



COMPARAÇÃO DA CONSTITUIÇÃO FITOQUÍMICA E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA GARRAFADA DE CAROBINHA EM DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO

Suele Bierhals Vencato¹

Diego Campelo²

Alexandre Barros Falcão Ferraz²

Resumo

A garrafada de carobinha é um produto artesanal produzido no mercado municipal de Teresina-PI e vem sendo utilizado por pacientes renais crônicos em tratamento de hemodiálise que procuram uma forma alternativa e complementar. Essa garrafada é composta por cinco plantas, *Caliandra fernandesii* (carobinha); *Costus spiralis* (cana-da-Índia); *Endopleura uchi* (uchi-amarelo); *Hymenea courbaril* (jatobá); e *Terminalia actinophylla* (chapada). Por ser utilizada por pacientes renais crônicos e não haver estudos quanto esta preparação, esse trabalho teve como objetivo comparar e analisar a constituição fitoquímica e atividade antioxidante da garrafada de carobinha em tempos diferentes de armazenamento. O extrato da garrafada de carobinha foi quantificado quanto aos teores de compostos fenólicos, flavonoides e taninos totais. A capacidade antioxidante foi determinada através do ensaio com o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). O teor de compostos fenólicos totais presentes no extrato das garrafadas de 1, 30 e 60 dias apresentou diferença estatística aumentando de 1 dia para 30 dias e diminuindo de 30 para 60 dias, assim como o teor de flavonoides totais, contudo, não houve diferença estatística para esta classe entre a garrafada de 1 dia e de 60 dias. A avaliação do potencial antioxidante com DPPH, mostrou que a amostra de 60 dias diminuiu estatisticamente em relação a amostra de 1 e 30 dias, acompanhando o mesmo padrão encontrado para o teor de taninos totais, que parece estar associada a diminuição estatística do potencial antioxidante.

Palavras-chave: pacientes renais crônicos; taninos; compostos fenólicos; radicais livres.

INTRODUÇÃO

A falência dos rins de forma progressiva e irreversível é denominada de doença renal crônica – (DRC), uma afecção multicausal, tratável de várias maneiras, controlável, porém sem cura e com elevada taxa de morbidade e mortalidade. Atualmente, as modalidades para o tratamento da DRC são a hemodiálise, diálise peritoneal ambulatorial contínua, diálise peritoneal automatizada e transplante renal, que permitem a manutenção da vida desses pacientes (FRAZÃO; RAMOS; LIRA, 2011).

A escolha do método de tratamento deve ser de forma individualizada, contemplando os aspectos clínicos, psíquicos e socioeconômicos do paciente. Entre as terapias de substituição da função renal, destaca-se a hemodiálise. O paciente renal crônico em hemodiálise convive constantemente com a negação e as consequências da evolução da doença, além de um tratamento doloroso e com as limitações e alterações que repercutem na sua própria qualidade de vida (CASTRO; CAIUBY; DRAIBE, 2003).

O número de pacientes renais crônicos em tratamento dialítico, no Brasil, vem crescendo nos últimos anos, sendo considerada a nova epidemia do século XXI. Assim, melhorar a qualidade de vida e a sobrevivência do paciente, bem como prevenir e diminuir as complicações da terapia de substituição da função renal têm preocupações constantes dos profissionais de saúde (FRAZÃO; RAMOS; LIRA, 2011).

A busca por produtos naturais como método terapêutico está presente de forma marcante na cultura popular. Muitos fatores têm contribuído para a utilização de plantas

¹Aluna do curso de Farmácia na Universidade Luterana do Brasil – Bolsista PIBIC/CNPq

² Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde

alexandre.ferraz@ulbra.br

medicinais, entre eles, o difícil acesso da população à assistência médica e farmacêutica, o custo dos medicamentos industrializados, bem como a influência exercida pelos meios de comunicação para consumo de produtos vindos de fontes naturais (VEIGA et al., 2005).

Com base no conhecimento empírico acumulado, desenvolvido através de uma dinâmica própria, as práticas médicas populares vão se adequando às realidades que o tempo histórico vai delineando; segundo, os diferentes contextos socioculturais, nos quais se inserem (CAMARGO, 2011). Isso permitiu que, mesmo com o desenvolvimento dos fármacos sintéticos, as plantas medicinais permanecessem como forma alternativa de tratamento em várias partes do mundo, observando-se nas últimas décadas a valorização do emprego de preparações à base de plantas para fins terapêuticos (TORULLA; NASCIMENTO, 2006).

Um exemplo empírico popularmente empregado é a garrafada de carobinha, sendo a mais vendida no mercado municipal da cidade de Teresina-PI, comumente utilizada por pacientes com problemas renais que realizam hemodiálise. (Feirante, comunicação pessoal). Essa garrafada é composta por uma mistura de cinco plantas: Carobinha (*Calliandra fernadesii*), Jatobá (*Hymenaea courbaril*), Uchi-amarelo (*Endopleura uchi*) Cana-da-Índia (*Costus spiralis*) e Chapada (*Terminalia actinophylla*). De acordo com a feirante, o prazo de validade da garrafada de carobinha é indeterminado e que quanto mais tempo passar armazenada, melhor será o efeito. Com isso, surge a preocupação com a estabilidade desta garrafada, pois, esta é constituída por cinco plantas distintas envolvendo inúmeros constituintes, os quais podem estar sendo degradados. Por ser popularmente utilizada por pacientes renais crônicos e não haver estudos quanto a esta preparação, o trabalho teve como objetivo comparar e analisar a constituição fitoquímica e atividade antioxidante da garrafada de carobinha em tempos diferentes de armazenamento.

METODOLOGIA

Material vegetal: A garrafada de carobinha foi preparada a partir do jatobá (*Hymenaea courbaril*); uchi-amarelo (*Endopleura uchi*); cana-da-Índia (*Costus spiralis*), chapada (*Terminalia actinophylla*) e carobinha (*Calliandra fernandesii*). Todas as espécies foram obtidas no Estado do Piauí e suas partes aéreas foram coletadas para confecção das exsiccatas e posterior registros botânico no herbário da Universidade Federal do Piauí – UFPI.

Preparação das amostras: Foram preparadas 03 amostras da garrafada de carobinha, após a pesagem das cascas (chapada, jatobá, uchi-amarelo e carobinha), preparo da infusão com as folhas (cana-da-Índia) e acréscimo do vinho usado na composição até o volume conforme a quantidade dos ingredientes usados na preparação artesanal informado pela Sra. Josefa de Sousa Marques (Proprietária da banca de ervas medicinais). As garrafadas foram filtradas e concentradas até *secura* em evaporador rotatório com temperatura inferior a 50°C. para verificar a estabilidade as amostras foram mantidas em estufa a temperatura constante de 40 ± 2° C, conforme indicado por RE nº1, de 29 de julho de 2005. Cada garrafada foi processada nos períodos de 1, 30 e 60 dias e analisadas quanto a sua constituição fitoquímica e seu potencial antioxidante.

Determinação de compostos fenólicos: Uma curva de calibração foi preparada com 1 mL das soluções de ácido gálico em etanol nas concentrações de 0,015 a 0,105 mg/mL misturadas com reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de sódio (SINGLETON; ROSSI, 1965). Após 1h as amostras foram lidas na absorbância em 765 nm. (MILIAUSKAS et al., 2004). Os testes foram realizados em triplicada e o valor total de compostos fenolicos é expresso em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama de extrato.

Determinação de taninos totais: Para a quantificação de taninos totais foi utilizado o método por precipitação da caseína de acordo com o método Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965; MILIAUSKAS et al., 2004). A quantidade de taninos totais corresponde à diferença entre o valor obtido nesse teste e o obtido no doseamento de fenólicos totais expressos em EAG/g de extrato.

Determinação de flavonoides totais: A quantificação de flavonoides foi realizada seguindo a metodologia descrita por Woisky e Salatino (1998) que utiliza a solução de cloreto de alumínio a 2,5% como agente cromogênico. A técnica baseia-se na formação de complexos estáveis entre o cátion alumínio e os flavonoides presentes na amostra. O teor de flavonoides será calculado através da equação da reta obtida na curva de calibração de quercetina. A curva será construída da mesma maneira que as amostras testadas, nas concentrações de 0,002 até 0,008 mg/mL. O valor obtido através da substituição da absorvância do teste na curva será convertido para expressar o resultado em flavonoides equivalentes de quercetina por grama de extrato liofilizado.

Avaliação da capacidade antioxidante por DPPH: O extrato bruto foi pesado e diluído em metanol para a obtenção das concentrações 50 a 400 µg/mL. Após, 2,5 mL da amostra foi transferida para a cubeta de 3,5 mL e adicionado 1 mL da solução de DPPH na concentração de 0,2 mg/mL. O controle negativo, consiste na amostra sem o DPPH, e o controle positivo, consiste em 1 mL de DPPH diluído em 2,5 mL de metanol. O padrão, utilizado é a quercetina. Após 30 minutos, será medido a absorvância em espectrofotômetro no comprimento de ondas de 518 nm (Mensor et al., 2001). Todos os testes serão feitos em triplicata e a porcentagem de inibição de DPPH, que diz respeito à atividade antioxidante, foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ de Inibição de DPPH} = [(Ab_{\text{controle}(+)} - Ab_{\text{amostra}}) \times 100] / Ab_{\text{controle}(+)}$$

RESULTADOS ALCANÇADOS E DISCUSSÃO:

De acordo com os resultados encontrados nos doseamentos (Tabela 01), nota-se que os teores de flavonoides e compostos fenólicos totais, sofreram redução significativa entre o intervalo de 30 e 60 dias de exposição à temperatura.

Tabela 01 – Resultado dos doseamentos para compostos fenólicos, flavonoides, taninos totais e DPPH das garrafadas de 1, 30 e 60 dias

	Garrafada 1 dia	Garrafada 30 dias	Garrafada 60 dias
Flavonoides totais	3,29 ± 0,08	3,92 ± 0,02 ^a	3,77 ± 0,02 ^{b,c}
Fenólicos totais	296,59 ± 3,68	337,31 ± 2,93 ^a	289,91 ± 2,10 ^c
Taninos totais	112,15 ± 8,22	109,72 ± 5,01	83,58 ± 4,82 ^{b,c}
DPPH	49,48 ± 1,39	46,78 ± 3,03	55,95 ± 0,99 ^{b,c}

Valores apresentados como média e desvio padrão; apresentando significância estatística para Test *t* (*student*), com diferença estatística de $p < 0,05$ para todas as análises, representados pela letra (a) a diferença entre as garrafadas de 1 e 30 dias; (b) a diferença entre as garrafadas de 1 e 60 dias e (c) a diferença entre as garrafadas de 30 e 60 dias.

Os estudos de Moure et al (2001) e Andreo & Jorge (2006), relataram que a estabilidade dos compostos fenólicos, durante a desidratação e extração, são afetados por degradações químicas e enzimáticas e pela volatilização dos compostos, mas a decomposição térmica tem sido apontada como a maior causadora da redução do conteúdo de compostos fenólicos. Na decomposição térmica, os compostos fenólicos podem reagir com outros componentes e impedir sua extração. Dessa forma, evidencia-se a influência da temperatura

na redução destes compostos, a qual também foi encontrada por Conde et al (2001), onde observaram que a temperatura durante a extração pode afetar os compostos bioativos de diferentes maneiras. Na amostra de 60 dias todos os compostos fenólicos apresentaram uma diminuição estatística em seus teores em relação a amostra de 30 dias (Tabela 01). Este fato pode estar associado a exposição das garrafadas à temperatura de $42^{\circ}\text{C} \pm 2$ utilizada no teste de estabilidade conforme indicado por RE nº1, de 29 de julho de 2005 e adotado como metodologia nesta pesquisa.

Para o teor de taninos totais, Dias et al (2012) encontraram resultados semelhantes quando determinou que os teores de taninos totais nas folhas de hortelã reduziram em torno de 50% devido a degradação térmica (50°C , 60°C e 70°C) destes compostos. O teor de taninos totais da garrafada de 1 dia para a de 60 dias reduziu 25,47% e 23,82% entre a garrafada de 30 dias e a de 60 dias. A degradação térmica de taninos também foi citada em estudos realizados por Rakic et. al (2004) que afirmam que o teor de taninos no carvalho nativo era de 11,69%, enquanto que no tratado termicamente a 60°C por 10 dias teve uma diminuição de 3,14%.

Dias et al., 2012, no estudo com as folhas da hortelã descreveram que a secagem melhorou o processo de extração de taninos, devido à concentração durante a eliminação de água, apesar de perdas em relação à quantidade total. No entanto, temperaturas acima de 70°C resultaram na diminuição do teor de taninos. Sobre o processo de degradação de taninos totais, verificou-se a diminuição estatística deste composto na amostra de 60 dias.

Ao avaliar o potencial antioxidante nas amostras, foi observado que houve uma redução da atividade antioxidante das amostras de 1 e 30 dias para a amostra de 60 dias. Neste caso, a redução do efeito antioxidante evidenciado, pode estar associado à diminuição da concentração de todos os compostos fenólicos neste mesmo período. Pois, Lamdim et al (2013), afirmam que a atividade antioxidante não depende, somente, da quantidade, mas também do tipo de compostos bioativos (compostos fenólicos, flavonoides e taninos) redutores de radicais livres presentes na amostra. Tendo em vista, que a atividade antioxidante não é produto de um ou outro composto isolado e sim da interação entre os mesmos, resultando na atividade antioxidante total. Contudo, a redução do potencial antioxidante na garrafada de 60 dias pode estar associada a degradação dos taninos totais.

Relatos da atividade antioxidante das plantas que compõem a garrafada também são encontrados na literatura, Bezerra et al. (2013) observou em diferentes frações realizadas com as cascas de *H. courbaril* valores de IC_{50} de 5 à 35 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Também Neves et al. (1993), em seu trabalho destaca uma forte atividade antioxidante para uma planta do mesmo gênero *H. martiana*. Silva e Teixeira (2015) em estudo realizado com cascas de uchi-amarelo (*Endopleura uchi*) determinaram o potencial antioxidante por DPPH do extrato hidroalcolico ($\text{IC}_{50}= 33 \mu\text{g}/\text{ml}$). Além disso, recentemente, foi descrito por Abreu et al. (2008) o isolamento de bergenina a partir das cascas de *Endopleura uchi*, e que segundo Takahashi et al. (2003) esta apresenta alta atividade antioxidante. Para Surveswaran et al. (2007), plantas do gênero *Terminalia* possuem o ácido gálico, uma molécula com reconhecido potencial antioxidante (ROIDONG et al 2016).

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Com o estudo realizado observou-se que o teor de compostos fenólicos totais presentes no extrato das garrafadas de 1, 30 e 60 dias apresentou diferença estatística aumentando de 1 dia para 30 dias e diminuindo de 30 para 60 dias, assim como o teor de flavonoides totais. O teor de taninos totais apresentou uma diminuição estatística somente quando comparamos as amostras de 1 e 30 dias com a de 60 dias.

A avaliação do potencial antioxidante frente ao radical livre DPPH, mostrou que a amostra de 60 dias diminuiu estatisticamente sua capacidade antioxidante em relação a amostra de 1 e 30 dias, que provavelmente está associado a diminuição dos teores de

compostos fenólicos e taninos totais presentes nas amostras. Contudo, observou-se uma degradação destes compostos no tempo de armazenamento, influenciando a diminuição da atividade antioxidante da amostra de 60 dias. Dessa forma, evidencia-se que o tempo de armazenamento influencia a atividade destes compostos presente na garrafada de carobinha.

REFERÊNCIAS

- ABREU, H.A.; LAGO, I.A.S.; SOUZA, G.P.; PILO-VELOSO, D.; DUARTE, H.A.; FLÁVIO A. Antioxidant activity of (+)-bergenin: a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* Huber (Humireaceae). **Organic & Biomolecular Chemistry**. vol. 6: p. 2713-2718, 2008.
- ANDREO, D; JORGE, N. Antioxidante Naturais: Técnicas de extração. Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos – B CEPPA, Curitiba, v. 24, p. 319-336. 2006.
- CAMARGO, MTLA. A garrafada na medicina popular: uma revisão historiográfica. **Dominguezia** - v. 27, p.41-49, 2011.
- BEZERRA G. P; GÓIS R.W.S; BRITO T. S; LIMA F.J.B; BANDEIRA M.M; ROMERO N.R; MAGALHÃES P.J.C; SANTIAGO G.M.P. Phytochemical study guided by the myorelaxant activity of the crude extract, fractions and constituent from stem bark of *Hymenaea courbaril* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 149 pg.62-69, 2013.
- CASTRO M, CAIUBY A.V.S., DRAIBE S.A., CEF. Qualidade de vida de pacientes com insuficiência renal crônica em hemodiálise avaliada através do instrumento genérico SF- 36. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v. 49, p. 245-249, 2003.
- DIAS R.A.L.; SOUZA, P.S.; ALSINA, O.L.S.. Efeito da temperatura de secagem sobre o rendimento na extração de taninos totais e óleos essenciais da hortelã (*Mentha vilosa* Hudson) **Revista Brasileira de Farmacologia** v. 93, p. 431-438, 2012 .
- FRAZÃO, C.M.F.Q.; RAMOS,V.P.; LIRA, A.L.B.C. Qualidade de vida de pacientes submetidos a hemodiálise. **Revista de Enfermagem. UERJ**, Rio de Janeiro, v. 19, p. 577-582, 2011.
- HELBIG, E. Ação da maceração prévia ao cozimento do feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*, L) nos teores de fitatos e taninos e consequências sobre o valor protéico. Campinas, 67f. Dissertação. (Mestrado), 2000.
- LAMDIM, A.S.R.L.; CUNHA, E.M.F.; ARAUJO, M.A.M.; SILVA, K.J.D.; ROCHA, M.M.; ARAUJO, R.S.R.M.. Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas, taninos e atividade antioxidante de três cultivares de feijão-caupi. III Congresso Nacional de Feijão Caupi - CONAC, Recife, 2013.
- MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S., DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, p.127-130; 2001.
- MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; van Beek, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**, v. 85, p. 231-237, 2004.
- MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D; DOMINGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; DOMINGUEZ, H; NÚÑEZ, M.J.; PARAJÓ, J.C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 145-171, 2001.
- RAKIC, A; MALETIC, R; PERUNOVIC, M; SVRZIC, G. Influence of thermal treatment on tannin content and antioxidant effect of oak accord *Quercus cerris* extract. **Journal of Agricultural Sciences**. v. 49, p.97-107, 2004.
- SILVA, L.M.; SILVA, L.C.D.; MARÇAL, M.A.; FONSECA, R.M.; NASCIMENTO, I.A.; CLAUDINO, G.P. Avaliação da atividade citotóxica e antioxidante das espécies: *Costus spiralis* Rosc. e *Citrus limonum*. 51º Congresso Brasileiro de Química: Meio Ambiente e Energia. São Luís-MA, 2011.
- SILVA, L.R.; TEXERA, S. Phenolic profile and biological potential of *Endopleura uchi* extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. v. 15, p. 1-9; 2015.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI Jr, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144–158, 1965.
- SURVESWARAN, S; CAI, Y; CORKE, H; SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry**, v. 102, n. 3, p. 938-953, 2007.
- TAKAHASHI, H; KOSAKA, M; WATANABE, Y; NAKADE, K; FUKUYAMA, Y. Synthesis and neuroprotective activity of bergenin derivatives with antioxidant activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1781-1788, 2003.
- VEIGA, J.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, v. 28, p. 519-528, 2005.
- WOISKY R., SALATINO A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37 p. 99-105, 1998.