

Perfil físico-químico e atividade antioxidante do cálice da espécie *Hibiscus sabdariffa* L. a partir do extrato aquoso e alcoólico obtidos por infusão e decocto

Physical-chemical profile and antioxidant activity of the calyx of the species *Hibiscus sabdariffa* L. from the aqueous and alcoholic extract obtained by infusion and decoction

¹SOBOTA, Jociane de Fátima; ¹PINHO, Marcela G.; ¹OLIVEIRA, Vinícius B.*

¹Centro Universitário Campos de Andrade.

*Correspondência: vinicius.bednarczuk@hotmail.com

Resumo

O chá vem sendo uma das bebidas mais consumidas por grande parte da população mundial, sendo alvo de diversas pesquisas por suas propriedades terapêuticas. Comercializada pelo nome popular de Hibisco, a droga vegetal *Hibiscus sabdariffa* L. é uma espécie que tem sido atrativo de diversos pesquisadores em varias áreas. Atualmente, é utilizada como alimento humano, aromatizante, para artesanato e ornamentação. Além disso, por ter em sua composição substâncias com ação antioxidante, sua utilização na área da saúde vem sendo explorada. O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil físico-químico do chá de *H. sabdariffa* L., os teores de polifenóis e flavonoides, e a atividade antioxidante da espécie *H. sabdariffa* L. a partir do extrato aquoso e alcoólico obtidos por infusão ou decoção. Os resultados demonstram que os parâmetros físicos de qualidade encontram-se dentro dos estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. Diante das amostras analisadas foi possível verificar que todos os extratos apresentaram teor de flavonoides e polifenóis. Entretanto, houve diferenças entre os solventes utilizados, o que já era esperado pela diferença de polaridade entre ambos. Conclui-se que o melhor método de extração, por obter a melhor atividade antioxidante e maiores concentrações de polifenóis e flavonoides, é o extrato obtido por decoção.

Palavras-chave: *Hibiscus sabdariffa* L. Chás medicinais. Controle de qualidade. Antioxidante.

Abstract

Tea has been one of the most consumed beverages for much of the world's population, the target of several studies for its therapeutic properties. Marketed by the popular name of hibiscus plant drug *Hibiscus sabdariffa* L. is a species that has been attractive to many researchers in various areas. Currently, it is used as food, flavoring, Craft and ornamentation. In addition, having in its composition substances with antioxidant activity, their use in health has been explored. The objective of this study was to determine the physical and chemical profile of *H. sabdariffa* L. tea, the levels of polyphenols and flavonoids, and antioxidant activity of the species *H. sabdariffa* L. from the aqueous and alcoholic extract obtained by infusion or decoction. The results demonstrate that the physical quality parameters are within established by the Brazilian Pharmacopoeia. In the face of the samples was verified that all extracts showed flavonoid and polyphenol content. However, there were differences between the solvents used, which was expected by the difference in polarity between them. It is concluded that the best method of extraction to obtain the best antioxidant activity and higher concentrations of polyphenols and flavonoids is the extract from the decoction.

Keywords: *Hibiscus sabdariffa* L. Medicinal teas. Quality control. Antioxidant.

Introdução

Com relatos que datam o século 1500 A.C. na China, sobre o uso da espécie *Camellia sinensis* na forma de chá, as infusões e decocções são considerados uma das bebidas mais antigas e mais consumidas no mundo (MORAIS, et al., 2009). O crescimento expansivo atualmente deve-se a diversos estudos que vêm sendo realizados sobre a capacidade antioxidante e seus efeitos benéficos a saúde (ABREU, 2013).

As espécies vegetais vêm sendo alvo de diversas pesquisas na área química e farmacológica, pois os vegetais produzem uma grande variabilidade de metabólitos secundários, que podem vir a ser benéficos ou maléficos para o organismo humano (ZUCHETTO, 2014).

De acordo com Bara e colaboradores (2006), para que a qualidade do chá seja avaliada positivamente, é fundamental saber a procedência do material vegetal, quantificar a matéria seca do produto, o teor

de substâncias ativas, realizar a determinação do teor de umidade, determinação de cinzas, pesquisa de material estranho orgânico e inorgânico. A perda de qualidade de um vegetal está diretamente ligada ao mau processamento da matéria prima, desencadeando a proliferação de microrganismos, contaminação por fungos, a perda dos princípios ativos, causando danos à saúde do consumidor (GOMES, ELPO e NEGRELLE, 2007).

Conhecido popularmente como hibisco, hibiscus, rosela, groselha, azedinha, a espécie *Hibiscus sabdariffa* L. é uma importante planta pertence à classe das Dicotiledôneas, família das Malváceas e gênero *Hibiscus* (EMBRAPA, 2010). Originária da Índia, do Sudão e da Malásia, sendo posteriormente levado para a África, Sudeste da Ásia e América central. No Brasil, foi trazida pelos africanos, através do tráfico de escravos (MACIEL et al., 2012). O hibisco é uma planta herbácea anual de clima seco, comum em região montanhosa subtropical, podendo chegar até 1,5m de altura, de caule arroxeadado, folhas alternas verde-arroxeadas,

flores solitárias, amarelas, axilares, que duram um dia, produz frutos vermelhos do tipo cápsula (SÁYAGO et al., 2007).

As partes mais usadas normalmente são as folhas e os cálices, estes caracterizadas por uma coloração avermelhada e um sabor ácido adstringente, atraindo a atenção das indústrias de alimentos e farmacêuticas (EMBRAPA, 2010). Experimentos com o extrato aquoso dos cálices são numerosos, e revelam-se eficazes como medicamento principalmente contra distúrbios de hipertensão, diurético, para tratamento de desordem gastrointestinal e infecções hepáticas (VIZZOTTO e PEREIRA, 2008). Entretanto, o consumo em altas doses pode elevar a atividade de algumas enzimas no plasma (MACIEL et al., 2012).

A sua composição apresenta polifenóis, flavonoides, antocianinas e também é rico em vitamina C (NUNES, THOMAS e LIMA, 2014). Estudos mostram benefícios às pessoas que consomem o *H. sabdariffa* L. em sua rotina, pelo alto teor de substâncias com caráter antioxidante encontrado na sua composição (LIN et al., 2007).

O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos, presentes na maioria das plantas, inibe a formação de radicais livres, e tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo, este podendo intensificar o risco para o desenvolvimento de várias doenças (FIRMINO, 2011; OLIVEIRA, et al., 2015). A ação antioxidante dos componentes ativos depende da estrutura química e da concentração dos fitos constituintes, uma vez que são influenciados por fatores genéticos, adubação e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta (RAMOS, et al., 2011).

O uso de *H. sabdariffa* L. na forma de chá tem como finalidade terapêutica, ação diurética, laxante, no

controle da hipertensão e no combate ao estresse, pela grande quantidade de compostos antioxidantes que a planta apresenta (MONROY-ORTIZ e CASTILLO-ESPANA, 2007).

O chá do cálice de hibisco é muito consumido pela população em geral por possuir propriedades terapêuticas. Seus efeitos fisiológicos comprovados, pelos constituintes químicos presentes na espécie vegetal, são benéficos à saúde, se tornando no modelo de saúde atual uma alternativa terapêutica natural. Nesse sentido, em função da necessidade de parâmetros que auxiliem no controle de qualidade de drogas vegetais, objetivou-se estudar o perfil físico-químico e a atividade antioxidante da espécie vegetal *H. sabdariffa* L..

Materiais e Métodos

Material vegetal

Foram utilizados cálices da espécie *H. sabdariffa* L. do fabricante Chamel® situado na cidade de Campo Largo – PR, esta marca é encontrada em diversas farmácias e estabelecimentos de produtos naturais na região de Curitiba – PR. Os lotes utilizados foram 0690, 0742 e 0758. Todas as matérias primas utilizadas vem embaladas em saco plástico, com descrição da forma de preparo, nome da espécie, lote e data de validade. Foi realizada uma pesquisa de campo em 100 farmácias localizadas na região de Curitiba com o objetivo de verificar qual a marca mais comercializada na região, diante dos dados coletados foi verificado que 95% trabalham com a marca do fabricante mencionado neste trabalho de pesquisa realizado.

Análise física do material vegetal

Para análise física do material vegetal foram realizados ensaios com análise macroscópica, teor de umidade e teor de cinzas totais, tendo como

finalidade verificar a pureza e a qualidade do vegetal. Todos os ensaios foram realizados de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).

OBTENÇÃO DOS EXTRATOS LÍQUIDOS

Extração por decocção

Para obtenção dos extratos por decocção aquosa e etanólica (96° GL) foram pesados 5g da droga vegetal, colocado em um béquer com 200mL do respectivo solvente extrator, e levado em banho-maria por 15 minutos em ebulição. Após o resfriamento o extrato foi filtrado para retirar os resíduos vegetais. Todos os extratos foram feitos em triplicata para cada solvente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Extração por infusão

Para obtenção dos extratos por infusão aquosa e etanólica (96° GL), foram pesados 5g da droga vegetal e colocado em um béquer, onde foram acrescentados 200mL do respectivo solvente extrator a 80°C, deixando descansar por 15 minutos tampados. Após o descanso o líquido resultante foi coado. O procedimento foi feito em triplicata para cada solvente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

ANÁLISE DOS EXTRATOS VEGETAIS

Rendimento do extrato

Utilizando béqueres de massa conhecida, foi determinado o teor de sólidos a partir dos extratos. Foram levadas à secura total em estufa a 60°C, resultando no teor de sólidos totais em 200mL do solvente extrator ($g \cdot 200 mL^{-1}$), igualado a massa dos extratos secos nos béqueres pela diferença dos béqueres vazios, de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).

Análise de pH

Com um aparelho de determinação de pH, marca Noxtron e modelo Nox-68, foram aferidos os extratos, feitos em triplicata, até geração da leitura pelo equipamento, este converte o valor de potencial do eletrodo em unidades de pH diretamente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Análise fitoquímica por CCD

Para análise fitoquímica por cromatografia por camada delgada (CCD) foi utilizado cromatoplasca de sílica gel da marca Merck®. Para o processo de eluição, os constituintes químicos do extrato foram utilizadas as metodologias já conhecidas para cada grupo. Foi analisada a presença de alcaloides utilizando Reativo de Dragendorf (OLIVEIRA et al., 2014), cumarinas com NaOH 0,1mol (AMARAL et al., 2009), esteroides e triterpenos com Vanilina Fosfórica (CARVALHO, 2001), flavonoides com NEU (FERNANDES et al., 2015) e taninos com FeCl₃ (SOUZA et al., 2014).

Perfil dos extratos vegetais por CLAE-DAD

Os extratos brutos foram diluídos em metanol a uma concentração de 20 mg.mL⁻¹ e submetidos à análise por HPLC Merck Hitachi – Elite Lachrom, com detector diodo (DAD) em 282nm e 326nm, coluna XTerra® RP18 5 µm, 4,6x250 mm, volume de injeção de 20 µL, fluxo 1 mL min⁻¹. Como fase móvel foi utilizada gradiente de concentração o sistema H₂O: H₃PO₄ a 0,1% (A) e MeOH (B) na seguinte programação: 1-45 minutos, iniciando com 10% de fase B e finalizando em 45 minutos com 100% de fase B. O MeOH utilizado foi grau HPLC (TEDIA) e a água MilliQ.

Doseamento de polifenóis totais

Para determinação do teor de fenólicos totais, os extratos brutos foram diluídos em metanol (1000

$\mu\text{g.mL}^{-1}$), e adicionados 0,2 mL das amostras em tubo de ensaio e este completado para 3,2 mL com água destilada, após total solubilização foi adicionado 0,2 mL de reativo de Folin-Ciocalteu novamente homogeneizado e adicionado 0,4 mL de carbonato de sódio a 10%, agitado e depois 30 minutos de repouso em temperatura ambiente (SLINKARD e SINGLETON, 1977). Após este período foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 760 nm utilizando curva de calibração de ácido gálico nas concentrações de 2,5 a 20 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ com 8 pontos de concentração como padrão. Os teores de fenólicos totais foram determinados em miliequivalente de ácido gálico (mEqG) por grama de extrato bruto, utilizando a seguinte equação com base na curva de calibração: $y = 0,0392 x - 0,0583$, $R^2=0,9964$.

Doseamento de flavonoides totais

Os extratos brutos diluídos em metanol (1000,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) foram adicionados a 2,0 ml de AlCl_3 2%, e o volume da amostra foi completado para 2,0 mL. Após 60 minutos, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 420 nm utilizando curva de calibração de quercetina nas concentrações de 5 a 30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ com 6 pontos de concentração como padrão. As leituras foram realizadas em triplicata (CHANG et al., 2002). Os teores de flavonoides totais foram determinados em miliequivalente de quercetina (mEqQ) por grama de extrato bruto, utilizando a seguinte equação com base na curva de calibração: $y = 0,0314 x - 0,0164$, $R^2=0,9996$.

Avaliação da atividade antioxidante pela redução do radical DPPH

O potencial de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) dos extratos foi analisado espectrofotometricamente a 518 nm (MENSOR et al., 2001). Foram preparadas soluções metanólicas de cada extrato bruto nas concentrações de 5,0 a 65,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e para o padrão vitamina C de 2 a 8 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

1. Destas soluções, 2,5 mL foram adicionados a 1,0 mL de uma solução metanólica de DPPH na concentração de 0,03 mmol.mL^{-1} . Como controle negativo foi utilizado 2,5 mL de metanol e 1,00 mL da solução de DPPH. Após 30 minutos de incubação à temperatura ambiente, protegido da luz, a redução do radical livre DPPH foi mensurada. A determinação da IC50 (Concentração Inibitória de 50%) foi obtida por regressão linear dos pontos plotados graficamente e através da equação da reta obtido os valores de IC50.

Análise estatística

Todas as amostras foram analisadas em triplicata e os resultados expressos em média \pm desvio padrão (DP). Os cálculos foram realizados no software Microsoft Office Excel 2010.

Resultados e Discussão

Através da análise macroscópica foi avaliado que a droga em estudo é isenta de fungos, de insetos e de outras contaminações de origem animal, não sendo observado nenhum tipo de material estranho. Então, podendo ser classificada livre de impurezas de natureza minerais ou orgânicas.

A partir das metodologias farmacopeicas descritas, os valores obtidos como parâmetros físicos para a amostra dos cálices de *H. sabdariffa L* seguem demonstrados na **TABELA 1**.

TABELA 1. Parâmetros Físicos da espécie vegetal *Hibiscus sabdariffa L*.

Parâmetros de Qualidade	Resultados obtidos \pm DP
Umidade (%)	12,90 \pm 0,25
Cinzas (%)	9,27 \pm 0,74
Densidade (g.mL^{-1})	0,15 \pm 0,01

A Considerável perda nos níveis dos bioativos e da capacidade antioxidante dos alimentos, podem ocorrer por causa de longos períodos de armazenamento (NUNES, THOMAS e LIMA, 2014). Adicionalmente, a degradação de compostos por secagem excessiva ou ineficiente, que faz com que o material permaneça úmido, são outros fatores que podem influenciar na obtenção de compostos bioativos e antioxidantes (SIMÕES et al, 1999). A finalidade da secagem é impedir reações de hidrólise e contaminação microbiana, além de reduzir volume e peso facilitando a moagem do material (SIMÕES et al, 2007). A perda por dessecação do cálice de *H. sabdariffa* L. (**TABELA 1**) apresentou um teor de umidade de 12,90% ± 0,25%, sendo o resultado adequado para drogas vegetais de acordo com a Farmacopeia Brasileira, que estipula valores abaixo de 14%.

A determinação de teor de cinzas totais permite a verificação de impurezas inorgânicas não voláteis na droga vegetal como metais pesados, sendo importante esta determinação para o controle de qualidade da droga vegetal (BRASIL, 2010). Os valores encontrados na **TABELA 1** de 9,27% ± 0,74 encontram-se dentro dos limites preconizados pela Farmacopeia Brasileira.

Mais comumente os chás são preparados pelos métodos de decocto e infusão utilizando o material vegetal dessecado. Os rendimentos obtidos dos preparos dos chás com o respectivo pH podem ser observados na **TABELA 2**.

TABELA 2. Avaliação dos Extratos do *Hibiscus sabdariffa* L.

Extrato	Rendimento (g.200mL ⁻¹) ± DP	pH
Infusão Alcoólica	0,95 ± 0,11	2,46
Infusão Aquosa	2,51 ± 0,16	2,0
Decocto Alcoólico	0,78 ± 0,05	2,6
Decocto Aquoso	2,31 ± 0,14	1,8

Afim de parâmetros de comparação, observamos na **TABELA 2** que os extratos aquosos tiveram rendimentos maiores e resultaram na presença de aproximadamente 1g de matéria insolúvel em solvente orgânico, este foi considerado como sendo a pectina, por apresentar alta solubilidade em água e ser insolúvel em solventes orgânicos, esta a razão entre a diferença no rendimento dos extratos aquosos e alcoólicos. De acordo com Souza e colaboradores (2014) o *H. sabdariffa* L. possuem significativo teor de pectina total. A pectina é classificada como oligossacarídeos e polissacarídeos, destacada pela fitoquímica por ter em sua constituição o ácido galacturônico. Os índices de pectina total são importantes para a conservação da fruta em pós-colheita, visto que as pectinas influenciam a textura do material vegetal.

Analisando a **TABELA 2** é possível verificar também que os extratos obtidos por infusão obtiveram um rendimento maior em ambos os solventes utilizados, com variação de 8,65% nos extratos aquosos e 21,79% nos extratos alcoólicos. Alguns estudos demonstram que o aumento da temperatura favorece a redução de substâncias ácidas, como o ácido ascórbico que também está presente no hibisco, podendo, esta redução, ser por oxidação enzimática e em temperaturas acima de 60°C a oxidação ocorre pelo próprio calor (JAWAHEER, GOBURDHUN e RUGGOO, 2003).

O valor de pH é convencionalmente usado para determinar a concentração de íon hidrogênio da solução (BRASIL, 2010). Os resultados obtidos na **TABELA 2** mostram que os extratos de *H. sabdariffa* L. analisados estão entre 1,8 e 2,6, valores considerados ácidos. No entanto, extratos alcóolicos se mostraram menos ácidos que os extratos aquosos.

Os resultados da avaliação fitoquímica dos extratos do cálice do *H. sabdariffa* L. feitos pela técnica cromatográfica CCD apontaram durante o processo

de eluição, os constituintes químicos do extrato separados por diferença de polaridade onde revelaram a presença de cumarina e flavonoides.

Os valores obtidos dos extratos aquoso e alcoólico, feitos a partir do preparo de chá do cálice do hibisco foram similares, mostrando que ambos são fontes

dos mesmos constituintes. A ação antioxidante, associado ao consumo de chá tem sido atribuída pelas elevadas concentrações de compostos fenólicos assim descritos por Nunes, Thomas e Lima (2014) e justifica-se pelos resultados obtidos das substâncias reveladas no **QUADRO 1**.

QUADRO 1. Avaliação Fitoquímica dos Extratos do *Hibiscus sabdariffa L.*

Extratos	Alcaloides	Cumarinas	Esteroides	Flavonoides	Taninos
Infusão Alcoólica	-	+	-	+	-
Infusão Aquosa	-	+	-	+	-
Decocto Alcoólico	-	+	-	+	-
Decocto Aquoso	-	+	-	+	-

Com emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), que tem capacidade de realizar separações de uma grande quantidade de compostos presentes em amostras com alta resolução, foi possível analisar os extratos aquosos de *H. sabdariffa L.*

Através do cromatograma representado na **FIGURA 1** é possível verificar dos extratos aquosos o perfil do ultravioleta dos picos principais que correspondem a substâncias de caráter ácido. O pico cromatográfico 1 apresenta maior banda de absorção em 282nm, com perfil de ultravioleta característico de substâncias ácidas. Sabe-se que o ácido hibiscus, ácido hidroxicitrico e ácido cítrico estão presentes em alta quantidade nos cálices de hibisco (LINARES et al., 2015), indicando estes ácidos como possíveis constituintes do pico cromatográfico 1. Observa-se também que a intensidade do pico 1 no método por infusão é maior que no método por decoção, mostrando que este método favorece a extração destas substâncias.

O pico cromatográfico 2 demonstra perfil de ultravioleta da substância química denominado ácido clorogênico, e esta, quando comparada aos padrões presentes na base de dados do equipamento, demonstrou uma similaridade acima de 0,99. Alguns estudos já relataram a presença de ácido clorogênico nos extratos obtidos de hibisco (MERCADO - MERCADO et al., 2015).

A - Decocto Aquoso em 282nm, B - Decocto Aquoso em 326nm, C - Infusão Aquosa em 282nm, D - Infusão Aquosa em 326nm, 1 – Espectro de UV dos picos cromatográficos 1, 2 – Espectro de UV dos picos cromatográficos 2, Hit 3 – Comparação com espectro de UV do ácido clorogênico.

De acordo com a **FIGURA 2**, o pico cromatográfico 3 foi observado em maior concentração na extração aquosa por decoção possui perfil de ultravioleta característico de flavonoide, porém não foi possível identificar qual o flavonoide. Estudos com extratos de hibisco identificaram a presença de flavonoides glicosilados derivados da quercetina e kaempferol (LINARES et al., 2015; MERCADO - MERCADO et al., 2015).

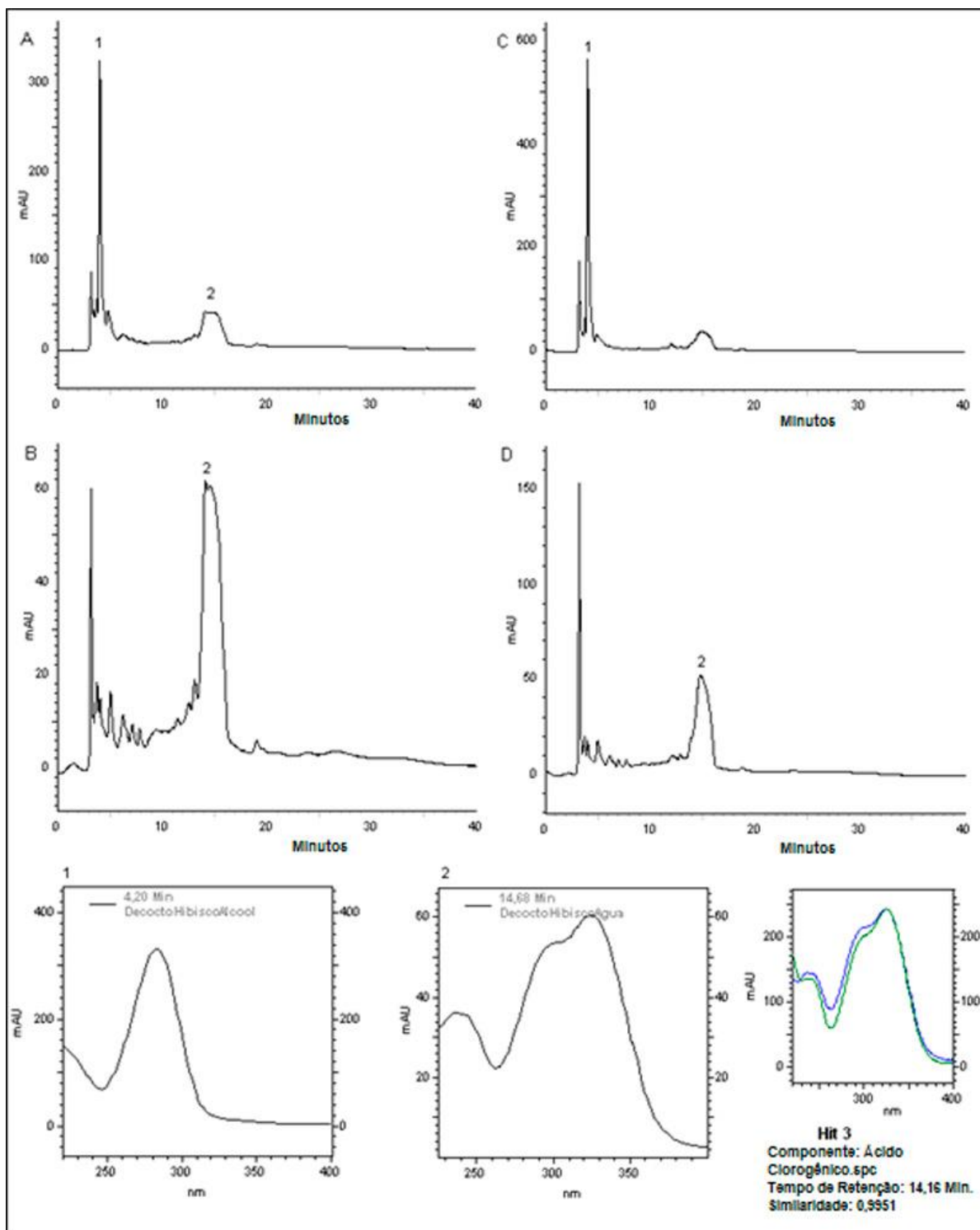


FIGURA 1. Cromatograma dos extratos aquosos obtidos por decocto e infusão.

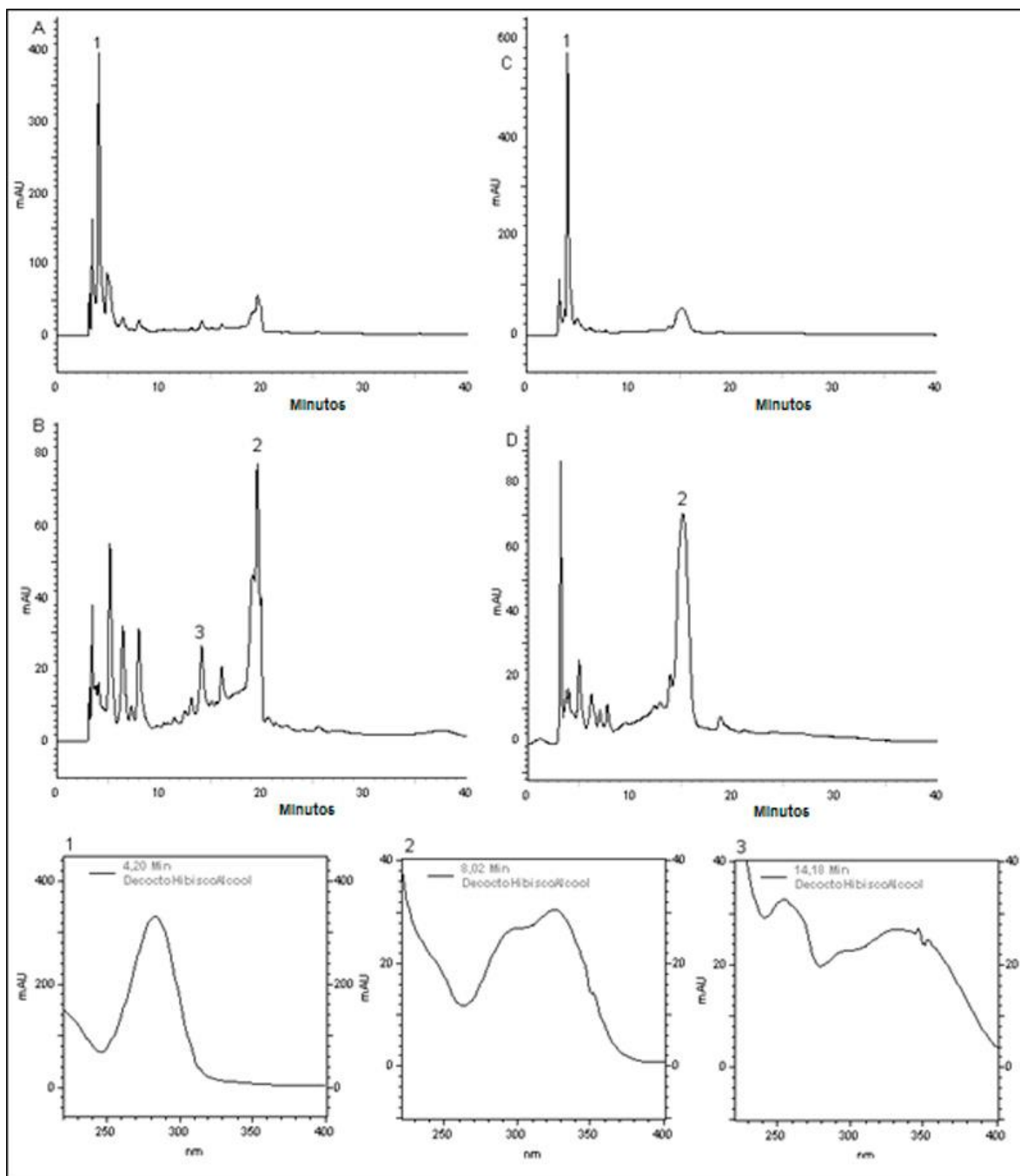


FIGURA 2. Cromatograma dos extratos alcoólico obtidos por decocto e infusão.

A - Decocto Alcoólico em 282nm, B - Decocto Alcoólico em 326nm, C - Infusão Alcoólica em 282nm, D - Infusão Alcoólica em 326nm. 1 – Espectro de UV dos picos cromatográficos 1, 2 – Espectro de

UV dos picos cromatográficos 2, 3 – Espectro de UV dos picos cromatográficos 3.

Na **FIGURA 2** podemos observar o cromatograma dos extratos alcoólicos obtidos por decocção e

infusão nos mesmos comprimentos de onda utilizados nos cromatogramas da **FIGURA 1**. Nos cromatogramas observamos os mesmos picos cromatográficos verificados na **FIGURA 2**, porém no método por decocção em 326nm é possível verificar um aumento de picos cromatográficos entre 5 a 10 minutos não observados na **FIGURA 1** com tanta intensidade. Verifica-se também, neste mesmo cromatograma, o pico cromatográfico 3 da mesma maneira que na **FIGURA 1**.

Através das análises realizadas nos cromatogramas aquosos e alcoólicos, obtidos pelos métodos de infusão e decocção, verificamos que os extratos apresentam certa similaridade, porém os extratos obtidos por decocção apresentam uma maior diversidade de substâncias que os extratos obtidos por infusão, em contrapartida, os extratos obtidos por

infusão apresentam uma maior intensidade do pico cromatográfico 1.

Na análise de doseamentos de grupos de metabólitos secundários utilizando métodos espectrofotométricos (**TABELA 3**), observa-se que os extratos etanólicos apresentam os maiores rendimentos de polifenóis, o extrato por decocto apresentou 70,34 mEqG.g⁻¹ e o extrato por infusão apresentou uma concentração de 71,58 mEqG.g⁻¹, uma diferença de 1,73% entre os métodos extrativos. Nos métodos aquosos, solvente que é utilizado pela população para consumo do hibisco na forma de chá, o extrato por decocção apresentou um teor de 67,5 mEqG.g⁻¹, enquanto o extrato por infusão um teor de 37,4 mEqG.g⁻¹, uma diferença de 44,59% de rendimento entre uma extração e outra.

TABELA 3. Teor de polifenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante frente ao radical DPPH dos extratos obtidos dos cálices de *Hibiscus sabdaffira* por decocto e infusão.

Amostras	Polifenóis Totais (mEqG.g ⁻¹) ± DP	Flavonoides Totais (mEqQ.g ⁻¹) ± DP	DPPH (IC ₅₀)
Decocto Aquoso	67,5 ± 0,07	19,24 ± 0,11	126,17 ± 0,04
Decocto Etanólico	70,34 ± 0,13	18,49 ± 0,17	162,71 ± 0,09
Infusão Aquosa	37,4 ± 0,09	12,97 ± 0,08	200,2 ± 0,12
Infusão Etanólica	71,58 ± 0,05	18,28 ± 0,13	162,25 ± 0,19

No doseamento de flavonoides foi verificado uma semelhança no teor nos métodos por decocção (18,49 mEqQ.g⁻¹) e infusão (18,28 mEqQ.g⁻¹) utilizando o álcool como solvente, porém utilizando água no processo extrativo foi verificado uma diferença de 32,59% no teor de flavonoides entre os extratos, sendo de 19,24 mEqQ.g⁻¹ para o método por decocção e de 12,97 mEqQ.g⁻¹ para a infusão.

Na atividade antioxidante pelo método DPPH foi verificado que o extrato que apresentou a melhor atividade no modelo testado foi o extrato aquoso obtido por decocção, com um IC₅₀ de 126,17 µg.mL⁻¹, seguido dos extratos etanólicos 162,25 µg.mL⁻¹ (infusão) e 162,71 µg.mL⁻¹ (decocto). O extrato que apresentou a menor atividade antioxidante foi por infusão aquoso com um IC₅₀ de 200,2 µg.mL⁻¹.

Segundo Tsai (2002), as antocianinas são um subgrupo dos flavonoides, um constituinte da espécie *H. sabdariffa*, que aos critérios estruturais são encontrados nos cálices e folhas, apresentando compostos fenólicos, que justifica a atividade antioxidante apresentada pela planta. Também o que constatamos é a grande quantidade de hidroxilas fenólicas que está relacionada a atividade antioxidante no sequestro dos radicais livres (BURDA e OLESZEK, 2001).

Um estudo realizado por Al-Hashimi (2012) demonstra que o extrato alcoólico apresenta maior atividade que o extrato aquoso, com maiores teores de compostos fenólicos, porém vale ressaltar que o autor utiliza métodos e proporções (matéria-prima / solvente) diferentes nas extrações, sendo 1/20 (p/v) no solvente alcoólico e 1/10 (p/v) utilizando água, métodos divergentes aos apresentados no presente estudo, o qual as proporções e métodos de extração foram iguais para todas as amostras. Segundo Tiwari e colaboradores (2011), são diversos os fatores que influenciam no conteúdo final da extração, como o método de extração, parte do material vegetal utilizada, o grau de processamento, o tamanho da partícula, o solvente utilizado, o tempo de extração, temperatura, polaridade e concentração do solvente.

Alguns estudos realizados com o hibisco demonstram que a extração a quente, favorece a extração dos compostos fenólicos e dos flavonoides, consequentemente influenciando na atividade antioxidante dos extratos (PRENESTI et al., 2007; SINDI, MARSHAL e MORGAN, 2014).

Através dos resultados pelo método DPPH é possível observar que quanto maior o teor de polifenóis e flavonoides, menor a concentração de extrato que foi utilizada para inibir 50% do radical DPPH. Alguns estudos já demonstraram esta correlação entre conteúdo de substâncias fenólicas

e atividade antioxidante (CAMPOS et al., 2014; VEBER et al., 2015).

Conclusão

A combinação dos parâmetros físico-químicos é exclusiva de cada espécie, sendo considerada como identidade da planta, dando suas características de autenticidade. Neste estudo foi possível verificar que os parâmetros físicos avaliados encontram-se dentro dos parâmetros exigidos pelas monografias consultadas e que o material vegetal apresenta boa qualidade para ser comercializada. Na análise química foi identificada a presença de flavonoides e cumarinas, substâncias com grande potencial terapêutico. Os rendimentos extrativos foram maiores nos extratos obtidos por infusão, porém na avaliação cromatográfica os extratos obtidos por decocção apresentam uma maior diversidade de substâncias, principalmente as derivadas de flavonoides. Avaliando os teores de polifenóis e flavonoides com a respectiva atividade antioxidante os extratos aquosos obtiveram níveis superiores. Este estudo é inédito por trabalhar com extratos obtidos na forma de chá. Os resultados aqui apresentados corroboram com estudos recentes que utilizaram de extratos vegetais concentrados de *H. sabdariffa*.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Centro Universitário Campos de Andrade e ao laboratório de Fitoquímica da Universidade Federal do Paraná.

Referências

ABREU, L. - *Estudos do poder antioxidante em infusões de ervas utilizadas como chás*. Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 2013.

- AL-HASHIMI, A.G. Antioxidant and antibacterial activities of Hibiscus sabdariffa L. extracts. *African Journal of Food Science*, v.6, n.21, p.506-511. 2012. ISSN 1996-0794.
- AMARAL, M.P.H.; VIEIRA, F.P.; LEITE, M.N.; AMARAL, L.H.; PINHEIRO, L.C.; FONSECA, B.G.; PEREIRA, M.C.S.; VAREJÃO, E.V. Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas. *SciELO. Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v.19, n. 2b, p. 607-611. 2009. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
- BARA, M.T.F.; RIBEIRO, P.A.M.; ARANTES, M.C.B.; AMORIM, L.L.S.S.; PAULA, J.R. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. *SciELO. Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v.16, n.2, p.211 – 215. 2006. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
- BORBA, P.A.A.; RIEKES, M.K.; PEREIRA, R.N.; STULZER, H.K.; VECCHIA, D.D. Desenvolvimento e validação de um método analítico por espectrofotometria UV para quantificação de carvedilol. *UFF. Química Nova*, Niterói. v. 36, n. 4, p. 582-586, 2013. ISSN 1678-7064. [[CrossRef](#)].
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Informe técnico nº 45*, de 28 de dez. de 2010. Esclarecimentos sobre a regulamentação de chás. Disponível em: [[Link](#)] Acesso em: 09 abr. 2015. 2010.
- BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v.49, n.6. p.2774-2779. 2001. [[CrossRef](#)].
- CAMPOS, R. OLIVEIRA, V.B.; PAULA, C.S.; PONTAROLO, R.; DIAS, J.F.G.; MIGUEL, M.D.; ZANIN, S.M.W.; MIGUEL, O.G. Multivariate analysis between the phytochemical features and antioxidant properties of the stems of *Bauhinia glabra* jacq. (FABACEAE). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 6, n.8, p.151-155, 2014. ISSN 0975 – 1491. [[Link](#)].
- CARVALHO, J.L.S. *Contribuição ao estudo fitoquímico e analítico do Nasturtium officinale R. BR., BRASSICACEAE*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2001.
- CHANG, C.C.; YANG, M.H.; WEN, H.M.; CHERN, J.C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Elsevier. *Journal of Food and Drug Analysis*, USA. v.10, n3. p.178-182. 2002. ISSN: 1021-9498.
- VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. *Clima Temperado: Hibisco: do uso ornamental ao medicinal*. 2010. Disponível em: [[Link](#)] . Acesso em: 09 abr. 2015.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª ed., v. 1, Brasília: ANVISA, 2010.
- FERNANDES N.F.; MARTINO-ANDRADE, A. J.; SANTOS-LOURENÇO, A. C.; MULLER, J. C.; SPERCOSKI, K. M.; NIHI, F.; MIGUEL, M. D.; OLIVEIRA, V. B.; DALSENTER, P. R.; MORAIS, R. N. Supplementation with *Pfaffia glomerata* (Sprengel) Pedersen does not affect androgenic–anabolic parameters in male rats. Elsevier. *Journal of Ethnopharmacology*, USA. v.161, p. 46–52. 2015. ISSN: 0378-8741. [[CrossRef](#)]. [[PubMed](#)].
- FIRMINO, L. A. - *Avaliação Macroscópica e Microscópica e Características Físico-Químicas no Controle de Qualidade do Chá Verde*. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA. 2011.

- GOMES, E.C.; ELPO, E.R.S.; NEGRELLE, R.R.B. Armazenagem de chás no setor supermercadista. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas. v.27, n.4, p. 675-680. 2007. ISSN: 1678-457X.
- JAWAHEER, B.; GOBURDHUN, D.; RUGGOO, A. Effect of processing and storage of guava into jam e juice on the ascorbic acid content. Springer. *Plant Foods for Human Nutrition*, USA. v.58, n.3, p. 1-12. 2003. ISSN: 1573-9104. [\[CrossRef\]](#).
- LIN, T.L.; LIN, H.H.; CHEN, C.C.; LIN, M.C.; CHOU, M.C.; WANG, C.J. *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. Elsevier. *Nutrition Research*. USA. v.27, n.3, p.140-145, 2007. ISSN: 0271-5317. [\[CrossRef\]](#).
- LINARES, I.B.; ARROYO, S.F.; ROMAN, D.A.; SUÁREZ, P.A.P.; DÍAZ, R.D. V.; GONZÁLES, I.A.; GUTIÉRREZ, A.F.; LEYVA, J.F.G.; CARRETERO, A.S. Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*), Elsevier. *Industrial Crops and Products*, USA. v.69, p.385-394. 2015. ISSN: 0926-6690. [\[CrossRef\]](#).
- 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. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo, v.71, n.3, p.462-70, 2012. ISSN: 0073-9855.
- MENSOR, L.L.; MENEZES, F.S.; LEITÃO, G.G.; REIS, A.S.; SANTOS, T.C.D.; COUBE, C.S.; LEITÃO, S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. Wiley. *Phytotherapy Research*, USA. v.15, n.2, p. 127-130, 2001. ISSN 1099-1573. [\[CrossRef\]](#).
- MERCADO-MERCADO, G; BLANCAS-BENITEZ, F.J.; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G.R.; MONTALVO-GONZÁLEZ, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; SÁYAGO-AYERDI, S.G. Bioaccessibility of polyphenols released and associated to dietary fiber in calyces and decoction residues of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), Elsevier. *Journal of Functional Foods*, USA. v.18, Part A, p. 171-181, 2015. ISSN: 1756-4646. [\[CrossRef\]](#).
- MONROY-ORTIZ, C.; CASTILLO-ESPANA P. *Plantas medicinales utilizadas en el Estado de Morelos*. México: UAEM, 405p. 2007.
- MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E. S.; COSTA, S. M.; AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v.19. 1b, p. 315-320, 2009. ISSN 1981-528X. [\[CrossRef\]](#).
- NUNES S. P.; THOMAS B. A.; LIMA L. C. O. Compostos Fenólicos, Antocianinas e Atividade Antioxidante em chá de Hibisco (*Hibiscus Sabdariffa* L.). XXIII Congresso de Pós-Graduação da UFLA, Lavras. 2014. [\[Link\]](#).
- OLIVEIRA, C.F.; OLIVEIRA, V.B.; OLIVEIRA, F.F.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Parâmetros de controle de qualidade de *Psychotria fraxistipula* l. b. sm., Klein & delprete (rubiacaceae): umidade, cinzas e prospecção fitoquímica.. *Visão Acadêmica*, Curitiba. v.15, n 4, p.17-23. 2014. ISSN: 1518-8361. [\[Link\]](#).
- OLIVEIRA, V.B.; ZUCHETTO, M., PAULA, C.S.; VERDAM, M.C.; CAMPOS, R.; DUARTE, A.F.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Evaluation of antioxidant potential against lipid oxidation and preliminary toxicity of extract and fractions obtained from the fronds of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook. *Revista Brasileira de plantas medicinais*, Botucatu, v.17, n.4, p.614-621, 2014. [\[CrossRef\]](#). ISSN: 1983-084X.

- PRENESTI, E.; BERTO, S.; DANIELE, P.G.; TOSO, S. Antioxidant power quantification of decoction and cold infusions of *Hibiscus sabdariffa* flowers. Elsevier. *Food Chemistry*, USA. v.100, n.2, p.433–438, 2007. ISSN: 0308-8146. [\[CrossRef\]](#).
- 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. 2011. ISSN 0103-8478. [\[Link\]](#).
- SÁYAGO AYERDI S.G.; ARRANZ, S.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Dietary Fiber Content and Associated Antioxidant Compounds in Roselle Flower (*Hibiscus sabdariffa* L) Beverage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v.55, p.7886-7890, 2007. [\[CrossRef\]](#). [\[PubMed\]](#).
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PALAZZO DE MELO, J.; MENTZ, L.A. E PETROVICK, P.R. (org.) *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Editora da UFRGS/Editora da UFSC. Porto Alegre/Florianópolis. 1999.
- SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMAN, G.; PALAZZO DE MELO, J.; MENTZ, L.A. E PETROVICK, P.R. (org.) *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Editora da UFRGS/Editora da UFSC. Porto Alegre/Florianópolis. 2007.
- SINDI, A.H.; MARSHAL, L.J.; MORGAN, M.R.A. Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of *Hibiscus sabdariffa*, Elsevier. *Food Chemistry*, USA. v.164, n.1, p. 23-29. 2014. ISSN: 0308-8146. [\[CrossRef\]](#).
- SLINKARD, K.; SINGLETON, V.L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*. v.28, n.1, p.49-55, 1977.
- SOUZA D.C.; SILVA, L.F.L.; NASSUR, R.C.M.R.; COSTA, G.M.; RESENDE, L.V. *Avaliação do total de Pectina Contido em Flores de Vinagreira Verde Introduzida no Sul de Minas Gerais*. XXIII Congresso de Pós-graduação da UFLA, Lavras. 2014. [\[Link\]](#).
- SOUZA, A.M.; ARMSTRONG, L.; MERINO, F.J.Z.; COGO, L.L.; MONTEIRO, C.L.B.; DUARTE, M.R.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. In vitro effects of *Eugenia pyriformis* Cambess, Myrtaceae: Antimicrobial activity and synergistic interactions with Vancomycin and Fluconazole. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.8, n.35, p. 862–867, 2014. ISSN: 1996-0816. [\[CrossRef\]](#).
- TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, K. Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. v.1, n.1, p. 98-106. 2011. ISSN: 2231-5896.
- TSAI, P.J.; MCINTOSH, J.; PEARCE, P.; CAMDEN, B.; JORDAN, B.R. Anthocyanin and antioxidant capacity in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food Research International*, v.35, n.4. p.351-356, 2002. ISSN: 0963-9969. [\[CrossRef\]](#).
- VEBER, J.; PETRINI, L.; ANDRADE, L.; SIVIERO, J. Determinação dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante de extratos aquosos e etanólicos de Jambolão (*Syzygium cumini* L.). *SciELO. Revista Brasileira de plantas medicinais*, Botucatu. v.17, n.2, p. 267-273, 2015. ISSN 1516-0572. [\[CrossRef\]](#).
- ZUCHETTO, M. - Contribuição ao estudo fitoquímico e atividades biológicas (alelopática, antioxidante e toxicológica in vitro) de *Cyathia atrovirens* (Langsd. et Fisch) Domin, Cyatheaceae. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2014.