

Comunicado 213

Técnico

versão

ON LINE

ISSN 1806-9185
Outubro, 2009
Pelotas, RS

Foto: Mery Couto



Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em Cálices de Hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Márcia Vizzotto¹
Paula Madeira Castilho²
Marina Couto Pereira³

Introdução

Existem mais de 300 espécies de hibisco (*Hibiscus* sp.) que estão distribuídas em regiões tropicais e subtropicais ao redor do mundo. A maior parte das espécies são utilizadas como plantas ornamentais, como é o caso do *Hibiscus rosa-sinensis*. Para muitas delas são atribuídas propriedades medicinais, como é o caso do *H. sabdariffa* L. Este hibisco pertence à classe das *Dicotyledonae*, família das malváceas e gênero *Hibiscus*. Nativo do continente africano, encontra-se amplamente distribuído nas regiões tropicais e subtropicais do globo terrestre (MORTON, 1987), sendo conhecido popularmente como hibisco, hibiscus, rosela, groselha, azedinha, quiabo azedo, caruru-azedo, caruru-da-guiné e quiabo-de-angola, além de receber outros nomes como cardadé, rosa da Jamaica, té de Jamaica (espanhol); red sorrel ou Jamaica sorrel (inglês); cardade (italiano); afrikanische malve (alemão) ou roselle (francês).

A parte mais importante da planta é o cálice, a

partir do qual podem ser elaborados vários tipos de alimentos e bebidas. O hibisco vem atraindo a atenção das indústrias de alimentos, de bebidas e farmacêuticas, as quais começam a vislumbrar a possibilidade de exploração racional desse vegetal como matéria-prima para elaboração de alimentos e como fonte natural de corantes (JORGE et al. 1994; CAMEZ, 1999). Recentemente tem havido um interesse crescente na investigação sobre componentes dos alimentos, tais como antocianinas e outros compostos fenólicos devido à sua eventual ligação a benefícios relativos à saúde como, por exemplo, redução de doenças cardíacas e câncer, com base em sua atividade antioxidante (SEERAM et al., 2002). Antioxidantes são substâncias que, quando presentes nos alimentos ou no corpo, retardam ou impedem o processo de oxidação (HALLIWELL, 1997). O estresse oxidativo, principalmente provocado por radicais livres, é uma das causas de determinadas patologias degenerativas.

¹ Eng. Agrôn., PhD., Pesquisadora da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. (vizzotto@cpact.embrapa.br)

² Técnica em Processos Químicos, Centro Federal de Educação Tecnológica de Pelotas-CEFET, Pelotas, RS. (paula_castilhors@yahoo.com.br)

³ Nutricionista, Mestranda da Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, Porto Alegre, RS. (marinacoutopereira@hotmail.com)

Foto: Gustavo Heiden



Flor do *Hibiscus rosa-sinensis*.

Foto: Mery Couto



Flor do *Hibiscus sabdariffa*.

Muitas propriedades benéficas à saúde são atribuídas ao cálice do *H. sabdariffa* como a atividade antioxidante (ALI et al., 2003), evitando a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade e reduzindo o colesterol no serum (CHANG-CHE et al., 2004; CHANG et al., 2006; LIN et al., 2007) o efeito anti-hipertensivo (ONYENEKWE et al., 1999; MOJIMINIYI et al., 2007; AJAY et al., 2007), a prevenção de doenças cardiovasculares (CRISTIAN et al., 2006) e hepáticas (ALI et al., 2003), a redução da obesidade (ALARCON-AGUILAR et al., 2007; KIM et al., 2007) e diabetes (FAROMBI e IGE, 2007), a função diurética (WRIGHT et al., 2007) e a atuação *in vitro* sobre alguns tipos de câncer como leucemia (HOU et al., 2005), câncer gástrico (LIN et al., 2007) e *in vivo* na redução do surgimento de tumores de pele em ratos (TSENG et al., 1998).

Estudos toxicológicos utilizando o cálice do *H. sabdariffa* foram conduzidos com ratos, demonstrando que doses elevadas podem causar problemas ao sistema reprodutor masculino, reduzindo a sua fertilidade (ORISAKWE et al., 2004) e, também ao fígado (AKINDAHUNSI e OLALEYE, 2003).

O objetivo deste trabalho foi quantificar os teores totais de compostos fenólicos, carotenóides e antocianinas, e determinar a atividade antioxidante em cálices de *H. sabdariffa* produzidos na Região Sul do Rio Grande do Sul.

Materiais e Métodos

Os cálices do *H. sabdariffa*, provenientes do campo experimental da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, foram selecionados e analisados logo após a colheita. Foram determinadas a atividade antioxidante e os teores totais de compostos fenólicos, carotenóides e antocianinas, em três repetições.

Para quantificação dos compostos fenólicos totais, utilizou-se cinco gramas de amostra que foram extraídas com metanol. Uma alíquota de 250µL foi diluída em 4mL de água e, combinados com 250µL do reagente Folin-Ciocalteu 0,25N (SWAIN e HILLIS, 1959) onde, após reagir por 3 minutos, foi adicionado 500µL de Na₂CO₃ 1N. Após 2h de incubação, a

absorbância foi medida a 725nm.

Para determinação da atividade antioxidante, as amostras foram extraídas como descrito anteriormente. Uma alíquota de 200µL da amostra foi combinada com 3800µL da solução de DPPH (BRAND-WILLIAMS et al., 1995) e, após reagir por 24h, as leituras foram realizadas a 515nm.

As antocianinas foram quantificadas através da metodologia adaptada de Fuleki e Francis (1968). Cinco gramas de amostra foram extraídas com a mistura dos solventes etanol e água acidificada 1,5N HCl. Após centrifugação, duas gramas do sobrenadante foram colocadas em balão volumétrico e foi adicionado solvente até o volume final de 100mL. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 535nm e 700nm.

Os carotenóides foram quantificados através da metodologia adaptada de Talcott e Howard (1999) com algumas modificações. Dois gramas de amostra foram homogenizados com 20mL da solução de acetona/etanol (1:1) contendo 200mg/L de BHT. Após centrifugação, o sobrenadante sofreu uma partição com a adição de hexano e água. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 470nm.

Resultados e Discussão

O teor de compostos fenólicos totais encontrado nos cálices do *H. sabdariffa* (Tabela 1) pode ser considerado elevado, se comparado a teores detectados em hortaliças como a alface, o salsão, o repolho roxo e o repolho branco (REYES et al., 2007), tornando o consumo deste vegetal interessante, já que muitos dos compostos fenólicos atuam na prevenção de doenças crônicas não-transmissíveis.

O teor de antocianinas nos cálices do hibisco é elevado (Tabela 1), sendo superior ao encontrado no suco da romã (PEREIRA et al., 2008), no entanto, inferior aos teores encontrados em frutas como jambolão (VIZZOTTO e PEREIRA, 2008). O teor de antocianinas encontrado no cálice do hibisco é bastante similar ao encontrado no mirtilo, em torno de 113,55 mg/100g (SELLAPPAN et al.,

2002). Esta comparação do cálice do hibisco com mirtilo é interessante, pois este é reconhecido como uma das principais fontes de antocianinas. Sendo assim, o hibisco proporciona novas alternativas de consumo deste flavonoide que é considerado tão importante para a saúde.

Tabela 1. Compostos fenólicos totais, antocianinas totais, carotenóides totais e a atividade antioxidante em cálices de *H. sabdariffa* da Região Sul do Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2009.

	Brácteas de hibiscus
Compostos fenólicos totais ¹	478,7 ± 17,4
Antocianinas totais ²	107,3 ± 11,0
Carotenóides totais ³	2,0 ± 0,3
Atividade antioxidante ⁴	5960,1 ± 1226,1

Os dados são as médias de três repetições ± desvio padrão. ¹Compostos fenólicos totais expresso em mg do equivalente ácido clorogênico/100g amostra fresca.

²Antocianinas totais expressa em mg equivalente cianidina-3-glicosídeo/100g amostra fresca;

³Carotenóides totais expresso em mg equivalente β -caroteno/100g amostra fresca. ⁴Atividade antioxidante total expressa em μ g equivalente trolox/g amostra fresca.

O teor de carotenóides nos cálices do *H. sabdariffa* é considerado baixo (Tabela 1), principalmente, quando comparado com hortaliças como a cenoura, considerada uma das principais fontes destes compostos. Na cenoura pode-se encontrar de 15 a 20mg do equivalente β caroteno/100g de peso fresco (VIZZOTTO et al., 2008). Já em outras frutas, como o pêssego, ameixa (0,1 a 3,7mg/100g de peso fresco) (VIZZOTTO et al., 2007) e o jambolão (0,43mg/100g de peso fresco) (VIZZOTTO et al., 2008), o teor de carotenóides pode ser bastante inferior ao encontrado no cálice do hibisco.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada através do radical estável DPPH, pois este simula as espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio, que afetam os sistemas biológicos. Em geral, o "scavenging" de radicais livres é o mecanismo aceito para antioxidantes que inibem a peroxidação lipídica. A atividade antioxidante encontrada nas brácteas de hibisco é considerada alta

(5960,1 μ g/g) podendo ser comparada com frutas como a amora-preta e pêssegos (VIZZOTTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2007). Já comparando a atividade antioxidante dos cálices do hibisco com algumas hortaliças como salsa, alface, cenoura, repolho branco, repolho roxo, batata e abobrinha (REYES et al., 2007), pode-se observar que o teor encontrado no cálice do hibisco foi sempre maior. Esta característica pode ser bastante interessante, já que uma das formas de consumo das brácteas do hibisco é como salada pois, além de ser decorativa, torna a salada altamente antioxidante.

Conclusão

O teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante das brácteas do hibisco são elevados, indicando ser um produto de elevada qualidade para o consumo humano, além de ser atrativo para a decoração de saladas e pratos quentes.

Referências

- AJAY, M.; CHAI, H. J.; MUSTAFA, A. M.; GILANI, A. H.; MUSTAFA, M. R. Mechanisms of the anti-hypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 109, p. 388–393, 2007.
- AKINDAHUNSI, A. A.; OLALEYE, M. T. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 89, p. 161–164, 2003.
- ALARCON-AGUILAR, F. J.; ZAMILPA, A.; PEREZ-GARCIA, M. D.; ALMANZA-PEREZ, J. C.; ROMERO-NUNEZ, E.; CAMPOS-SEPULVEDA, E. A.; VAZQUEZ-CARRILLO, L. I.; ROMAN-RAMOS, R. Effect of *Hibiscus sabdariffa* on obesity in MSG mice. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 114, p. 66–71, 2007.
- ALI, B. H.; MOUSA, H. M.; EL-MOUGY, S. The effect of a water extract and anthocyanins of *Hibiscus sabdariffa* L. on paracetamol induced hepatotoxicity in rats. **Phytotherapy Research**, London, v.17, p. 56–59, 2003.

- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CARAMEZ, R. R. B. **Caracterização físico-química e estudo da estabilidade das antocianinas do cálice de *Hibiscus sabdariffa* L.** Florianópolis, 1999, 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- CHANG, Y-C.; HUANG, K-X.; HUANG, A-C.; HO, Y-C.; WANG, C-J. Hibiscus anthocyanins-rich extract inhibited LDL oxidation and oxLDL-mediated macrophages apoptosis. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 44, p. 1015–1023, 2006.
- CHANG-CHE, CHEN, FEN-PI, CHOU, YUNG-CHYAN, HO, WEA-LUNG, LIN, CHIN-PIN, WANG, ERL-SHYH, KAO. Inhibitory effects of *Hibiscus sabdariffa* L. extract on low-density lipoprotein oxidation and anti hyperlipidemia in fructose-fed and cholesterol-fed rats. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Washington, v. 84, n. 15, p. 1989–1996, 2004.
- CHRISTIAN, K. R.; NAIR, M. G.; JACKSON, J. C. Antioxidant and cyclooxygenase inhibitory activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*). **Journal of Food Composition and Analysis**, Amsterdam, v. 19, p. 778–783, 2006.
- FAROMBI, E. O.; IGE, O. O. Hypolipidemic and antioxidant effects of ethanolic extract from dried calyx of *Hibiscus sabdariffa* in alloxan-induced diabetic rats. **Fundamental and Clinical Pharmacology**, Strasbourg, v. 21, p. 601–609, 2007.
- FULEKI, T.; FRANCIS, F.T. Quantitative methods for anthocyanins 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 33, p. 72-77, 1968.
- HALLIWELL, B. Antioxidants and human disease: a general introduction. **Nutrition Reviews**, Washington, v. 55, p. 44–52, 1997.
- HOU, D-X.; TONG, X.; TERAHARA, N.; LUO, D.; FUJII, M. Delphinidin 3-sambubioside, a *Hibiscus* anthocyanin, induces apoptosis in human leukemia cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 440, p. 101–109, 2005.
- JORGE, L. I. F.; INOMATA, E. I.; MAIO, F. D.; TIGELA, P. Características de duas hortaliças do Brasil: “chaguinha” (*Tropaeolum majus* L.) e “vinagreira” (*Hibiscus sabdariffa* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 86-96, 1994.
- KIM, J-K.; SO, H.; YOUN, M-J.; KIM, H-J.; KIM, Y.; PARK, C.; KIM, S-J.; HA, Y-A.; CHAI, K-Y.; KIM, S-M.; KIM, K-Y.; PARK, R. *Hibiscus sabdariffa* L. water extract inhibits the adipocyte differentiation through the PI3-K and MAPK pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 114, p. 260–267, 2007.
- LIN, H-H.; CHEN, J-H.; KUO, W-H.; WANG, C-J. Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric carcinoma cells through apoptosis induction and JNK/p38 MAPK signaling activation. **Chemico-Biological Interactions**, Limerick, v. 165, p. 59–75, 2007.
- LIN, T-L.; LIN, H-H.; CHEN, H-C.; LIN, M-C.; CHOU, M-C.; WANG, C-J. *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. **Nutrition Research**, Amsterdam, v. 27, p. 140–145, 2007.
- MOJIMINIYI, F. B. O.; DIKKO, M.; MUHAMMAD, B. Y.; OJOBOR, P. D.; AJAGBONNA, O. P.; OKOLO, R. U.; IGBOKWE, U. V.; MOJIMINIYI, U. E.; FAGBEMI, M. A.; BELLO, S. O.; ANGA, T. J. Antihypertensive effect of an aqueous extract of the calyx of *Hibiscus sabdariffa*. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 78, p. 292–297, 2007.
- MORTON, J. F. Roselle, *Hibiscus sabdariffa* L. In: Morton, J.F. (Ed.). *Fruits of Warm Climates*. Miami, FL, USA, p. 281-286, 1987.
- ONYENEKWE, P. C.; AJANI, E. O.; AMEH, D. A.; GAMANIEL, K. S. Antihypertensive effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx infusion in spontaneously hypertensive rats and a comparison of its toxicity with that in Wistar rats. **Cell Biochemistry and Function**, Cambridge, v. 17, n. 3, p. 199–206, 1999.

- ORISAKWE, O. E.; HUSAINI, D. C.; AFONNE, O. J. Testicular effects of sub-chronic administration of *Hibiscus sabdariffa* calyx aqueous extract in rats - Short communication. **Reproductive Toxicology**, Louisville, v. 18, p. 295–298, 2004.
- PEREIRA, M.C.; GULARTE, J. P. do A.; VIZZOTTO, M. Otimização do processo de extração de compostos fenólicos antioxidantes de amora-preta (*Rubus sp.*). In: Congresso de Iniciação Científica, 16.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 9.; 2007, Pelotas. Pesquisa e responsabilidade ambiental. Pelotas:CIC, 2007. 1 CD-ROM.
- PEREIRA, M. C.; CASTILHO, P. M.; COUTO, M.; VIZZOTTO, M. Teores de compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante em diferentes partes da romã (*Punica granatum* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 21.; SEMINÁRIO LATINO AMERICANO E DO CARIBE DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS, 15., 2008, Belo Horizonte. **Ciência e inovação para o desenvolvimento sustentável**. Belo Horizonte: SBCTA, 2008. 1 CD-ROM.
- REYES, L.F.; VILLARREAL, J.E.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 101, n. 3, p. 1254–1262, 2007.
- SEERAM, N. P.; SCHUTZKI, R.; CHANDRA, A.; NAIR, M. G. Characterization, quantification, and bioactivities in anthocyanins in Cornus species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 2519–2523, 2002.
- SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 2432–2438, 2002.
- SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agriculture**. Washington, v. 10, p. 63-68, 1959.
- TALCOTT, T. S.; HOWARD, R. L. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 47, p. 2109-2115, 1999.
- TSENG, T-H.; HSU, J-D.; LO, M-H.; CHU, C-Y.; CHOU, F-P.; HUANG, C-L.; WANG, C-J. Inhibitory effect of Hibiscus protocatechuic acid on tumor promotion in mouse skin. **Cancer Letters**, Shannon, v. 126, p. 199–207, 1998.
- VIZZOTTO, M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D. H.; RAMMING, D. W.; OKIE, W. R. Large Variation Found in the Phytochemical and Antioxidant Activity of Peach and Plum Germplasm. **Journal of American Society for the Horticultural Science**, Stanford, v. 132, n. 3, p. 334–340, 2007.
- VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C.; CASTILHO, P. M.; SCHWENGBER, J. E.; CAPELLESSO, A. J. Efeito das datas de semeadura, segundo o calendário astronômico agrícola, sobre os compostos fenólicos totais, carotenóides e atividade antioxidante de cenoura (*Daucus carota* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 21.; SEMINÁRIO LATINO AMERICANO E DO CARIBE DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DOS ALIMENTOS, 15., 2008, Belo Horizonte. **Ciência e inovação para o desenvolvimento sustentável**. Belo Horizonte: SBCTA, 2008. 1 CD-ROM.
- VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Caracterização das propriedades funcionais do jambolão. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. 27 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 79).
- WRIGHT, C. I.; VAN-BUREN, L.; KRONER, C. I.; KONING, M. M. G. Herbal medicines as diuretics: A review of the scientific evidence. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 114, p. 1–31, 2007.

Comunicado Técnico, 213 Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

Embrapa Clima Temperado

Endereço: Caixa Postal 403

Fone/fax: (53) 3275-8199

E-mail: sac@cpact.embrapa.br



1ª edição

1ª impressão 2009: 50 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: *Ariano Martins de Magalhães Júnior*

Secretário-Executivo: *Joseane Mary Lopes Garcia*

Membros: *José Carlos Leite Reis, Ana Paula Schneid Afonso, Giovani Theisen, Luis Antônio Suita de Castro, Flávio Luiz Carpena Carvalho, Christiane Rodrigues Congro Bertoldi e Regina das Graças Vasconcelos dos Santos*

Suplentes: *Márcia Vizzotto e Beatriz Marti Emygdio*

Expediente

Normalização bibliográfica: *Regina das Graças Vasconcelos dos Santos*

Editoração eletrônica: *Oscar Castro*

Composição e Impressão: *Embrapa Clima Temperado*