraquinonas livres é observada pela coloração rósea da camada aquosa.

4.3.2.2.2 Heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntrager direta)

Para este teste foi utilizado 1 g da droga vegetal e 5 ml de amônia 10% (v/v), em tubo de ensaio. O desenvolvimento de coloração rósea na camada aquosa indica a presença de heterosídeos antraquinônicos.

4.3.2.3 Flavonóides

4.3.2.3.1 Reação de Shinoda

Para a reação de flavonóides foram pesados 5g da droga vegetal em pó, em seguida foi feita a digestão com 50 ml de solução hidroalcoólica a 75% (v/v) em um béquer de vidro, esta

solução foi levada ao banho-maria por 5 minutos. Da solução extrativa obtida, evaporou-se totalmente 8 ml em cápsula de porcelana, o resíduo obtido foi lavado com éter etílico e ressuspendido com 3 ml de metanol. Essa solução metanólica foi transferida para tubo de ensaio e 100 mg de magnésio em pó foi adicionado com precaução nas 3 amostras e no controle positivo, seguido de 1 mL de HCl concentrado. Para confirmar a positividade da amostra nesse teste colorimétrico foram usadas uma amostra de cada extrato somente com a solução extrativa, devido a cor do extrato da flor de Hibiscus ser de uma cor vermelha, podendo interferir nos resultados que, seriam alaranjado para droga vegetal que possuem flavona, avermelhado para as que possuem flavonol.

4.3.2.4 Saponinas

A solução extrativa para identificação de saponinas foi obtida adicionando-se 100 ml de água destilada a 2g do material vegetal seco em um béquer. Em seguida, a mistura foi fervida sob refluxo durante 10 minutos. Após resfriamento foi realizada a filtração através funil com algodão, vertendo-se para um tubo de ensaio.

4.3.2.4.1 Teste de espuma

Foi transferido 1 mL da solução extrativa para tubos de ensaio, adicionou-se 10 mL de água destilada e em seguida agitou-se vigorosamente por 15 segundos. O resultado do teste é positivo quando há a formação de espuma persistente por 20 minutos e não desaparece à adição de 1 ml de ácido clorídrico 2 N.

4.3.2.4.2 Reação de Salkowski

Em cápsula de porcelana adicionou-se 10 mL da solução extrativa, levou-se para aquecer até evaporar e obter um resíduo seco. Em seguida, ressuspendeu-se o resíduo em 5 ml de clorofórmio e verteu a mistura para um tubo de ensaio, sendo evaporada até a secura em banho maria. Posteriormente adicionou-se ao resíduo 1 ml de H₂SO₄ concentrado. A formação de coloração castanho-escuro-avermelhado revela a presença de núcleo esteroidal.

4.3.2.5 Taninos

Os decoctos foram preparados com 5g da droga vegetal adicionados a 100ml de água destilada, levados ao banho-maria por 10 minutos. A solução extrativa obtida foi então dividida em 3 tubos de ensaio contendo 2, 2 e 5 mL para a realização da reação de gelatina, sais de ferro e acetato de chumbo, respectivamente.

4.3.2.5.1 Reação de gelatina

Para esta reação transferiu-se 2ml da solução extrativa para um tubo de ensaio, onde posteriormente foi-se adicionado 2 gotas de ácido clorídrico 0,1N e 5 gotas de solução de gelatina a 2,5%. Utilizou-se um controle negativo para verificar o precipitado a dificuldade de visualização e devido a cor do extrato ser um vermelho e dificultando a visualização. A formação de precipitado indica a presença de taninos.

4.3.2.5.2 Reação de sais de ferro

Para esta reação transferiu-se 2mL da solução extrativa juntamente com 20ml de água destilada para um tubo de ensaio e adiciono-se 4 gotas de cloreto férrico a 1% em metanol. Neste teste houve um controle negativo para confirmar a positividade utilizando-se o extrato da flor de *hibiscus*, como são teste colorímetro a cor natural do extrato pode vir a atrapalhar a visualização. A coloração azul indica a presença de taninos hidrolisáveis, já a coloração verde a de taninos condensados.

4.3.2.5.3 Reação de acetato de chumbo

Foi transferido para um tubo de ensaio 5ml da solução extrativa e a esta foi adicionado 10 ml de ácido acético 10% e 5 ml de acetato de chumbo. A positividade se confirma pela formação de um precipitado esbranquiçado.

4.3.3 Avaliação antioxidante

A atividade antioxidante foi realizada pelo método fotocolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (2-2-difenil-1-picrilidrazida).

Nesse método utilizou-se uma solução 0,004 % de DPPH em etanol a 95%, utilizando o branco como controle. Para o branco adicionou-se 1mL de etanol a 95% e 2mL de DPPH para a leitura das amostras em etanol, e nas demais utilizou 1mL de água e 2mL de DPPH.

Foram utilizadas três amostras do extrato seco da flor de *Hibiscus* (A, B e C), preparadas em função dos tratamentos, empregando-se 0,250g do extrato da flor de *Hibiscus* em 25mL de etanol 95% para obtenção do extrato etanólico pelo processo de maceração. Para o extrato aquoso quente, empregou-se 0,250g do extrato seco da flor de *Hibiscus* em 25mL de água pelo processo de infusão.

No processo de decocção utilizou-se 0,250g de extrato seco da flor de *Hibiscus* em 25mL de água a 100°C, durante 10 a 15 minutos, logo após esfriar, as amostras foram colocadas em repouso. O tempo total de extração foi de 48 horas. Após a extração, as amostras foram filtradas com papel filtro, e adicionou-se no becker 1ml da amostra e 2 ml da solução de DPPH 0,004%, que foram incubadas na temperatura ambiente e protegida da luz por 30 minutos.

A leitura da absorbância da cada amostra foi realizada no espectrofômetro a 517 nm (Amersham Biosciences modelo Ultrospec 500 pro). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de inibição (%I) foi calculada pela Equação 1:

$$\%I = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

Em que A_0 é a absorbância do DPPH (branco) e A é a absorbância da amostra mais DPPH (RAMOS et al., 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Triagem fitoquímica

Os resultados da triagem fitoquímica realizada no *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridos comercialmente em Palmas-TO estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultado da triagem fitoquímica das amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas-TO, 2015

Classes	Reações	A	B	C	C
Alcaloides	Mayer	+	+	+	+
	Wagner	+	+	+	+
	Dragendorff	+	+	+	+
<i>Peumus boldus</i> *					+
Antraquinona	Livres	-	-	-	+
	Heterosídeos Antraquinônicos	-	-	-	+
<i>Rhammus purshiana</i> *					+
Flavonoides	Shinoda	+	+	+	+
<i>Baccharis genistelloides</i> *					+
Saponinas	Teste de espuma	-	-	-	+
	Salkowski	-	-	-	+
<i>Pheffia paniculate</i> *					+
Taninos	Gelatina	+	+	+	+
	Sais de ferro	+	+	+	+
	Acetato de chumbo	+	+	+	+
<i>Endopleura uch</i> *					+

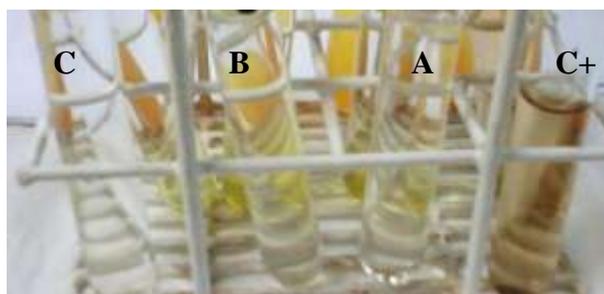
(*) Espécie controle; (+) positivo; (-) negativo.

A triagem fitoquímica é uma análise fundamental para identificar ou não as classes químicas da espécie, podendo a partir dos resultados encontrados verificar se haverá ou não ação terapêutica esperada. Outros fatores como armazenamento, temperatura, condições hídricas, radiações ultravioleta podem alterar a produção de nutrientes da planta (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Na análise dos testes para alcaloides foram encontrados resultados positivos. Os testes foram: reação de Mayer (Figura 2), sendo constatada a formação de precipitado indicando a positividade para alcaloides; reação de Wagner (Figura 3), sendo constatada a formação de

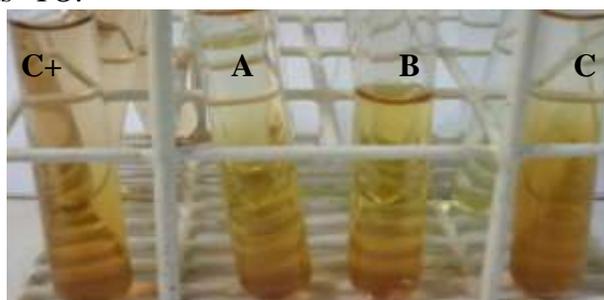
precipitado indicando a positividade para alcaloides e a reação de Dragendorff (Figura 4), sendo constatada uma pequena turvação formando um precipitado, indicando a positividade para alcaloides.

Figura 2 - Resultados do teste de Mayer de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas- TO.



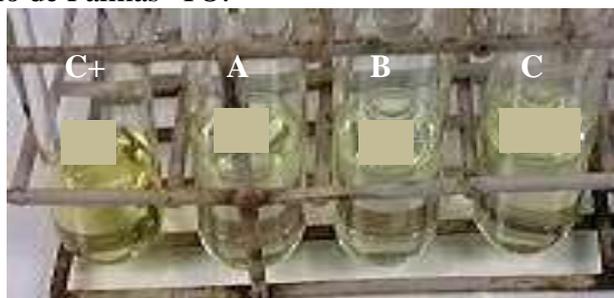
Da esquerda para direita: amostras C, B, A e C+ (controle positivo +) respectivamente.

Figura 3 - Resultados do teste de Wagner de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas- TO.



Da esquerda para direita: amostras C+ (controle positivo +), A, B e C respectivamente.

Figura 4 - Resultados do teste de Dragendorff de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas- TO.



Da esquerda para direita: amostras C+ (controle positivo +), A, B e C respectivamente.

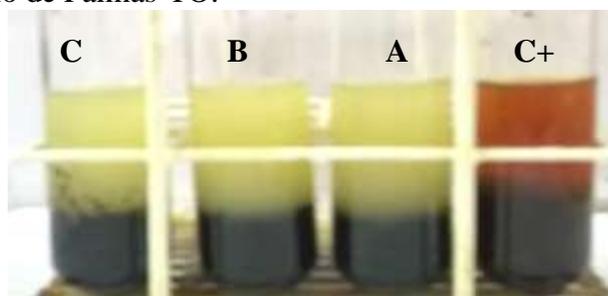
Nos estudos realizados para determinar a presença de constituintes fitoquímicos presente no *Hibiscus* não foi constatado a presença de alcaloides nos testes fitoquímicos (FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013).

Esse estudo foi feito com as folhas do *Hibiscus sabdariffa*, já com a flor do *H. sabdariffa* não foram encontrados pesquisas feitas, que comprova as classes fitoquímicas da mesma. Na Farmacopeia não foram encontrados estudos referente.

Em estudo realizado por Rodrigues et al., (2011), em agosto de 2009 no horto do herbário Atico Seabra da Universidade Federal do Maranhão, em São Luís-MA, utilizando as folhas de *H. sabdariffa*, os resultados demonstraram também a presença alcaloides. Portanto, encontra-se uma literatura conflituosa a respeito da presença de alcaloides em *H. sabdariffa*, valendo salientar que a presença de constituintes fitoquímicos também pode variar de acordo com o metabolismo vegetal da planta e outras variáveis como: local de coleta, armazenamento, dentre outros.

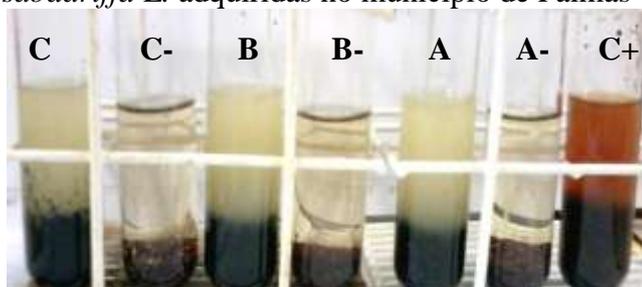
No teste de antraquinonas livres (Figura 5), não ocorreu a coloração rósea, portanto o teste foi negativo. No teste de heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntrager), (Figura 6), não houve o aparecimento da coloração rósea na camada aquosa sendo assim, o resultado negativo. Portanto, em nenhum dos testes realizado, as amostras do extrato da flor de *Hibiscus sabdariffa* L. apresentaram compostos antraquinônicos.

Figura 5 - Resultados do teste de antraquinonas livre nas amostras de *Hibiscus sabdariffa*L. adquiridas no município de Palmas-TO.



Da esquerda para direita: amostras C, B, A e C+ (controle positivo +) respectivamente.

Figura 6 - Resultados do teste de heterosídeos antraquinônicos (reação de Borntrager), de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas-TO.

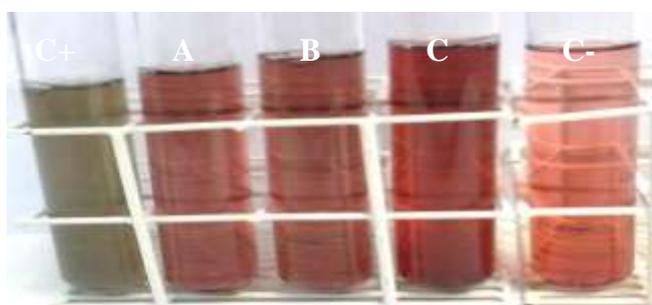


Da esquerda para direita: C (C-)* (Controle negativo do extrato sem amônia), (amostra C); B (B-)* (amostra B); A (A-)* (amostra A); e C+ (controle positivo), respectivamente

No teste para verificar a presença de antraquinonas utilizou-se um controle negativo. Como os teste fitoquímicos são colorimétricos e além disso, *Hibiscus sabdariffa* L. é vermelha, fez-se necessário o controle negativo. Este contém somente uma solução extrativa colorida visando comparar com a amostra estudada para obter um resultado confiável, evitando confusões de cores e um falso positivo.

Nos testes para detecção de flavonoides, abaixo esta demonstrando o resultado da reação de Shinoda (Figura 7), sendo que as amostras A, B e C apresentaram positividade confirmando a presença dos flavonoides através da coloração avermelhada.

Figura 7 - Resultado do teste de Shinoda das amostras do extrato da flor de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas- TO.



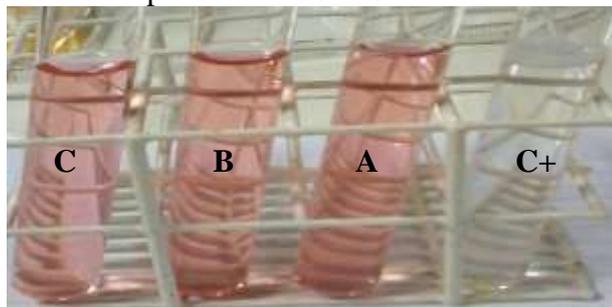
Da esquerda para a direita; amostras C+, A, B, C e C-. Para o teste de Shinoda utilizou-se um controle negativo do extrato devido a sua coloração (vermelho) respectivamente.

Estudos realizados por Rodrigues et al., (2011), em agosto de 2009 no horto do herbário Atico Seabra da Universidade Federal do Maranhão, em São Luís-MA, utilizando as folhas de *H. sabdariffa*, foi comprovada a presença flavonoides.

Medina-Carrilho et al., (2013), destacaram também a presença de flavonoides, no extrato seco da flor de *Hibiscus*, sendo assim, o resultado encontrado esta em consonância com a literatura.

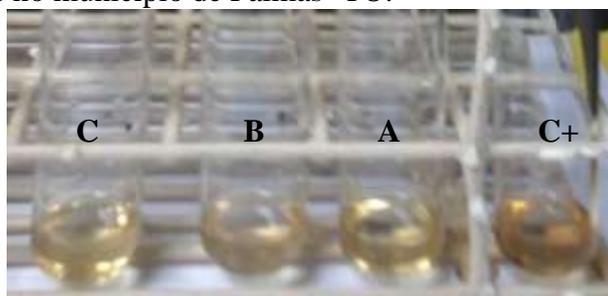
Nos testes para detecção de saponinas: o teste de espuma apresentou resultado negativo, pois não houve formação de espuma caracterizando a negatividade para o teste conforme figura 8. A reação de Salkowski (Figura 9), também não houve a formação de coloração castanho-escuro-avermelhado, que revelaria a presença de núcleo esteroidal, portanto o resultado é negativo.

Figura 8 - Resultados do teste para saponinas: teste de Espuma das amostras de *Hibiscus sabdariffa* L adquiridas no município de Palmas- TO.



Da esquerda para direita: amostras C, B, A e C+ (controle positivo +) respectivamente.

Figura 9 - Resultados do teste para saponinas: reação de Salkowiski das amostras de *Hibiscus sabdariffa* L adquiridas no município de Palmas- TO.



Da esquerda para direita: amostras C, B, A e C+ (controle positivo +) respectivamente.

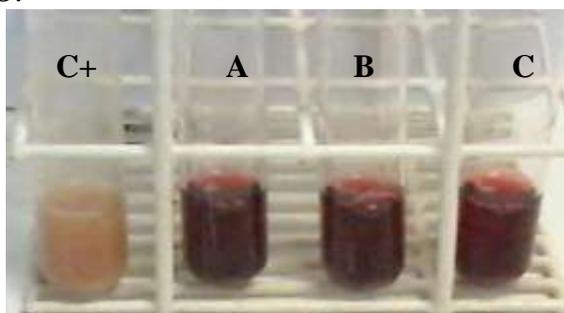
Nos estudos realizados para determinar os constituintes fitoquímicos presente no *Hibiscus* não foi constatado a presença de saponinas nos teste fitoquímicos (FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013).

Entretanto, um estudo utilizando as folhas de *H. sabdariffa*, realizado por Rodrigues et al., (2011), em agosto de 2009, no horto do herbário Atico Seabra da Universidade Federal do Maranhão, em São Luís-MA, foi comprovada a presença saponinas.

Desse modo, encontra-se literatura conflituosa sobre a presença deste constituinte.

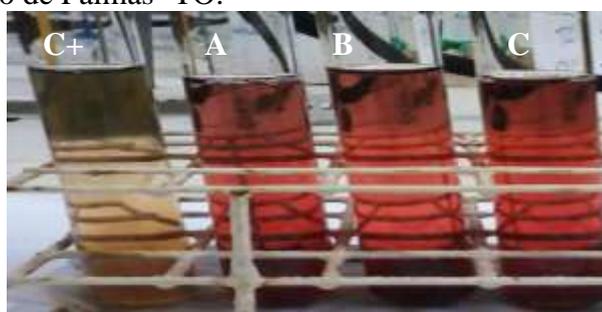
Nos testes abaixo estão mostrados os resultados nas reações de gelatina, sais de ferro e acetato de chumbo. Na reação de gelatina (Figura 10) ocorreu a formação de precipitação indicando a presença de taninos. A reação de sais de ferro (Figura 11) apresentou a coloração verde indicando a presença de taninos condensados. Na reação de acetato de chumbo (Figura 12), a coloração azul confirmou a presença de taninos condensados e o precipitado esbranquiçado a presença de taninos hidrolisável.

Figura 10 - Resultado do teste de gelatina de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L adquiridas no município de Palmas- TO.



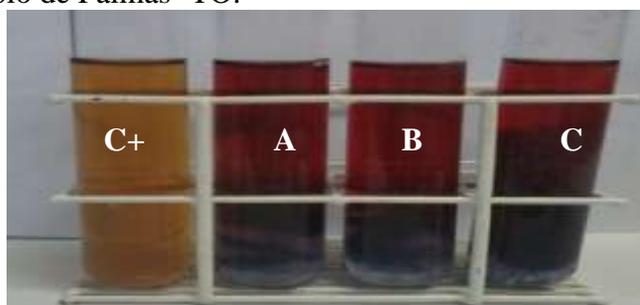
Da esquerda para direita: amostras C+ (controle positivo +), A, B e C respectivamente.

Figura 11 - Resultado da reação de sais de ferro de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas- TO.



Da esquerda para direita: amostras C+ (controle positivo +), A, B e C respectivamente.

Figura 12 - Resultado da reação de sais de ferro de amostras de *Hibiscus sabdariffa* L. adquiridas no município de Palmas- TO.



Da esquerda para direita: amostras C+ (controle positivo +), A, B e C respectivamente.

Nas análises de taninos foram positivos tanto para hidrolisados como para taninos condensados, os taninos são substância fenólicas solúveis em água, que se encontram distribuídas nas plantas superiores. Estes metabólitos secundários foram encontrados na flor de *H. sabdariffa* L. Tais compostos são responsáveis pela adstringência de frutos e plantas em geral, através da complexação entre taninos e proteínas que é à base de algumas de suas propriedades biológicas, tais como controle de fungos e bactérias (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2002).

Nos estudos realizados para determinar os constituintes fitoquímicos presente nas folhas e caule no *Hibiscus* foi constatado a presença de taninos nos teste fitoquímicos (FREITAS; SANTOS; MOREIRA, 2013).

5.2 Método de DPPH

Os resultados obtidos no método do 2,2 difenil-1-picril hidrazil radical (DPPH) de amostras da *Hibiscus sabdariffa* L adquiridas no município de Palmas- TO, estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Porcentagem de inibição de radicais livres em diferentes tipos de extração, utilizando o método DPPH.

[] 0,01g/mL	Amostra A			Amostra B			Amostra C		
	(%I)	DP ±	CV %	(%I)	DP±	CV %	(%I)	DP±	CV %
Maceração	26.6%	0,1%	0,4%	26,7%	0,1%	0,2%	26,8%	0,1%	0,4%
Etanol									
Infusão	14,%	0,3%	2,3%	14,3%	0,4%	2,5%	10,4%	2,4%	22,9%
Decocção	15,0%	3,9%	26,2%	11,4%	1,4%	12,6%	11,5%	2,2%	19,1%

[] = concentração do extrato; (%I)= Porcentagem de Inibição de radicais livres; (DP)= Desvio padrão; (CV%) = Coeficiente de variação.

Nas amostras que foram utilizadas para verificar a inibição de radicais livres, primeiro se usou o etanol a 95% (v/v) que mostrou uma melhor inibição, no método da infusão obteve-se inibição maior nas amostras A e B, já a amostra C apresentou o CV alto. Amostra C foi adquirida a granel e ela poderia não estar armazenada corretamente, podendo ter sofrido alguma alteração, com isso a temperatura abaixo de 100°C pode não ter sido suficiente para ter uma inibição de radicais livres melhor.

Na decocção em relação à infusão foi maior, o que pode ter ocorrido e uma quebra das moléculas de taninos condensados provocando um aumento de flavonol, sugerindo que temperaturas acima de 100°C podem ser melhor para a extração de antioxidante da flor seca do *hibisco* que em temperaturas abaixo do ponto de ebulição (BONETT; L. P.; BAUMGARTNER, 2007). Mesmo não tendo precisão nos resultados, o que demonstra instabilidade na leitura pelo método espectrofotométrico, possivelmente pela degradação de ativos sem atividade antioxidante e conversão de taninos condensados em flavonóides, explicando o aumento da atividade antioxidante em comparação à infusão.

As amostras A e B estavam em embalagens lacradas, já a amostra C foi adquirida a granel e isso pode alterar os resultados, o local de armazenamento pode não ser sido um lugar adequado provocando uma alteração na droga vegetal e na leitura da absorbância não tendo grande variação entre as leituras.

Estudos realizados para avaliar a atividades antioxidantes da flor de *Hibiscus sabdariffa*, através sequestrar radicais livres in vitro pelo método do 2,2 difenil-1-picril hidrazil radical (DPPH), sendo inicialmente escolhido por se tratar de uma metodologia simples, rápida, eficaz e muito conveniente para realização de varias amostras. O etanol que esta sendo usado como extrator, tem apresentado grande potencial de inibição de radicais livres. A água através da infusão também tem seu potencial de inibição, menor que etanol mas de grande importância, (RAMOS et al., 2011; CARVALHO et al., 2014).

A atividades antioxidante dos extratos estão relacionados com alto teor de antocianina que é uma das sub classe dos flavonoides, os principais constituintes da flor de *H. sabdariffa* (MEDINA-CARRILHO et al., 2013).

Os valores de polifenóis totais e de antocianinas do extrato alcoólico da flor apresenta diferença significativa entre o alcoólico dos frutos com sementes (MACIEL, 2011).

De acordo com os resultados podemos verificar que a flor de *Hibiscus sabdariffa* tem um poder antioxidante muito grande.

É importante ressaltar que o extrato da flor *H. sabdariffa* poderá ser ainda mais efetivo como antioxidante por meio de aprimoramento nos processos de extração dos compostos fenólicos e de flavonoides, devido a grande presença desses compostos destaca-se a importância de novas pesquisas de novos agentes antioxidantes (FORMAGIO et al., 2010).

6 CONCLUSÃO

Na verificação da atividade antioxidante do extrato da flor de *H. sabdariffa* L. comercializadas em Palmas – TO, comprovou-se a presença de antioxidante nos diversos extratos utilizados.

Na triagem fitoquímica foram verificadas a presença de taninos, alcaloides e flavonoides, explicando algumas atividades terapêuticas como antibacteriana, diuréticas e outras, bem como a presença de flavonoides, estes sendo os principais responsáveis pela atividade antioxidante.

A porcentagem de inibição de radicais livres pelo método do DPPH de diferentes extratos da flor seca de *H. sabdariffa* L. foram; amostra A (26,6%), amostra B (26,7%), amostra C (26,8%) seguindo o método etanol 95%; no método de infusão, os resultados apresentado foram; amostra A (14,0%), amostra B (14,3%), amostra C (10,4%), no método de decocção; amostra A (15,0%), amostra B (11,4%), amostra C (11,5%).

O método do DPPH, para avaliar a inibição dos radicais livres, mostrou que mesmo a extração com o etanol a 95% tenha se mostrado na tabela valores mais específico, mas que, a água também tem um grande poder de extração dos antioxidantes pelo método aquoso da infusão e decocção.

Relacionando os efeitos de temperatura e solubilidade para o preparo do extrato, observou-se que a temperatura influencia na atividade antioxidante, pois os compostos fenólicos são sensíveis ao calor. Assim como, a forma de armazenamento também tem influência, pois a amostra C apresenta valores variáveis quando comparados às demais amostras, já que esta foi vendida a granel. Também observou-se que, na amostra B, a temperatura (decocção), pode ter convertido taninos em flavonoides, o que responderia ao maior valor obtido em relação à infusão, que utiliza-se de temperaturas mais brandas.

Conclui-se que a forma de preparo e armazenamento das flores de hibisco influencia na atividade oxidante, que esta sendo utilizada para combater radicais livres na possível prevenção de diabetes, obesidade, entre outras.

Portanto, o conhecimento das propriedades antioxidantes dos produtos de nosso consumo diário como bebidas populares e fontes significativas de compostos fenólicos, sendo considerados importantes integrantes das dietas devido as suas propriedades antioxidantes podendo direcionar a população apropriadamente, na escolha de um maior poder medicinal.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. **Estudo do poder antioxidante em infusões de ervas utilizadas como chás.** 88 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimento). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria – RS, 2013.

AKINDAHUNSI, A. A.; OLALEYE, M. T. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. **J Ethnopharmacol.** v. 89, n. 1, p. 161-4, nov., 2003.

BRASIL. Portaria nº. 971, de 03 de maio de 2006. **Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde.** Brasília-DF, 2006.

BONETT, L. P., BAUMGARTNER, M. S. T., KLEIN, A. C., SILVA, L. I. Compostos nutricionais e fatores antinutricionais do feijão comum (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama*, v. 11, n. 3, p. 235-246, set/dez. 2007.

CARVALHO, A. C. M.; LAMEIRA, O. A.; PIRES, H. C. G.; ASSIS, R. M. A. Aspectos fenológicos de *Hibiscus sabdariffa* L. (Malvaceae). In 18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental, **Anais.** Belém-PA, ago., 2014.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 441-449, abr., 2007.

CID-ORTEGA, S.; GUERRERO-BELTRÁN, J. A. Propiedades funcionales de la Jamaica. **Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos**, v. 6, n. 2, p. 47-63, 2012.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 389–399, 2012.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. Introdução à análise fitoquímica. In: Simões, C. M. O (org.). **Farmacognosia - da planta ao medicamento.** 4.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/UFSC, p.63-72. 2002.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira.** 5ª ed., v. 1, Brasília, 2010. 546 p.

FILHO, R. B. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

FOGLIO, M. A.; QUEIROGA, C. L.; SOUSA, I. M. O.; RODRIGUES, R. A. F. Plantas medicinais como fonte de recursos terapêuticos: um modelo multidisciplinar. **Multiciência: construindo a história dos produtos naturais**, v. 7, p. 1-8, 2006.

FORMAGIO, A. S. N.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. C.; ZÁRATE, N. A. H.; MATOS, A. I. N.; VOLOBUFF, C. R. F. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, s. 2, p. 629-638, out., 2014

FREITAS, N. M.; SANTOS, A. M. C. M.; MOREIRA, L. R. M. O. Avaliação fitoquímica e determinação de minerais em amostras de *Hibiscus sabdariffa* L (vinagreira). **Cad. Pesq.**, São Luís, v. 20, n. 3, set./dez. 2013.

FRANK, T.; NETZEL, G. Consumption of *Hibiscus sabdariffa* L. aqueous extract and its impact on systemic antioxidant potential in healthy subjects. **Wiley Online Library**, v. 13 fev., 2012.

GRASSI, D.; DESIDERI, G. B.; FERRI, C.; Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. **Nutrients**, v. 2, p. 889-902, 2010;

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quím. Nova*, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GUINDANI, M.; TONET, F.; KUHN, F.; DAL MAGRO, J.; DALCANTON, F.; FIORI, M. A.; MELLO, J. M. M. Estudo do processo de extração dos compostos Fenólicos e antocianinas totais do *Hibiscos sabdariffa*. In Congresso Brasileiro de Engenharia Química – COBEQ, **Anais**. Florianópolis – SC, p. 1-7, 2014.

JACQUES, A. C.; ZAMBIAZI, R. C. Fitoquímicos em amora-preta (*Rubus spp*). **Semina. Ciências Agrárias**, v. 32, p. 245-260, 2011.

JULIANI, H. R. et al. Chemistry and Quality of Hibiscus (*Hibiscus sabdariffa*) for developing the natural-product industry in Senegal. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 2, 2009.

KUMAR, S. Free radicals and antioxidants: human and food system. **Adv. Appl. Sci. Res.**, v. 2, n. 1, p. 129-135, 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2008.

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Rev Inst Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 71, n. 3, p. 462-70, 2012.

MACIEL, M. J. et al. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator antibacteriano e antioxidante. **Rev Inst Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 71, n. 3, p. 462-70, 2012.

MACIEL, M. J. Avaliação do extrato alcoólico de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante em alimentos. 62 f. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

MAHADEVAN, N. *Hibiscus Sabdariffa* Linn. – An overview. **Natural Product Radiance**, v. 8, n. 1, p. 77-83, 2009.

MEDINA-CARRILLO, R. E.; SUMAYA-MARTÍNEZ, M. T.; MACHUCA-SÁNCHEZ, M. L.; SÁNCHEZ-HERRERA, L. M.; BALOIS-MORALES, R.; JIMÉNEZ-RUIZ, E. I. Actividad antioxidante de extractos de cálices deshidratados de 64 variedades de jamaica (*hibiscos sabdariffa* l.) em función de fenólicos y antocianinas totals. **Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias**, v. 22, n. esp., p. 41-44, dez., 2013.

MOHD-ESA, N.M., et al. Antioxidant activity in different parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential exploitation of the seeds. **Food Chemistry**, v. 122, p. 1055-1060, 2011

MONROY-ORTIZ, C.; CASTILLO-ESPANA, P. **Plantas medicinales utilizadas en el estado de morelos**. México: Uaem, 2007. 405p.

MULVIHILL, E. E.; HUFF, M. W. Antiatherogenic properties of flavonoids: implications for cardiovascular health. **Can J Cardiol**, v. 26, s. A, p. 17A-21A, mar., 2010.

OLATUNDE, F. E.; FAKOYA, A. Free radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.49, p. 1120-1128, 2005.

OJEDA, D.; JIMÉNEZ-FERRER, E.; ZAMILPA, A.; HERRERA-ARELLANO, A.; TORTORIELLO, J.; ALVAREZ, L. Inhibition of Angiotensin Convertin Enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 7–10, 2010.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **J. Biotec. Biodivers.** v. 3, n. 4, p. 146-152, nov., 2012.

PRASONGWATANA, S. et al. Uricosuric effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) in normal and renal-stone former subject. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, p. 491–495, 2008.

RAHMAN, I.; BISWAS, S. K.; KIRKHAM, P. A. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. **Biochem Pharmacol.** v. 72, p. 1439–1452, 2006.

RAMOS, D. D.; VIEIRA, M. C.; FORMAGIO, A. S. N.; CARDOSO, C. A. L.; RAMOS, D. D.; CARNEVALI, T. O. Atividade antioxidante de *Hibiscus sabdariffa* L. em função do espaçamento entre plantas e da adubação orgânica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, p. 1331-1336, ago., 2011

RODRIGUES, A. G.; AMARAL, A. C. F. Aspectos sobre o desenvolvimento da fitoterapia. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica**. Brasília: Ministério da Saúde, 2012 (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica; n. 31).

RODRIGUES, A. C. F.; DA COSTA, J. F.; SILVA, A. L.; DO NASCIMENTO, E. P.; SILVA, F. R. G.; DE SOUZA, L. I. O.; AZEVEDO, R. R. S.; ROCHA, T. J. M.; DOS SANTOS, A. F. Atividade antibacteriana, antioxidante e toxicidade do extrato etanólico de *Senna obtusifolia*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 10, n. 3, p. 43 – 53, 2013.

RODRIGUES et al., Estudo farmacognóstico das folhas de *Hibiscus sabdariffa* L. (MALVACEAE). **Anais: 62ª Reunião Anual da SBPC**, p. 1-2, 2011.

ROSA, E. S. **Características nutricionais e fitoquímicas em diferentes preparações e apresentação de *Hibiscus sabdariffa* L. (hibisco, vinagreira, rosela, quiabo-de-angola, caruru-da-guiné) – Malvaceae**. 45 f. 2013. TCC (Bacharelado em Nutrição), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

RUFINO, M. S. M. et al., Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico** 127, MAPA/EMBRAPA, Fortaleza/Brasil, julho, 2007.

SAAD, Glauca de Azevedo et al., **Fitoterapia contemporânea: tradição e ciências na prática clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

SILVA, D. C.; CERCHIARO, G.; HONORIO, K. M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. *Quím. Nova*, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 300-305, 2011.

SOARES, J. J. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo de extratos preparados a partir das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels**. 82 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Fundação Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana-RS, 2013.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

TABACH et al., **Boletim – PLANFAVI**. PLANFAVI - Sistema de farmacovigilância em plantas medicinais. n. 30, p.1-4, abr.-jun., 2014.

VANCINI, R. L. et al., Influência do exercício sobre a produção de radicais livres. **Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde**, v. 1, p. 47-58, 2005.

VEIGA JUNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev. bras. farmacogn.** [Online]. v. 18, n. 2, p. 308-313, 2008.

VIEIRA, P. M. **Avaliação da composição química, dos compostos bioativos e da atividade antioxidante em flores comestíveis**. 96 f. 2013. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Araraquara-SP, 2013.

VIZZOTTO, M.; CASTILHO, P. M.; PEREIRA, M. C. compostos bioativos e atividade antioxidante em cálices de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Comunicado Técnico**, n. 213, Pelotas – RS, p. 1-7, 2009.

WAHABI, H. A.; ALANSARY, L. A.; AL-SABBAN, A. H.; GLASZIUO, P. The effective essof *Hibiscus sabdariffa* in the treatment of hypertension: A systematic review. **Phytomedicine**, v. 17, p. 83–86, 2010.