

COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DUAS VARIEDADES DE GOIABA E ARRUDA

PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF TWO VARIETIES OF GUAVA AND RUE

Kimiyo Shimomura Haida¹, Ângela Baron², Karissa Satomi Haida³, Danusa de Fáci⁴, Jucelaine Haas⁵ e Fábio José da Silva⁶

¹ Farmacêutica-bioquímica; mestre em Ciências dos Alimentos, pela Universidade Estadual de Londrina – UEL; docente adjunta da Universidade Paranaense – Unipar, *Campus* de Cascavel, Paraná.

² Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, Programa de Iniciação Científica da Universidade Paranaense – Unipar, *Campus* de Cascavel.

³ Farmacêutica graduada pela Universidade Paranaense – Unipar; mestre em Ciências Farmacêuticas, pela Universidade Estadual de Maringá – UEM.

⁴ Acadêmica do Curso de Biomedicina, Programa de Iniciação Científica da Universidade Paranaense – Unipar, *Campus* de Cascavel.

⁵ Bióloga; mestre em Agronomia, pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste; docente da Universidade Paranaense – Unipar, *Campus* de Cascavel, Paraná.

⁶ Acadêmico do Curso de Ciências Biológicas, Programa de Iniciação Científica da Universidade Paranaense – Unipar, *Campus* de Cascavel.

RESUMO

Os antioxidantes são importantes para reduzir os danos oxidativos nos componentes celulares causados por espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e para prevenção de certas doenças crônicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante e a quantidade de compostos fenólicos presentes em goiaba vermelha (*Psidium guajava* var. *pomifera* L.), goiaba branca (*Psidium guajava* var. *pyriferum* L.) e arruda (*Ruta graveolens* L.). A partir de folhas secas, foram preparados os extratos aquoso e etanólico nas seguintes concentrações: 1.000, 500, 250 e 125mg/mL. Para determinação dos teores de fenóis totais, foi utilizado o método de Folin-Ciocalteu. A análise quantitativa *in vitro* da atividade antioxidante foi realizada pelo método de DPPH nos dois extratos e também nos padrões positivos: rutina, ácido gálico e ácido ascórbico. O teor de compostos fenólicos variou de 158,29 a 165,07mg EAG/g de extrato seco para goiaba branca, 160,61 a 175,10mg EAG/g para goiaba vermelha e 157,18 a 179,26mg EAG/g para arruda. Dentre os compostos padrões, o ácido ascórbico apresentou maior atividade antioxidante (AA%), depois o ácido gálico e, por fim a rutina. As folhas de goiaba das duas variedades apresentaram alta atividade antioxidante, próximas aos padrões. Em concentrações mais baixas, o extrato aquoso das goiabas apresentou maior AA% que extrato etanólico. A arruda, mesmo com grandes teores de compostos fenólicos, deve ser utilizada com cuidado devido às suas ações fisiológicas. A atividade antioxidante de um extrato não pode ser explicada apenas com base em seu teor de fenólicos totais – é necessária a caracterização da estrutura do composto ativo.

Palavras-chave: goiaba; arruda; polifenóis totais; antioxidante.

ABSTRACT

Antioxidants are important to reduce oxidative damage to cellular components caused by reactive oxygen and nitrogen to prevent certain chronic diseases. The aim of this study was to evaluate the antioxidant capacity and total phenolic compounds present in red-guava (*Psidium guajava* var. *Pomifera* L.), guava-white (*Psidium guajava* var. *Pyrifera* L.) and rue (*Ruta graveolens* L.). From dried leaves were prepared aqueous and ethanol extracts at the following concentrations: 1000, 500, 250 and 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$. To determine the total phenolic content was used the method of Folin-Ciocalteu. Quantitative analysis of in vitro antioxidant activity was conducted by DPPH assay, in two groups and also in positive patterns, rutin, gallic acid and ascorbic acid. The phenolic content ranged from 158.29 to 165.07 EAG mg/g dry extract to guava-white, from 160.61 to 175.10 EAG mg / g for red guava and 157.18 to 179.26 mg EAG/g to rue. Among the standard compounds, ascorbic acid showed higher antioxidant activity (AA%) after gallic acid, and finally rutin. The guava leaf of two varieties showed high antioxidant activity close to the standards. At lower concentrations, the aqueous extract of guava showed higher AA% than ethanol extract. Rue even with large amounts of phenolic compounds should be used with care because of their physiological actions. The antioxidant activity of an extract cannot be explained solely based on their total phenolic content, it is necessary to characterize the structure of the active compound.

Keywords: guava, rue, total polyphenol, antioxidant.

1. INTRODUÇÃO

Os radicais livres (espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio) são formados naturalmente nos processos metabólicos como subprodutos acidentais ou produtos principais de reações enzimáticas ou não enzimáticas.

As espécies reativas de oxigênio (ROS), formadas pela redução do oxigênio, são o radical superóxido (O_2^-), o não radical peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o ácido hipocloroso (HOCl) e o radical hidroxil (OH^*) (1). O superóxido pode ser produzido a partir da Co-Q ou de enzimas que contêm metais como citocromo P450, xantina-oxidase e NADPH-oxidase. Quando um superóxido recebe um elétron, ele é reduzido a peróxido de hidrogênio. O radical hidroxil é formado a partir do superóxido na presença de Fe^{2+} ou Cu^+ pela reação de Fenton e a partir de peróxido de hidrogênio na reação de Haber-Weiss. A radiação ultravioleta (UV) e os poluentes do ar podem aumentar a formação de compostos tóxicos que contêm oxigênio⁽²⁾.

ROS podem induzir alguns danos oxidativos nas biomoléculas, tais como carboidratos, proteínas, lipídios e DNA, assim acelerando o envelhecimento e causando doenças cardiovasculares, doenças do sistema imunológico⁽³⁾, problemas pulmonares, diabetes, catarata, esclerose múltipla, disfunção cerebral, inflamações crônicas⁽⁴⁾, doenças neurodegenerativas, como mal de Parkinson e mal de Alzheimer⁽⁵⁾, câncer e mutação⁽⁶⁾.

Além dos radicais de oxigênio, encontram-se também as espécies reativas de nitrogênio

(RNOS), representadas por não radical peroxinitrito (OONO^-) e o radical dióxido de nitrogênio, que são formados pela reação do radical livre óxido nítrico (NO) com o O_2 ou com o superóxido. As RNOS estão presentes no meio ambiente (fumaça de cigarro) e são também geradas na célula.

Durante a fagocitose de micro-organismos invasores, as células do sistema imunitário produzem O_2^- , HOCl e NO por meio das ações de NADPH-oxidase, mieloperoxidase e óxido nítrico sintase induzível, respectivamente. Além de destruir micro-organismos invasores fagocitados, esses metabólitos tóxicos podem danificar os componentes próximos a eles⁽⁷⁾.

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos para o corpo humano. As altas taxas de produção de várias formas de espécies de oxigênio ativas são consideradas os maiores contribuintes para estresse oxidativo⁽⁸⁾. O desequilíbrio entre a produção de ROS e a capacidade normal do sistema de detoxificação em favor dos oxidantes conduz ao estresse oxidativo, ou ele próprio conduz ao dano celular causado pela interação de ROS com constituintes celulares⁽⁹⁾.

Os agentes do sistema de defesa antioxidante são gerados endogenamente, atuando como (a) detoxificadores antes que ocorra lesão, constituídos por glutatona reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase e glutatona-peroxidase (GSH-Px); (b) reparadores da lesão ocorrida,

sendo constituídos pelo ácido ascórbico, por vitamina E, glutatona-redutase (GSH-Rd) e GSH-Px, por ubiquinonas, metalotioneínas, albumina, bilirrubina e ácido úrico. Com exceção da vitamina E, que é um antioxidante estrutural da membrana, a maior parte dos agentes antioxidantes está no meio intracelular⁽¹⁰⁾; (c) reparadores do DNA, das proteínas e dos lipídeos, e são constituídos por proteases e fosfolipases, as quais atuam removendo as lesões oxidativas dessas macromoléculas⁽¹¹⁾.

De modo exógeno são obtidos os antioxidantes da dieta de fontes vegetais. A ação protetora das plantas tem sido atribuída à presença de antioxidantes, especialmente compostos polifenólicos, vitamina C, vitamina E e provitaminas antioxidantes (tocoferóis e carotenoides)⁽¹²⁾. Os vegetais possuem antioxidantes comparáveis às de flavonóis puros e superiores aos de vitaminas antioxidantes⁽¹³⁾.

Muitas plantas, comestíveis ou não, sintetizam no metabolismo secundário centenas de compostos fenólicos e polifenólicos que possuem variadas estruturas, mas que têm, no mínimo, um anel aromático com, pelo menos, um hidrogênio substituído por hidroxila. Possuem múltiplos efeitos biológicos, como ação anti-inflamatória, antimicrobiana e hipolipidêmica, efeito mutagênico e anticarcinogênico, incluindo atividade antioxidante^(14, 15).

Dentre os diversos compostos polifenólicos, podem ser citados os três grupos principais: ácidos fenólicos, flavonoides e taninos. Os ácidos fenólicos consistem de dois subgrupos: os ácidos hidroxibenzoicos (incluindo ácido gálico e ácido vanílico) e hidroxicinâmicos (como ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido cumarínico). Os flavonoides incluem compostos como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (catequinas), isoflavonas, flavanonóis e antocianidinas⁽¹⁶⁾. Os taninos incluem os ésteres de ácido gálico, como galotaninos e elagitaninos e proantocianidinas⁽¹⁷⁾.

Os compostos fenólicos agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, quelantes de metais, mas também por causa de seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários constituintes do alimento, particularmente de ácidos graxos e de óleos⁽¹⁸⁾.

Assim, é importante aumentar a ingestão de antioxidantes na dieta e buscar fontes de antioxidantes naturais entre as plantas usadas como especiarias, alimentos ou medicinais.

A *Psidium guajava* L., conhecida como goiabeira, pertence à família *Myrtaceae*, que compre-

ende cerca de 130 gêneros e 3,6 mil espécies de arbustos e árvores distribuídos principalmente nos trópicos e subtropicais⁽¹⁹⁾. É uma das espécies mais estudadas desta família. Existem dois tipos mais comuns da fruta, a vermelha (*P. guajava* variedade *pomifera*) e a branca (*P. guajava* variedade *pyrifera*). Seus principais constituintes são taninos, flavonoides, óleos essenciais, álcoois sesquiterpenoides e ácidos triterpenoides⁽²⁰⁾. Alves *et al.* (2006) mencionaram a existência nas folhas de 9-10% de taninos, 90,3% de óleo essencial (cariofileno, nerolidiol, 1,8-cineol, p-selineno, a-pineno, b-bisaboleno, aromadendreno) e triterpenoides (ácido ursólico, oleanólico, catecólico, guavólcoico, maslínico)⁽²¹⁾. Nos extratos aquosos de folhas desta planta, foram isolados dois ácidos fenólicos, ácido gálico e ácido ferúlico, e no extrato acetônico foram identificados ácido gálico, ácido clorogênico, campferol, ácido ferúlico, ácido cefeico, quercetina e rutina⁽²²⁾. Dentre os componentes químicos da planta, já foram encontrados os seguintes: vitamina C, óleo essencial, carboidratos, taninos, flavonoides, esteroides e alcaloides⁽²³⁾. O chá das folhas é comumente usado no tratamento de diarreias, inflamações da boca e da garganta ou em lavagens locais de úlceras e na leucorreia⁽²⁴⁾. Investigações farmacológicas indicaram que suas raízes, a casca dos caules e suas folhas possuem atividade antidiarreica, antipirética, analgésica do estômago, antitussígena⁽²⁵⁾, hipoglicêmica, anti-inflamatória, anestésica e atividade depressora do sistema nervoso central⁽²³⁾. Recentemente, a capacidade antioxidante de quercetina glicosídica, principal constituinte da folha do extrato metanólico, tem atraído a atenção de pesquisadores para a aplicação destes produtos na área da farmacologia. Além disso, a atividade antioxidante dos compostos polifenóis tem sido estudada, indicando que a goiaba pode ser um tipo natural de antioxidante⁽²⁶⁾.

Ruta graveolens L., da família *Rutaceae*, conhecida como arruda, é uma planta nativa do sul da Europa e norte da África. Possui propriedade anti-inflamatória, antipirética, antiparasitária, anti-helmíntica, antinoceptiva⁽²⁷⁾, abortiva, antisséptica, antiespasmódica, carminativa, irritante e estomáquica⁽²⁸⁾. Segundo Atta & Alkofahi (1998), as principais utilizações da arruda consistem em aliviar as dores da gota e as dores reumáticas⁽²⁹⁾. As raízes e as partes aéreas são fontes de moléculas farmacologicamente ativas, como furanocumarinas, furanoquinolinas, óleos essenciais, flavonoides e alcaloides acridona⁽³⁰⁾. Seu estudo fitoquímico indicou, nas folhas, a presença de óleo essencial rico em metilcetonas; nas flores, foram encontradas, dentre os constituintes fixos, os glicosídeos flavônicos, enquanto,

nas folhas, constatou-se a presença de rutina, derivados cumarínicos (bergapteno, xantotoxina e psoraleno), saponina, heterosídeo antociânico, lignana e vários alcaloides⁽³¹⁾. Na planta, a furanocumarina exerce muitas propriedades fisiológicas, como a de proteger os tecidos contra luz UV, de insetos e de diferentes patógenos⁽³²⁾. Furanocumarinas também têm sido utilizadas por décadas para o tratamento de várias doenças da pele, tais como vitiligo e psoríase⁽³³⁾.

O objetivo deste trabalho foi avaliar quantitativamente os compostos fenólicos e o potencial antioxidante das folhas de arruda (*Ruta graveolens* L.) e de duas variedades de goiaba *Psidium guajava* L. conhecidas como goiaba branca (variedade *pyrifera*) e vermelha (variedade *pomifera*).

2. METODOLOGIA

2.1 Material vegetal

As folhas de duas variedades de goiaba foram provenientes de plantas localizadas no Município de Itaipulândia, Paraná, e as de arruda foram originadas do Horto Medicinal da Unipar em Cascavel, também no Estado do Paraná. Após a colheita manual, no período da manhã, as folhas foram deixadas à sombra em mesas forradas com papel *kraft* por 48 horas, depois transportadas para o Laboratório de Bioquímica da Unipar – Campus Cascavel e secadas na estufa a 40°C. Após a secagem, foram trituradas em liquidificador doméstico, peneiradas e armazenadas para o preparo de extratos. Um exemplar de exsicata encontra-se no Herbário da Unipar sob os registros HEUP-2310 (*Psidium guajava* var. *pyrifera*), HEUP-2311 (*Psidium guajava* var. *pomifera*) e HEUP-2285 (*Ruta graveolens* L.).

2.2 Preparo dos extratos

Foram preparados dois tipos de extratos: infusão com água destilada e com álcool etílico, utilizando-se 10g de folhas para 100mL de solvente. Após a filtração, foram evaporados em banho-maria a 60°C. Foram preparados os extratos nas seguintes concentrações: 1.000, 500, 250 e 125mg/mL.

2.3 Determinação de polifenóis totais

A determinação do teor de polifenóis totais presentes nas amostras dos extratos aquoso e etanólico das folhas de goiaba branca, vermelha e arruda foram realizadas utilizando-se o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, segundo Sousa *et al.* (2007), com modificações⁽³⁴⁾.

A 500mL de cada amostra adicionaram-se 2mL do reagente Folin-Ciocalteu (Merck) diluído 1/10, tendo o composto sido agitado e deixado em repouso por cinco minutos. Posteriormente, foram adicionados 2mL de Na₂CO₃ (carbonato de sódio) a 4%; após a agitação, a mistura foi deixada ao abrigo da luz por duas horas e realizada a leitura em espectrofotômetro a 740nm. O branco foi preparado com todos os reagentes, exceto a amostra. O teor de polifenóis totais foi determinado pela interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrão de ácido gálico (1.000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625 e 7,8125mg/mL) e expresso como miligramas de EAG (equivalente de ácido gálico) por grama de extrato. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), descrito por Brand-Williams, Cuvelier & Berset (1995) e Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2006) e modificado^(35, 36). Os extratos de plantas foram preparados nas concentrações de 1.000, 500, 250 e 125mg/mL em álcool. Em 100µL do extrato, foram adicionados 3,9mL de solução DPPH a 60µM (Aldrich Co.). O tubo branco consistiu de álcool metílico a 50% usado para calibração do aparelho. A solução controle foi preparada com 100µL de solução controle (40mL de álcool metílico a 50%, 40mL de acetona a 70% e 20mL de água destilada) com adição de 3,9mL de solução DPPH. Para comparação, foram utilizados os padrões positivos rutina (Sigma), ácido gálico (Sigma) e ácido ascórbico (Sigma), preparados nas mesmas concentrações das amostras. Os materiais foram guardados no escuro e realizaram-se as leituras em espectrofotômetro a 515nm no tempo zero e 30 minutos.

Os valores de absorbância em todas as concentrações e nos antioxidantes padrões foram anotados e convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (AA), determinada pela seguinte equação:

$$\%AA = \{[Abs_{controle} - Abs_{amostra}] \times 100\} / Abs_{controle}$$

onde Abs_{controle} é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH e Abs_{amostra} é a absorbância da mistura reacional (DPPH + amostra).

2.5 Análise estatística dos resultados

Os resultados apresentados correspondem à média de três repetições (n = 3) ± desvio padrão.

Os valores obtidos foram avaliados com o auxílio do programa Assistat, versão 7.5 beta (2008), empregando-se as seguintes metodologias estatísticas: análise de variância (Anova) no nível de 5% de significância estatística segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$). A análise da regressão linear foi realizada com Microsoft Office Excel 2007.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estão descritos na Tabela 1 os teores de compostos fenólicos presentes nas folhas de goiaba branca, goiaba vermelha e arruda. Os valores médios de polifenóis foram obtidos através da equação da curva de calibração do ácido gálico, que foi $C = 0,0108A + 0,1565$ e o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9993$, e expressos como equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato seco.

O teste de Tukey mostrou que há diferenças significativas nos valores de compostos fenólicos entre as folhas de goiaba vermelha, goiaba branca e arruda, sendo que as goiabas vermelhas possuem maiores quantidades que as brancas e estas, maiores que a arruda na maior parte das concentrações (1.000, 250 e 125 μg EAG/mL). Nessas mesmas concentrações, não havendo diferenças entre os extratos etanólicos e aquosos das duas variedades de goiaba, isto significa que os compostos fenólicos foram extraídos tanto com o etanol como com a água destilada. Na arruda, houve diferenças entre os dois extratos em todas as concentrações, demonstrando importância do solvente utilizado na extração de compostos fenólicos dessa planta. Observou-

se que, quanto maior a concentração do extrato, maior a quantidade de fenólicos totais presente. O maior teor de fenólicos totais foi registrado nas folhas do extrato etanólico de arruda e o menor, no extrato aquoso de arruda.

Comparando-se os resultados desse estudo com a literatura, valores similares foram obtidos por Chen, Lin & Hsieh (2007) no extrato aquoso de folhas de goiaba (154,36mg equivalente GAE/g), por Lim, Lim & Tee (2007) nos frutos da goiaba com semente (138,0mg/100g) e nos frutos da goiaba sem semente com 179,0mg/100g de fenólicos totais^(23, 1). Também Alothman, Bhat & Karim (2009) verificaram, nas frutas de goiaba no extrato aquoso, 153,0mg GAE/100g peso fresco e, no extrato etanólico, 185,0mg GAE/100g peso fresco⁽³⁷⁾. Luximon-Ramma, Bahorun & Crozier (2003) constataram, na fruta da goiaba-vermelha, 126,4mg EAG/100g peso seco e, na goiaba branca, 247,3mg EAG/100g peso seco, valores próximos aos encontrados neste estudo com as folhas de goiaba⁽³⁸⁾. Entretanto, valores mais altos (575,3mg GAE/g de peso seco) foram obtidos por Qian & Nihorimbere (2004) nas folhas de goiaba; já Vasco, Ruales & Kamal-Eldin (2008) obtiveram valores altos nos frutos (462,0mg GAE/100g de amostra)^(24, 39). Geralmente, nos frutos, a quantidade de compostos presentes é maior que nas folhas, devido, principalmente, à riqueza de ácido ascórbico. Também as variações podem ser decorrentes das diferenças nas variedades, no clima e no método de extração. Asolini *et al.* (2006) verificaram, no extrato aquoso de arruda, cerca de 43,0mg EAG/g de folha seca, obtendo valores menores que nos de erva-mate, alecrim e

Tabela 1: Compostos fenólicos totais (mg EAG/g) presentes em diferentes concentrações de extrato etanólico e aquoso de goiaba branca, goiaba vermelha e arruda*

Plantas	Concentração			
	1.000 μg EAG/g	500 μg EAG/mL	250 μg EAG/mL	125 μg EAG/mL
G. branca EtOH	163,91 \pm 0,71 ^{Ac}	161,72 \pm 0,04 ^{Cb}	159,36 \pm 0,40 ^{Cc}	158,49 \pm 0,44 ^{Cb}
G. branca Aq.	165,07 \pm 0,27 ^{Ac}	162,00 \pm 0,55 ^{Bc}	159,74 \pm 0,27 ^{Cc}	158,29 \pm 0,08 ^{Cb}
G. Vermelha EOH	175,10 \pm 1,06 ^{Ab}	166,98 \pm 0,55 ^{Bb}	162,42 \pm 0,20 ^{Cb}	160,61 \pm 0,99 ^{Da}
G. Vermelha Aq.	173,91 \pm 0,23 ^{Ab}	171,77 \pm 0,46 ^{Ba}	161,35 \pm 0,36 ^{Cb}	161,35 \pm 0,10 ^{Ca}
Arruda EtOH	179,26 \pm 1,06 ^{Aa}	171,28 \pm 1,04 ^{Ba}	165,91 \pm 0,92 ^{Ca}	161,64 \pm 0,52 ^{Da}
Arruda Aq.	159,85 \pm 0,09 ^{Ad}	158,37 \pm 0,11 ^{Bd}	157,59 \pm 0,15 ^{Bd}	157,18 \pm 0,09 ^{Bb}

*Dados são expressos como média \pm desvio padrão (n = 3).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas colunas, ou maiúsculas nas linhas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

G. = goiaba; EtOH = extrato etanólico; Aq. = extrato aquoso.

tanchagem, semelhantes aos de sálvia e maiores que os de macela, alcachofra, camomila, capim-limão e malva⁽⁴⁰⁾. No extrato etanólico, verificaram a presença de, aproximadamente, 48,0mg EAG/g de folha seca, sendo tais valores menores que os de tanchagem e erva-mate, semelhantes ao alecrim e maiores que os de macela, alcachofra, sálvia, camomila, capim-limão e malva.

Neste estudo, também foi verificada a habilidade de sequestrar radicais livres pelo método DPPH, que é um dos mais efetivos, confiáveis, simples e reprodutíveis métodos *in vitro* existentes.

Na Figura 1, estão apresentados os valores em porcentagem de atividade antioxidante (AA) dos seguintes padrões: ácido ascórbico, ácido gálico e rutina nas seguintes concentrações: 1.000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625 e 7,8125µg/mL. O ácido ascórbico apresentou em porcentagem 99,21 ± 0,72, 99,41 ± 0,00, 98,29 ± 0,09, 94,48 ± 0,61, 63,79 ± 1,24, 18,74 ± 3,78, 32,91 ± 6,24 e 42,74 ± 0,16, respectivamente. O ácido gálico apresentou os seguintes valores em AA%: 94,90 ± 1,49, 85,94 ± 6,15, 87,13 ± 0,43, 83,16 ± 0,78, 53,23 ± 1,35, 18,25 ± 1,65, 24,55 ± 9,10 e 25,23 ± 0,94, respectivamente. E, por fim, quanto à rutina a AA%, foram 85,55 ± 0,94, 84,78 ± 2,99, 82,58 ± 2,19, 72,95 ± 3,93, 55,97 ± 2,10, 52,38 ± 0,53, 51,27 ± 0,59 e 46,81 ± 1,61, respectivamente. Aplicando-se o teste de Tukey a 5% de significância, os três compostos apresentaram mais alta eficiência antioxidante nas concentrações de 1.000 a 125µg/mL e, no caso do ácido ascórbico, não houve diferença significativa nessas concentrações, alcançando valores superiores a 90%. Na concentração de 1.000µg/mL, o ácido ascórbico e

ácido gálico apresentaram AA% de 99,21% e 94,9%, respectivamente, enquanto a rutina obteve 85,55%. Para utilizar estes compostos como padrões positivos, é importante que as concentrações sejam maiores que 125µg/mL, porque, segundo Melo *et al.* (2008), aqueles que apresentam percentuais acima de 70% têm forte capacidade de sequestrar radicais livres⁽⁴¹⁾; os que se manifestam entre 50% e 70%, têm moderada atividade; e, abaixo de 50%, têm fraca capacidade de sequestro. A rutina apresentou moderada atividade nas concentrações de 62,5, 31,25 e 15,625µg/mL (55,97%, 52,38% e 51,27%) enquanto que o ácido ascórbico e ácido gálico apenas na concentração de 62,5µg/mL (63,79% e 53,23%, respectivamente). Abaixo dessas concentrações, apresentaram fraca capacidade de sequestro.

Na Tabela 2, estão apresentados os valores de atividade antioxidante (%) das folhas de goiaba vermelha no extrato aquoso (G.V. Aq.), goiaba vermelha no extrato etanólico (G.V. EtOH), goiaba branca no extrato aquoso (G.B. Aq.) e goiaba branca no extrato etanólico (G.B. EtOH).

As folhas de goiaba vermelha, tanto no extrato aquoso quanto no extrato etanólico, apresentaram forte atividade antioxidante nas concentrações de 250, 500 e 1.000µg/mL, enquanto que a goiaba branca apenas nas concentrações de 500 e 1.000µg/mL. Moderada atividade antioxidante ainda está presente a 125µg/mL no extrato aquoso de goiaba vermelha e goiaba branca. No extrato aquoso de goiaba vermelha, variaram de 68,57 a 89,86% de atividade antioxidante enquanto que, na goiaba branca, de 51,19 a

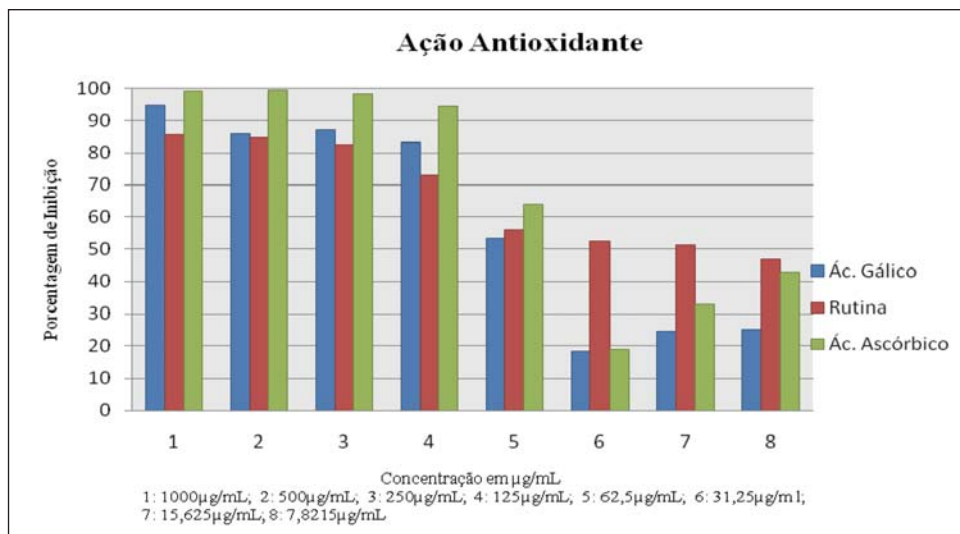


Figura 1: Atividade antioxidante (%) de ácido gálico, rutina e ácido ascórbico nas concentrações de 1.000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625 e 7,8215µg/mL

Tabela 2: Atividade antioxidante (%) dos extratos aquosos e etílicos de goiaba branca e vermelha*

Concentração	Plantas			
	G.V. Aq.	G.V. EtOH	G.B. Aq	G.B. EtOH
1.000µg/mL	88,23 ± 0,58 ^{Aa}	88,07 ± 1,33 ^{Aa}	92,86 ± 0,0 ^{Aa}	76,10 ± 3,93 ^{Ba}
500µg/mL	89,86 ± 0,24 ^{Aa}	89,47 ± 0,00 ^{Aa}	91,90 ± 0,42 ^{Aa}	80,50 ± 1,09 ^{Ba}
250 µg/mL	88,09 ± 2,19 ^{Aa}	71,93 ± 5,16 ^{Bb}	68,09 ± 0,83 ^{Bb}	54,23 ± 4,51 ^{Cb}
125 µg/mL	68,57 ± 2,48 ^{Ab}	38,59 ± 4,75 ^{Cc}	51,19 ± 1,62 ^{Bc}	34,07 ± 2,38 ^{Cc}

*Dados são expressos como média ± desvio padrão (n = 3) em porcentagem (%).

Médias seguidas de letras minúsculas iguais nas colunas ou maiúsculas nas linhas não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

92,86%, de acordo com a concentração. No extrato etanólico, a goiaba vermelha variou de 38,59 a 89,47% e a goiaba branca, de 34,07 a 80,50%. Os valores obtidos são similares aos encontrados na rotina. O teste de Tukey demonstrou que há diferenças entre o solvente aquoso e etanólico na goiaba branca em todas as concentrações, enquanto que, na goiaba vermelha, verifica-se nas concentrações menores. Segundo Mensor *et al.* (2001), os tipos de solventes e polaridade podem afetar a transferência do elétron e a transferência do átomo de hidrogênio⁽⁴²⁾. A presença de compostos não antioxidantes nas soluções testadas também pode afetar os resultados. As folhas de arruda não apresentaram atividade antioxidante nestas concentrações estudadas. Enquanto isso, Asolini *et al.* (2006) obtiveram cerca de 93% de atividade antioxidante em extrato aquoso, mas utilizaram método diferente, isto é, método de descoloração do b-caroteno em extrato aquoso⁽⁴⁰⁾.

Qian & Nihorimbere (2004) encontraram, nas folhas de *P. guajava*, atividade antioxidante expressa como porcentagem de inibição variando de 17,62 a 82,7% (24); Chen, Lin & Hsieh (2007), no extrato aquoso de folhas de goiaba, em Taiwan, na concentração de 100µg/mL 51,68% e na concentração de 500µg/mL, 57,42% de atividade⁽²³⁾. Alothman, Bhat & Karim (2009) verificaram 82,3% de inibição (pelo método DPPH) no extrato aquoso e 86,9% no extrato etanólico da fruta⁽³⁷⁾. Vasco, Ruales & Kamal-Eldin (2008) obtiveram, nos frutos da goiaba, 40% atividade antioxidante. Segundo os mesmos autores, essa quantidade significa teor intermediário, não tão alto como banana, porém mais altos que tomate,

manga e carambola⁽³⁹⁾. Isto sugere que provavelmente a concentração dos compostos fenólicos não determina a atividade antioxidante, mas sim a natureza dos compostos fenólicos, isto é, a estrutura química dos compostos presentes nos extratos.

4. CONCLUSÃO

As folhas de goiaba (vermelha e branca) são fontes importantes de compostos polifenólicos com atividade antioxidante. A alta atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico é atribuída ao poder sequestrante de radicais livres. Na arruda, mesmo apresentando quantidades apreciáveis de polifenóis, o composto deve ser utilizado com cuidado devido às suas ações fisiológicas. Assim, a atividade antioxidante de um extrato não pode ser explicada apenas com base em seu teor de fenólicos totais – a caracterização da estrutura do composto ativo também é necessária.

Há necessidade de mais estudos, pois a eficácia da ação antioxidante dos componentes bioativos depende de sua estrutura química e da concentração destes fitoquímicos nos vegetais. Por sua vez, o teor destes fitoquímicos é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições climáticas, solo e variedade (cultivares) analisada.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Unipar – Universidade Paranaense, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Lim YY, Lim TT, Tee JJ. Antioxidant properties of several tropical fruits: a comparative study. *Food Chem* 2007;103(3):1003-8.
2. Smith C, Marks AD, Lieberman M. Bioquímica médica básica de Marks. 2. ed. Porto Alegre: Artmed; 2007; p. 446-56.
3. Gioti E, Fiamegos YC, Skalkos DC, Stalikas CD. Antioxidant activity and bioactive component of the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. from Epirus, Greece. *Food Chem* 2009 Dec;117(3):398-404.
4. Su L, Yin J, Charles D, Zhou K, Moore J, Yu LL. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical-scavenging properties of Black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chem* 2007;100(3):990-7.
5. Jang HD, Chang KS, Huang YS, Hsu CL, Lee SH, Su MS. Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. *Food Chem* 2007;103(3):749-56.
6. Reynertson KA, Wallace AM, Adachi S, Gil RR, Yang H, Basile MJ, et al. Bioactive depsides and anthocyanins from jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*). *J Nat Prod*, 2006 Aug;69(8):1228-30.
7. Velloso JCR, Barbosa VF, Oliveira OMMF. Pesquisa de produtos naturais: plantas e radicais livres. REF, 2007;4(2):119-30.
8. Bouayed J, Piri K, Rammal H, Dicko A, Desor F, Younos C, et al. Comparative evaluation of the antioxidant potential of some Iranian medicinal plants. *Food Chem* 2007;104(1):364-8.
9. Ardestani A, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chem*, 2007;104(1):21-9.
10. Ferreira ALA, Matsubara LS. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Assoc Med Bras*, 1997 jan-mar; 43(1):61-8.
11. Tirapegui J. Nutrição: fundamentos e aspectos atuais. 2. ed. São Paulo: Atheneu; 2006; 181-197.
12. Magalhães LM, Segundo MA, Reis S, Lima JLFC, Rangel AO. Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in foods products. *J Agric Food Chem* 2006 Jul;54(15):5241-6
13. Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agric Food Chem* 1998;46(9):3630-4.
14. Kähkönen MP, Hopia AL, Vuorela HJ, Rauha HP, Pihlaja K, Kujala TS, et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem* 1999 Oct;47(10):3954-62.
15. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem*, 2007;105(3):940-9.
16. Reynertson KA, Yang H, Yiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible *Myrtaceae* fruits. *Food Chem*, 2008;109(4): 883-90.
17. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem*, 2007;99(1):191-203.
18. Soares M, Welter L, Kuskoski CM, Gonzaga L, Fett R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de casca de uvas Niágara e Isabel. *Rev Bras Frutic* 2008 mar;30(1):59-64.
19. Corrêa LC. Similaridade genética em acessos de goiabeiras e araçazeiros: análises químicas e bioquímicas dos frutos. Botucatu. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista – Unesp; 2010.
20. Iha SM, Migliato KF, Velloso, JCR, Sacramento LVS, Pietro RCLR, Isaac VLB, et al. Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética. *Rev Bras Farmacogn* 2008 jul-set;18(3):387-93.
21. Alves PM, Leite PHAS, Pereira JV, Pereira LF, Pereira MSV, Higino JS, et al. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. *Rev Bras Farmacogn* 2006 abr-jun;16(2):192-6.
22. Wu JW, Hsieh CL, Wang HY, Chen HY. Inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf extracts and its active compounds on the glycation process of protein. *Food Chem* 2009 Mar;113(1):78-84.
23. Chen HY, Lin YC, Hsieh CL. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some

REFERÊNCIAS

- selected nutraceutical herbs. Food Chem 2007;104(4):1418-24.
24. Qian H, Nihorimbere V. Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf. J Zhejiang Univ Sci 2004 Jun;5(6):676-83.
25. Shu J, Chou G, Wang Z. Two new benzophenone glycosides from the fruit of *Psidium guajava* L. Fitoterapia 2010 Sep;81(6):532-5.
26. Jiménez-Escrig A, Rincon M, Pulido R, Saura-Calixto F. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. J Agric Food Chem 2001 Nov; 49(11):5489-93.
27. Gutiérrez-Pajares JL, Zúñiga L, Pino J. *Ruta graveolens* aqueous extract retards mouse preimplantation embryo development. Reprod Toxicol, 2003 Nov-Dec;17(6):667-72.
28. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. Int J Food Microbiol 2003 Feb;80(3):223-30.
29. Atta AH, Alkofahi A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. J Ethnopharmacol 1998 Mar;60(2):117-24.
30. El-Sherbeny SE, Hussein MS, Khalil MY. Improving the production of *Ruta graveolens* L. plants cultivated under different compost level and various sowing distance. American-Eurasian J Agr & Environ Sci 2007 May/ Jun;2(3):271-81.
31. Sousa MP, Matos, MEO, Matos FJA, Machado MIL, Craveiro AA. Constituintes químicos de plantas medicinais brasileiras. Fortaleza: UFC; 1991; 416.
32. Zobel AM, Brown SA. Histochemical localization of furanocoumarins in *Ruta graveolens* shoots. Can J Bot 1989;67:915-21.
33. Lièvre K, Hehn A, Tran TLM, Gravot A, Thomasset B, Bourgaud F, et al. Genetic transformation of the medicinal plant *Ruta graveolens* L. by an *Agrobacterium tumefaciens*-mediated method. Plant Science, 2005 Apr;168(4):883-8.
34. Sousa CMM, Rocha e Silva H, Vieira Jr VM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quím Nova, 2007;30(2):351-5.
35. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LebensmWiss U Technol 1995; 28(1):25-30.
36. Perez-Jiménez J, Saura-Calixto F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. Food Res Int 2006 Aug;39(7):791-800.
37. Allothman M, Bhat R, Karim AA. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chem 2009 Aug;115(3):785-8.
38. Luximon-Ramma A, Bahorun T, Crozier A. Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. J. Sc. Food Agric 2003 Apr;83(5):496-502.
39. Vasco C, Ruales J, Kamal-Eldin A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food Chem 2008 Dec;111(4):816-23.
40. Asolini FC, Tedesco AM, Carpes ST, Ferraz C, Alencar SM. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. Braz J Food Technol 2006 jul./set.;9(3):209-15.
41. Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Nascimento RJ. Capacidade antioxidante de frutas. Rev Bras Ciên Farm 2008 abr./jun.;44(2):193-201.
42. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, dos Santos TC, Coube CS, et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Phytoter Res, 2001 Mar; 15(2):117-20.

Endereço para correspondência:

Kimiyo Shimomura Haida. Rua Rui Barbosa, n. 611 - Jardim Cristal - Telefone: (45) 3321-1300. E-mail: ksh@certto.com.br