

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CURSO SUPERIOR DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

KATLYN BAZOLI DOS SANTOS

**TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE  
ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DA TANSAGEM (*Plantago major*)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

APUCARANA

2017

KATLYN BAZOLI DOS SANTOS

**TEORES DE COMPOSTOS BIOATIVOS E CAPACIDADE  
ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS DA TANSAGEM (*Plantago major*)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II do curso superior de Licenciatura em Química, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lilian Tatiani  
Dusman Tonin

APUCARANA

2017

## **BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dra. Lilian Tatiani Dusman Tonin  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana  
Orientador

---

Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana  
Membro

---

Profa. Dra. Rúbia Michele Suzuki  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana  
Membro

“A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de Licenciatura em Química”.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, não somente pelo dom da vida, mas por todas as bênçãos concedidas ao longo da minha jornada.

E como é bom ter família, agradeço aos meus pais, Jonathan e Rosana, pelo amor que eles me proporcionaram demonstrando-o através de apoio e incentivo durante todo o processo de graduação, mesmo nos momentos de dificuldade sempre acreditando em mim, isso que me ajudou a jamais desistir.

Agradeço à minha irmã, Emanuelle, por estar sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida, sejam estes momentos tristes ou alegres. A vocês dedico todas as minhas conquistas, pois sem vocês, eu não sou nada.

À minha orientadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lilian Tatiani Dusman Tonin pela sua amizade, pela sua orientação, pelos seus ensinamentos, pela sua paciência quem tem em me ensinar e por todos os momentos de compreensão. Muito obrigada, sem sua orientação esse trabalho não seria possível.

Agradeço a todos os professores da UTFPR por todos os ensinamentos profissionais e de vida que me transmitiram em especial, à Prof.<sup>a</sup> Dra. Rúbia Michele Suzuki e Prof.<sup>o</sup> Dr. Elton Guntendorfer Bonafé por se disponibilizarem a fazer parte dessa banca e assim contribuírem para o presente trabalho.

Aos meus amigos da licenciatura em Química, em especial aos que acompanharam de perto minhas alegrias e frustrações: Jéssica B., Larissa C. e Caroline C. Aos amigos que a UTFPR me proporcionou em especial minha amiga Pamela C., Angélica T. e Ana Carolina S., muito obrigado por fazerem parte da minha vida.

Aos meus colegas de laboratório Ariel e Evelyn por estarem sempre dispostos a me ajudar de alguma forma.

Por fim, agradeço a todos aqueles que de uma maneira ou de outra contribuíram não somente para a realização deste trabalho, mas durante a graduação, a todas as pessoas que passaram pela minha vida e quede alguma forma, ensinaram alguma coisa para o meu crescimento.

“Sem sonhos as perdas se tornam insuportáveis, as pedras do caminho se tornam montanhas, os fracassos se transformam em golpes fatais. Mas, se você tiver grandes sonhos... seus erros produzirão crescimento, seus desafios produzirão oportunidades, seus medos produzirão coragem.”

Augusto Cury

## RESUMO

SANTOS, KATLYN B. Teores de compostos bioativos e capacidade antioxidante das folhas da tansagem (*Plantago major*). 2017. 63 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2017.

O estudo de plantas que são utilizadas na medicina popular é de grande importância para aprimorar sua eficácia e segurança. Com o intuito de fortalecer as pesquisas com plantas de uso popular, o Ministério da Saúde publicou a lista do RENISUS. Nesta lista encontra-se a tansagem (*Plantago major*), que é utilizada na medicina popular como diurética, antidiarreica, expectorante, hemostática e cicatrizante, sendo empregada contra infecções das vias respiratórias superiores (faringite, amigdalite, estomatite), bronquite crônica e como auxiliar no tratamento de úlceras pépticas, entre outras. Estudos sobre a espécie indicaram a presença de compostos fenólicos, flavonoides, iridoides, entre outros. O presente trabalho teve como objetivo a secagem das folhas de *P. major* foi realizada nas temperaturas de 40, 60 e 80 °C. O processo de secagem foi monitorado até que a massa do material chegasse a um valor constante. O tempo de secagem foi inversamente proporcional à temperatura, o que já era esperado. Foi possível remover cerca de 92% da umidade para todas as temperaturas, em tempos curtos de secagem. Os teores de compostos fenólicos foram quantificados e o maior valor foi para o extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 30% da secagem a 40 °C com 0,7459 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> de amostra. As condições que apresentaram maior teor de flavonoides totais foram as extrações realizadas com os solventes MeOH/H<sub>2</sub>O 5% com a tansagem seca a 40 e 60°C e EtOH/H<sub>2</sub>O 5% com a tansagem seca a 80°C. Para o método de sequestro do radical livre DPPH em concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup> os extratos apresentaram cinética rápida e porcentagem de inibição do radical superior a 92% no tempo de 30 minutos. Na concentração de 1.000 µg mL<sup>-1</sup> no tempo de 30 minutos, os extratos que apresentaram maior porcentagem de inibição do radical DPPH foram o EtOH/H<sub>2</sub>O 30% e MeOH/H<sub>2</sub>O 5%, com cinética rápida. Para a atividade dos extratos frente o ABTS, na concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup> os quatro extratos da secagem a 40°C apresentaram maiores percentuais de inibição do radical. No tempo de 30 minutos de reação, as porcentagens de atividade antioxidante variaram de 57,06% a 63,67%. Dessa forma, analisando todos os resultados obtidos, é possível propor que a secagem do tansagem seja realizada a uma temperatura de 40°C, e o extrato preparado com MeOH/H<sub>2</sub>O 5% ou EtOH/H<sub>2</sub>O 30%, e considerando a menor toxicidade do etanol, este seja utilizado como melhor solvente extrator dos seus compostos bioativos.

**Palavras-chave:** RENISUS. Secagem. Atividade antioxidante. DPPH. ABTS.

## ABSTRACT

SANTOS, KATLYN B..Bioactive compounds contents and antioxidant capacity of the leaves of the tansagem (*Plantago major*). 2017. 63 p. Course Conclusion Work - Federal Technological University of Paraná. Apucarana, 2017.

The study of plants that are used in folk medicine is of great importance to enhance its effectiveness and safety. In order to strengthen research with plants of popular use, the Ministry of Health published the list of RENISUS. In this list we find the tansagem (*Plantago major*), which is used in folk medicine as diuretic, antidiarrheal, expectorant, hemostatic and healing, and is used against infections of the upper respiratory tract (pharyngitis, tonsillitis, stomatitis), chronic bronchitis and as auxiliary in the treatment of peptic ulcers, among others. Studies on the species indicated the presence of phenolic compounds, flavonoids, iridoids, among others. In the present work the drying of *P. major* leaves was carried out at temperatures of 40, 60 and 80 °C. The drying process was monitored until the mass of the material reached a constant value. The drying time was inversely proportional to the temperature, which was already expected. It was possible to remove about 92% of the moisture at all temperatures in short drying times. The contents of phenolic compounds were quantified and the highest value was EtOH/H<sub>2</sub>O 30% extract from drying at 40°C with 0.7459 mg EAG 100 g<sup>-1</sup> sample. The conditions with the highest total flavonoid content were extractions with MeOH/H<sub>2</sub>O 5% solvents with dry tannage at 40 and 60°C and EtOH/H<sub>2</sub>O 5% with drying at 80°C. For the free radical sequestration method DPPH at a concentration of 10000 µg mL<sup>-1</sup> the extracts presented rapid kinetics and percent inhibition of the radical greater than 92% in the time of 30 minutes. At the concentration of 1000 µg mL<sup>-1</sup> in the time of 30 minutes, the extracts that presented the highest percentage of inhibition of the DPPH radical were EtOH /H<sub>2</sub>O 30% and MeOH/H<sub>2</sub>O 5%, with rapid kinetics. For the extracts activity against ABTS, at the concentration of 10000 µg mL<sup>-1</sup> the four extracts of the drying at 40°C presented higher percentages of inhibition of the radical. At the time of 30 minutes of reaction, the percentages of antioxidant activity ranged from 57.06% to 63.67%. Thus, by analyzing all the results obtained, it is possible to propose that the drying of the tansagem be carried out at a temperature of 40°C, and the extract prepared with MeOH/H<sub>2</sub>O 5% or EtOH/H<sub>2</sub>O 30%, and considering the lower toxicity of the Ethanol, it is used as the best solvent to extract its bioactive compounds.

Key words: RENISUS. Drying. Antioxidant activity. DPPH. ABTS.

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1-Compostos fenólicos presentes em <i>Plantago major</i> .....	16
Tabela 2- Flavonoides presentes e <i>Plantago major</i> .....	17
Tabela 3- Iridoides glicosilados presentes em <i>Plantago major</i> .....	19
Tabela 4- Terpenos isolados de <i>Plantago major</i> .....	20
Tabela 5- Secagem da <i>P. major</i> a diferentes temperaturas.....	35
Tabela 6- Resultados dos compostos fenólicos totais em mg EAG 100 g <sup>-1</sup> amostra para os diferentes extratos da tansagem.....	36
Tabela 7- Valor de flavonoides totais presentes nos extratos de tansagem em mg de rutina 100 g <sup>-1</sup> .....	38
Tabela 8- Estrutura e propriedades dos antioxidantes sintéticos.....	40
Tabela 9 – Percentual de inibição do radical DPPH dos padrões BHTe Ácido Ascórbico.....	40
Tabela 10 – Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de <i>Plantago major</i> na concentração de 10.000 µg mL <sup>-1</sup> nos tempos de 0, 5 e 30 minutos.....	41
Tabela 11 – Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de <i>Plamtago major</i> na concentração de 1.000 µg mL <sup>-1</sup> nos tempos de 0, 5 e 30 minutos.....	42
Tabela 12 – Percentual de inibição do radical ABTS dos diferentes extratos de <i>P. majoma</i> concentração de 10.000 µg mL <sup>-1</sup> .....	49



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: <i>Plantago major</i> .....	15
Figura 2 - Reação do ácido gálico com molibdênio VI, componente do reagente de Folin-Ciocalteu.....	22
Figura 3 - Cor característica em presença de fenólicos totais.....	22
Figura 4- Estrutura química dos principais tipos de flavonoides.....	24
Figura 5– Antioxidantes sintéticos comumente utilizados na indústria.....	25
Figura 6: Reação entre a radical de DPPH•e um antioxidante para formar DPPH reduzido.....	27
Figura 7: Atividade antioxidante do extrato avaliado pelo método do DPPH em 40°C em concentração de 10.000 µg mL <sup>-1</sup> .....	27
Figura 8–Ligação química do metanol com o radical DPPH• e o aumento da localização do elétron desemparelhado no átomo de nitrogênio (N•) do radical DPPH'.....	28
Figura 9: Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	29
Figura 10: Determinação da atividade antioxidante do extrato.....	29
Figura 11 - Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos.....	36
Figura 12 - Curva de rutina utilizada para a determinação de flavonóides.....	38
Figura 13-20 - Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (10.000 µg mL <sup>-1</sup> ) e (1.000 µg mL <sup>-1</sup> ) expressa em %AA versus tempo (minutos).....	43
Figura 21– Mecanismo de ação provável entre o radical DPPH e substâncias fenólicas (a- dimerização e b- estabilização do radical DPPH).....	48
Figura 22-25 - Curva cinética de captura do radical ABTS expressa em %AA versus tempo (minutos).....	48

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
2.1. OBJETIVO GERAL.....	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
3.1. SECAGEM.....	14
3.2. <i>PLANTAGO MAJOR</i> .....	14
3.3. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	21
3.3.1. FLAVONOIDES.....	23
3.4. ANTIOXIDANTES .....	24
3.5. MÉTODOS DE ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXADANTE.....	26
3.5.1. MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH .....	26
3.5.2. MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL ABTS .....	29
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>11</b>
4.1. COLETA E SECAGEM DAS FOLHAS.....	31
4.2. PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS.....	31
4.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS .....	31
4.4. DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FENÓIS TOTAIS .....	32
4.5. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH .....	33
4.6. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE ABTS.....	33
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>35</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>53</b>
<b>REFERÊNCIA.....</b>	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O emprego de plantas foi aumentando de geração em geração e, a partir do avanço da química orgânica, tornou-se capaz isolar os princípios ativos das mesmas (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006)

Assim, as plantas ainda mostram grandes contribuições para a manutenção da saúde, sendo a vegetação nativa explorada pela comunidade para o combate a doenças (SOUZA; FELFILLI, 2006).

Turolla e Nascimento (2006) afirmam que mesmo com o avanço dos fitoterápicos, pesquisas ainda são insatisfatórias para aprovação da eficácia e segurança do uso dessas plantas como medicamento, e muitas ainda são utilizadas apenas com suporte de cunho popular.

Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de 65 a 80% da população dos países em desenvolvimento depende das plantas medicinais para os cuidados primários com a saúde, devido às condições de pobreza e falta de acesso aos medicamentos (CALIXTO, 2000; SILVA, 2010).

O Ministério da Saúde (MS) com o intuito de aperfeiçoar pesquisas com plantas medicinais nativas divulgou no ano de 2009, a Relação Nacional de Plantas Medicinais de benefício ao SUS (RENISUS). Essa lista é constituída por 71 espécies vegetais, com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e com objetivo de serem pesquisadas para que sejam adotadas com segurança e eficácia gerando produtos de interesse do MS (CARVALHO, 2011). Dentre estas plantas encontra-se a tansagem (*Plantago major*), objeto de estudo deste trabalho.

*Plantago major* L. é uma planta de interesse medicinal pertencente à família Plantaginaceae, sendo conhecida popularmente como tanchagem, tansagem, transagem, tanchagem maior. Originada do norte da Europa e na Ásia Central, é agora distribuída em todo mundo (SAMUELSEN, 2000). É utilizada na medicina popular brasileira como diurética, antidiarreica, expectorante, hemostática e cicatrizante, sendo empregadas contra infecções das vias respiratórias superiores (faringite, amigdalite, estomatite), bronquite crônica e como auxiliar no tratamento de úlceras pépticas, entre outras. Seus constituintes químicos principais são compostos fenólicos (derivados do ácido

cafeico), flavonoides, alcaloides, terpenos, e vitamina C (POURMORAD, HOSSEINIMEHR, SHAHABIMAJD, 2006; SOURI, 2007).

Apresenta algumas propriedades terapêuticas como, atividade eantiinflamatória e hematoprotetora (OZBEK, 2009), hematopoiética (VELASCO-LEZAMA,2005), atividade diurética (SAMUELSEN, 2000), atividade antioxidante em neutrófilos (REINA, 2013), além de atividade no tratamento de leucemias, carcinomas,antiviral(*in vitro*) (CHIANG, 2001) e antiparasitária (*in vitro*) (SAGAIN, 2013).

As evidências sobre o efeito prejudicial dos radicais livres no organismo têm motivado cada vez mais as pesquisas em relação aos antioxidantes. O excesso de radicais livres no organismo exhibe efeitos maléficos, estando relacionados com várias patologias (HALLIWEEL et al., 1995).No metabolismo humano a oxidação é parte fundamental para o processo de obtenção de energia e assim, os radicais livres são produzidos naturalmente, ou ainda por alguma disfunção biológica.

O uso de secagem em plantas tem um papel importante, pois a secagem retira a água livre do material, resultando no aumento da vida útil do produto e na concentração de sua composição química (CARVALHO; COSTA; CARNELOSSI, 2010).

O presente trabalho teve como objetivo realizar a secagem da planta tansagem em três diferentes temperaturas, utilizar diferentes sistemas de solvente para extração dos compostos bioativos e analisar como esses fatores afetam seu potencial antioxidante e sua composição de fenólicos totais e flavonoides.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBEJTIVO GERAL

Realizar a secagem das folhas de tansagem (*Plantago major*) em três diferentes temperaturas, preparar quatro extratos utilizando diferentes misturas de solventes e analisar como a temperatura de secagem e o solvente extrator afetam na quantificação de fenóis totais e flavonoides e no potencial antioxidante.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a secagem das folhas de tansagem nas temperaturas de 40°C, 60°C e 80°C;
- Para cada secagem, preparar extratos utilizando etanol/água 5% e 30% (v/v) e metanol/água 5% e 30% (v/v);
- Determinar a quantidade de fenóis totais para cada extrato;
- Determinar a quantidade de flavonoides totais para cada extrato;
- Determinar a atividade antioxidante dos extratos pelos métodos de sequestro do radical livre DPPH e ABTS.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 SECAGEM

O consumo de plantas medicinais na sua forma fresca nem sempre é possível, por isso é importante a secagem da mesma, pois permite um processo de conservação eficaz quando bem conduzido. A perda de umidade da planta, ou seja, a desidratação retém a atividade enzimática, retardando o processo de deterioração e automaticamente preserva características que apontam a boa qualidade do material (Secretaria municipal, 2012).

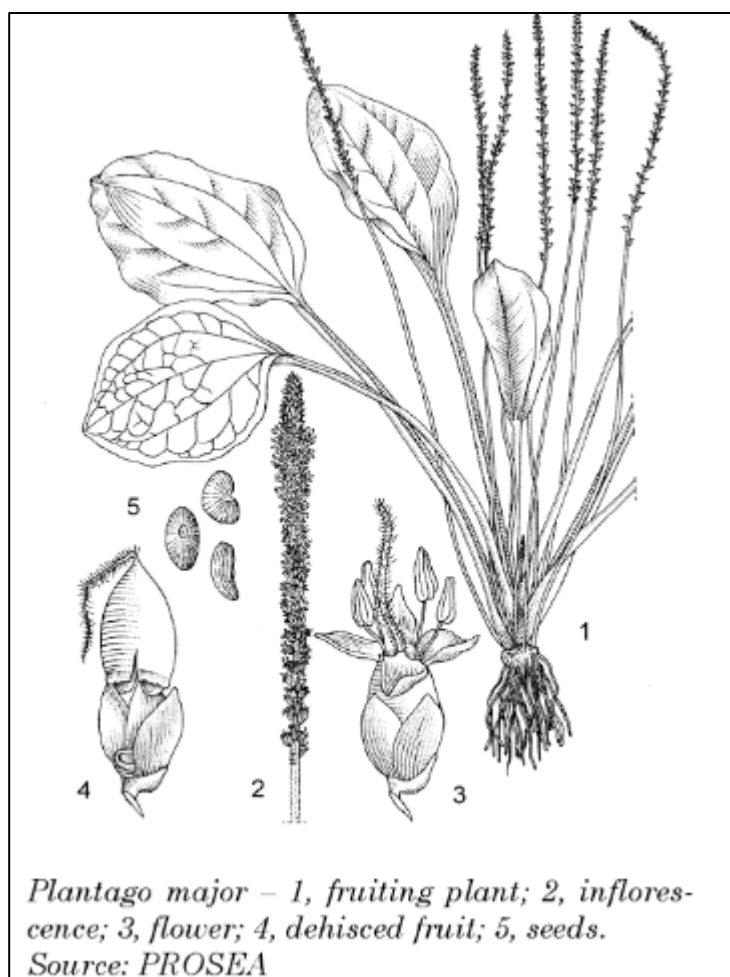
O processo de secagem tem a finalidade de inibir a água ou algum líquido de determinado material. Apresenta várias vantagens, pois devido à redução de peso e volume, o custo das embalagens, armazenamento e transporte são reduzidos, apresentando valores inferiores ao de mantimentos hidratados, principalmente quando se trata de hortaliças, além de aumentar a vida útil do produto (Secretaria municipal, 2012; EVANGELISTA, 2008; ORDÓÑEZ et al., 2007).

#### 3.2 *PLANTAGO MAJOR*

A família Plantaginaceae possui cerca de 90 gêneros e 2000 espécies (Albach et al., 2005; APG, 2016), que em virtude da diversificação evolutiva derivam nas mais variadas morfologias. No Brasil são descritos 25 gêneros e 130 espécies. Especificamente sobre o gênero *Plantago*, em torno de 250 espécies são conhecidas mundialmente, 16 com distribuição principalmente nas regiões temperadas, incluindo o sul e sudeste do Brasil. No Brasil existem 16 espécies do gênero *Plantago*, popularmente conhecidas como tansagem ou tanchagem, sendo seis dessas espécies endêmicas (SOUZA E HASSEMER, 2016).

*Plantago major* (Figura 1) é uma planta de aproximadamente 15 cm de altura. Possui folhas em forma de rosetas e variam de ovaladas a elípticas com enervação paralela. Suas flores são pequenas e disponíveis em longas espículas de até 25 cm que crescem na base da roseta. Suas sementes são ovais e pequenas sendo caracterizada por um sabor levemente amargo (SCHEMELZER,2008).

**Figura 1: *Plantago major***



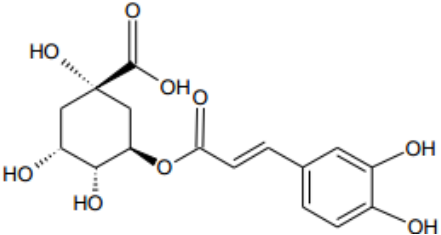
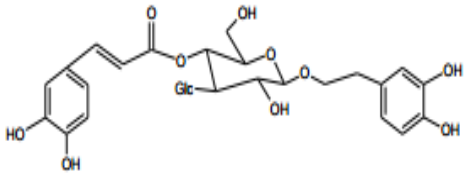
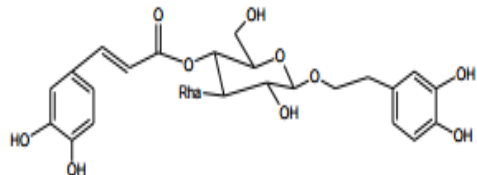
**Fonte: SCHEMELZER,2008**

É utilizada na medicina popular brasileira como diurética, antidiarreica, expectorante, hemostática e cicatrizante, sendo empregada contra infecções das vias respiratórias superiores (faringite, amigdalite, estomatite), bronquite crônica e como auxiliar no tratamento de úlceras pépticas, entre outras.

Em extratos das sementes da planta, os testes foram positivos para flavonoides, esteróis, taninos, carboidratos, saponinas, alcaloides e triterpenos (ATTA, 2004). Já para extratos das folhas os testes foram positivos para compostos fenólicos (BRAZ, 2011), flavonoides (CORDEIRO, 2005; CORDEIRO, 2006; ATTA, 2004; RODRIGUES, 2006), taninos (BRAZ, 2011; ATTA, 2004; ATTA, 2005), alcaloides (CORDEIRO, 2005; CORDEIRO, 2006; ATTA, 2005), triterpenos, carboidratos, lactonas/ésteres, proteínas/aminoácidos, antraquinonas reduzidas, cumarinas e esteroides livres (ATTA, 2005).

As Tabelas 1-4 apresentam as estruturas dos principais compostos isolados da tansagem, sendo compostos fenólicos (Tabela 1), flavonoides (Tabela 2), iridoídes (Tabela 3) e terpenos (Tabela 4).

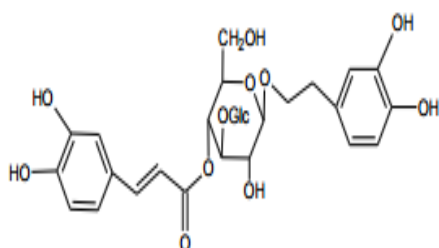
**Tabela 1 - Compostos fenólicos presentes em *P. major***

Estrutura	Parte da planta	Referência
<p>Ácido clorogênico</p> 	Partes aéreas	Rønsted et al., 2003
<p>Plantamajosídeo</p> 	Partes aéreas	Zubair et al., 2012
<p>Verbascosídeo (acteosídeo)</p> 	Folhas	Ravn&Brimer, 1988



2,4-diidroxi- $\beta$ -D-glicopiranosil (1 – 3)-4-O-cafeoil-  $\beta$ -D-glicopiranosídeo Folhas

Ravn et al., 1988



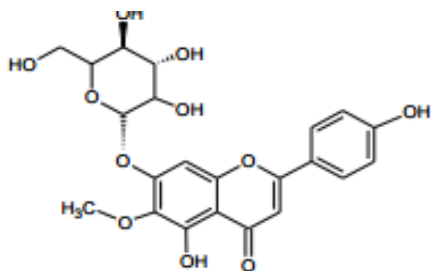
**Tabela 2- Flavonoides presentes em *P. major***

Estrutura	Parte da planta	Referência
<p>Apigenina-7glicosídeo</p>	Folhas e caule	Kawashty et al., 1994
<p>Baicaleína</p>	Folhas	Maksyutina et al., 1971
<p>Hispidulina</p>	Folhas e caule	Kawashty et al., 1994
<p>Hispidulina-7-glicoronídeo</p>	Folhas e caule	Kawashty et al., 1994

Hispidulina-7-glicosídeo

Folhas e caule

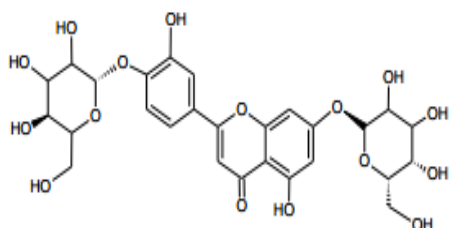
Kawashty et al., 1994



Luteolina-7-diglicosídeo

Folhas e caule

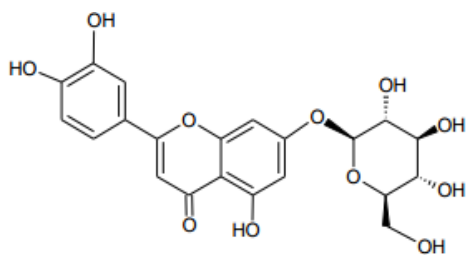
Kawashty et al., 1994



Luteolina-7-glucosídeo

Folhas e caule

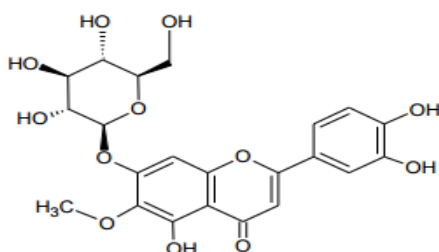
Kawashty et al., 1994



Nepetina-7-glicosídeo

Folhas e caule

Kawashty et al., 1994



Escutelareína

Folhas

Maksyutina et al., 1971

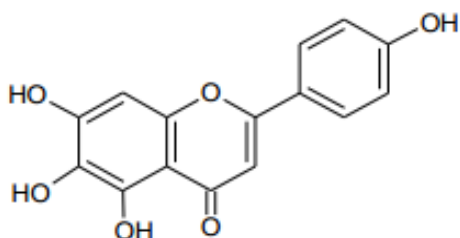


Tabela 3- Iridoides glicosilados presentes em *P. major*

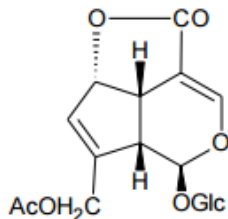
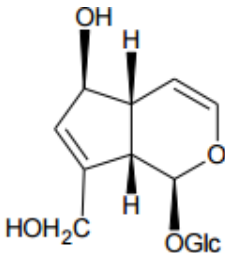
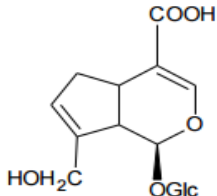
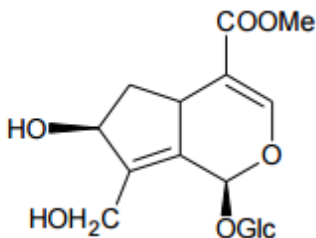
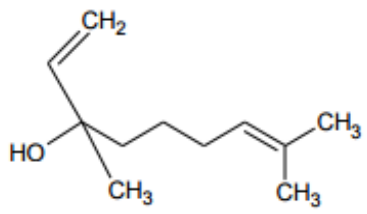
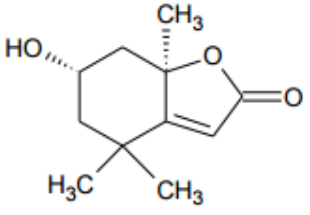
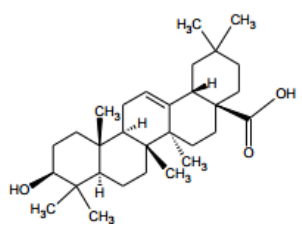
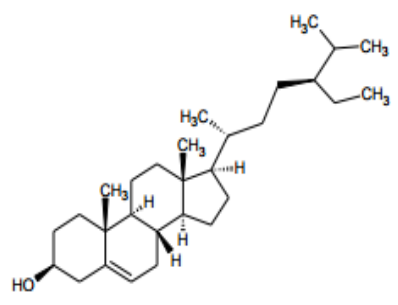
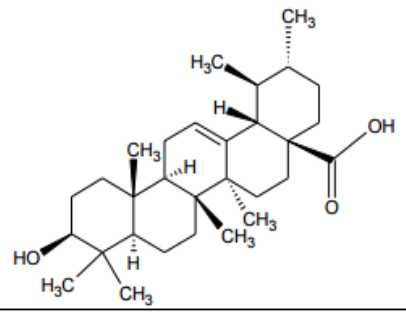
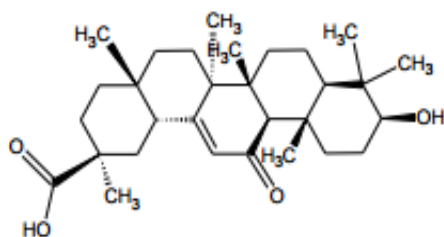
Estrutura	Parte da planta	Referência
	Flor	Bianco et al., 1984
	Folhas	Taskova et al., 2002
	Partes aéreas	Murai et al., 1996
	Partes aéreas	Taskova et al., 2002

Tabela 4- Terpenos isolados de *P. major*

Estrutura	Parte da planta	Referência
<p>Linalol</p> 	Planta inteira	Chiang et al., 2003
<p>Loliolida</p> 	Folhas	Pailer&Haschke-Hofmeister, 1969
<p>Ácido oleanólico</p> 	Folhas	Abud et al., 2012
<p>Sitosterol</p> 	Partes aéreas	Kolak et al., 2011
<p>Ácido ursólico</p> 	Folhas e caule	Ringbom et al., 1998



Foram isolados ainda os polissacarídeos como a pectina (OLENNIKOV, 2005), em menor quantidade os ácidos orgânicos, ácido tartárico, ácido cítrico e ácido succínico, bem como alguns compostos não-aromáticos (OLENNIKOV, 2005).

Nos estudos da proporção lipídica de extratos das folhas, foram encontrados ácidos graxos como ácido oléico, palmítico e linoléico (LIU et al, 2002). Nas sementes, além destes ácidos graxos, inclui-se o esteárico (AHMAD, SHAMIM OSMAN, 1980).

### 3.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos (Tabela 1) são um grupo diversificado de moléculas, classificados como metabolitos secundários em plantas que tem uma grande variedade de estruturas e funções. Eles podem ser classificados em compostos solúveis em água (ácidos fenólicos, fenilpropanoides, flavonoides e quinonas) e compostos insolúveis em água (taninos condensados, ligninas e ácidos hidroxicinâmicos) (RISPAIL et al., 2005).

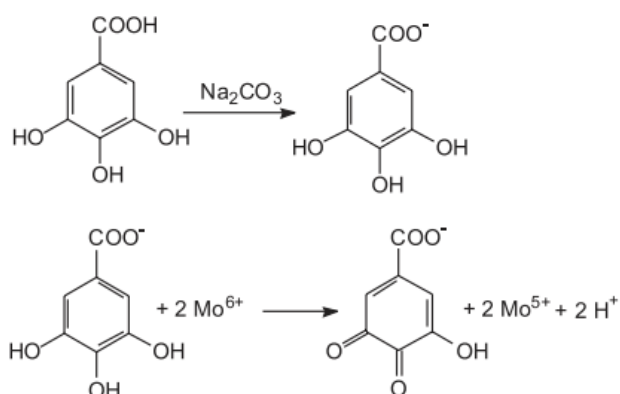
Estas substâncias são sintetizadas durante o desenvolvimento normal da planta, bem como em resposta a diferentes situações, tais como o stress e radiação UV (NACZK, SHAHIDI, 2004).

Suas ações fisiológicas já foram relacionadas à prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, câncer, entre outras (HERNÁNDEZ; PRIETO GONZÁLES, 1999; SCALBERT; JOHNSON; SALTMARSH, 2005; SOUZA et al., 2007).

Os compostos fenólicos têm um anel aromático tendo um ou mais grupos hidroxila e a sua estrutura pode variar desde a de uma molécula fenólica simples a um complexo polimérico de elevado peso molecular em massa (BALASUNDRAM et al., 2006).

Na reação entre o padrão ácido gálico e o reagente Folin-Ciocalteu ocorre inicialmente a desprotonação do ácido gálico (composto fenólico) em meio básico, gerando os ânions fenolatos. A partir daí, ocorre uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin, na qual, o molibdênio, componente do reagente de Folin, sofre redução e o meio reacional muda de coloração amarela para azul (Figura 2-3) (OLIVEIRA et al, 2007; VEDANA, 2008).

**Figura 2- Reação do ácido gálico com molibdênio VI, componente do reagente de Folin-Ciocalteu**



Fonte: OLIVEIRA et al (2007).

**Figura 3 - Cor característica em presença de fenólicos totais**



Fonte: VEDANA (2008)

### 3.3.1 FLAVONOIDES

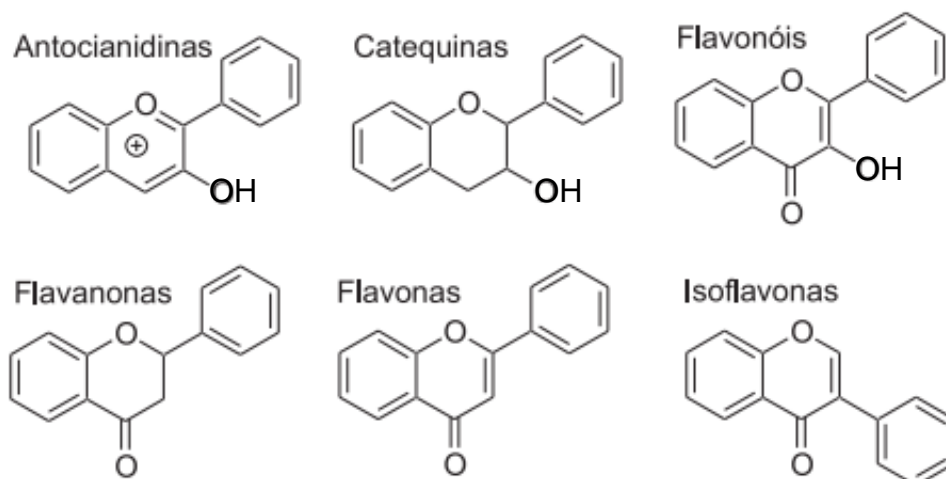
Os flavonoides fazem parte do grupo dos compostos fenólicos e são produzidos por uma imensa variedade de vegetais, podendo ser encontrados principalmente nas raízes, galhos, folhas e sementes das plantas, sendo formados por diversos metabólitos secundários e atuando como instrumento de defesa das plantas (BAPTISTA; SIQUEIRA, 1994).

Os flavonoides não são sintetizados pelo organismo humano, portanto, esses compostos devem ser obtidos através da dieta, por meio da ingestão de alimentos que possuem esse tipo de composto presente em sua composição (MACHADO et al., 2008).

Entre os antioxidantes presentes nos vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os flavonoides. São encontrados em frutas, vegetais, grãos, flores, plantas, chá e vinhos (NIJVELDT, 2001), além de serem conhecidos também por atuar como agentes colorantes em flores de plantas, assim como em alimentos. Por apresentar importante atividade biológica e fisiológica, pesquisadores têm estudado as propriedades desses compostos (DAVIES; STUMPF, 1981; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002; KUMAR; PANDEY, 2013).

São antioxidantes eficientes por suas propriedades sequestrantes de radicais livres e por quelar íons metálicos, protegendo os tecidos dos radicais livres (BEHLING, 2004). São classificados em várias subclasses (Figura 2), incluindo flavonas, flavonóis, flavanonas, isoflavanas, antocianidinas e catequinas, frequentemente hidroxilados nas posições 3, 5, 7, 3', 4' e/ou 5' (MARTÍNEZ et al., 2002).

Figura 4- Estrutura química dos principais tipos de flavonoides.



Fonte: MARÇO et al. (2008)

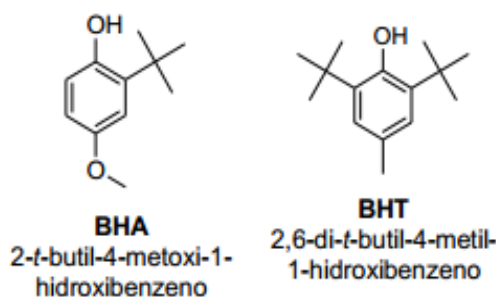
### 3.4 ANTIOXIDANTES

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos (SIES, 1993). Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células.

Antioxidantes sintéticos como butil-hidroxi tolueno (BHT) e hidroxianisolebutilado (BHA) (Figura 3) estão sendo substituídos por antioxidantes naturais devido sua baixa solubilidade e seus efeitos negativos para saúde. Os antioxidantes naturais provem de chás, vinhos, frutas legumes, especiarias e plantas medicinais (POURMORAD, HOSSEINIMEHR, SHAHABIMAJD, 2006).



Figura 5– Antioxidantes sintéticos comumente utilizados na indústria.



Fonte: OLIVEIRA (2011)

Os antioxidantes são substâncias que quando presente em pequenas concentrações, comparadas a de um substrato oxidável, diminui ou bloqueiam as reações de oxidação deste substrato. No corpo humano encontram-se múltiplas enzimas causadoras da atividade antioxidante no organismo, destacando-se a glutationaperoxidase (GPx) que faz parte da primeira defesa endógena de neutralização das espécies reativas de oxidação (EROS), superóxido dismutase (SOD), a catalese (CAT). Por meio destas enzimas, as células têm a função de reduzir as quantidades do radical superóxido, impedindo assim a formação do radical hidroxil. As defesas não enzimáticas são feitas principalmente por antioxidantes, um exemplo sendo a vitamina A, vitamina C e vitamina E (OLIVEIRA et al., 2009).

As evidências sobre o efeito prejudicial dos radicais livres no organismo têm motivado cada vez mais as pesquisas em relação aos antioxidantes. Os radicais livres contribuem para mais de uma centena de distúrbios em seres humanos, incluindo a aterosclerose, artrite, isquemia de muitos tecidos, lesões do sistema nervoso central, gastrite, câncer e AIDS (POURMORAD, HOSSEINIMEHR, SHAHABIMAJD, 2006)

No corpo humano, no que diz respeito ao metabolismo, a oxidação é parte fundamental para o processo de obtenção de energia e assim, os radicais livres são produzidos espontaneamente, ou ainda por alguma disfunção biológica. Os efeitos prejudiciais dos mesmos devem-se ao fato de que os radicais livres apresentam um elétron desemparelhado centrado nos átomos de oxigênio (ERO – Espécie Reativa de Oxigênio) ou nitrogênio (ERN – Espécie Reativa de Nitrogênio) (VISIOLI; KEANEY JR; HALLIWELL, 2000);

As principais formas de ERO se dividem em dois grupos principais, os radicalares: hidroxila ( $\text{HO}\cdot$ ), superóxido ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ), peroxila ( $\text{ROO}\cdot$ ) e alcóxila ( $\text{RO}\cdot$ ); e os não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Nas ERN estão presentes o óxido nítrico ( $\text{NO}\cdot$ ), óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ), nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) e peroxinitritos ( $\text{ONOO}^-$ ) (HALLIWELL, 1999; HALLIWELL, 1995; CADET et al, 1999). Enquanto parte deles são altamente reativos no organismo atacando lipídios, proteínas e DNA, outros são reativos apenas com os lipídios. Existem outros ainda, que são poucos reativos, mas podem gerar danos (BARREIROS; DAVID, DAVID 2006).

### 3.5 MÉTODOS DE ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

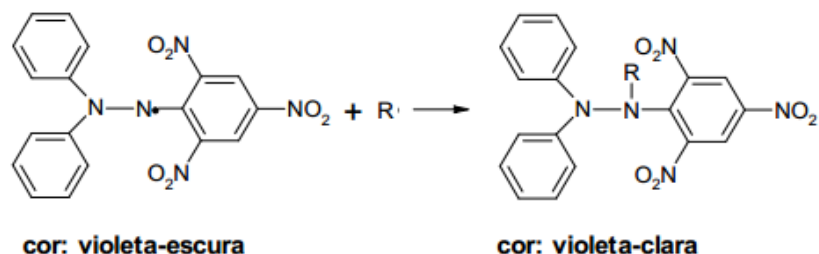
A atividade antioxidante em compostos orgânicos deve ser medida por mais de um método, pois os métodos podem gerar resultados muito divergentes por causa da sensibilidade de cada composto. Entre os métodos mais utilizados estão o método de sequestro de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e ABTS (2,2 - azinobis 3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (MÜLLER et al., 2011; ANTOLOVICH, 2002, SCHAICH; XIE, 2015).

#### 3.5.1 Método de sequestro do radical livre DPPH

O teste DPPH• é um dos métodos mais frequentemente utilizado para a determinação da atividade antioxidante de produtos naturais e compostos individuais. O consumo de DPPH• é um índice para estimar a capacidade antioxidante na captura de radicais livres presentes no meio (STRATIL et al., 2006; VILLAÑO et al., 2007). Sendo um dos mais utilizados, pois ele é considerado um método rápido, prático e fácil de ser neutralizado (ROGINSKY; LISSI, 2005). Uma das características principais desse método é que ele não envolve condições drásticas de temperatura e oxigenação (SILVA et al, 1999).

O DPPH• (Figura 6) é um radical estável que reage com compostos doadores de hidrogênio e tem um máximo de absorção UV-Vis dentro do intervalo de 515-520 nm (BRAND-WILLIAMS et al, 1995).

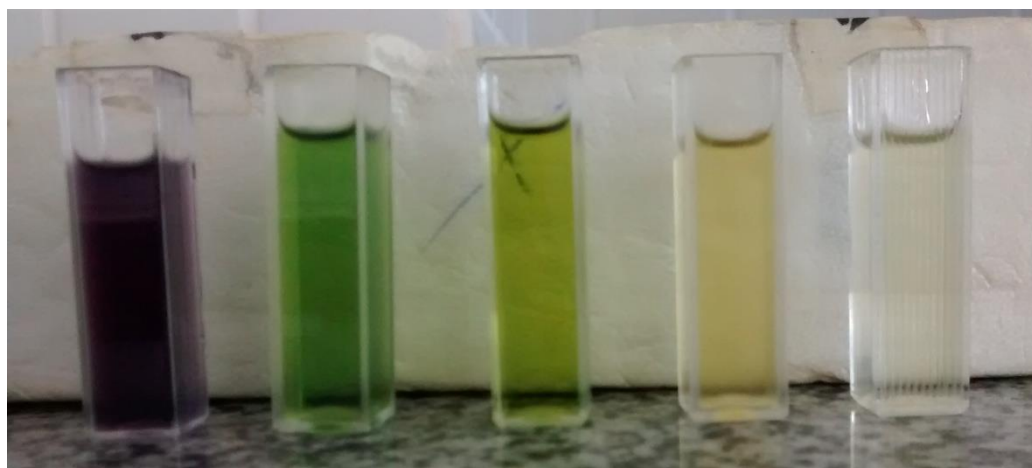
**Figura 6 - Reação entre a radical de DPPH<sup>•</sup> e um antioxidante para formar DPPH reduzido.**



**Fonte: RUFINO et al., (2007)**

De acordo com Blois (1958) e Arnao (2000), o radical livre DPPH é um cromóforo de elevada estabilidade que apresenta um pico de absorção no comprimento de onda de 515 nm em meio alcoólico e sua solução possui uma coloração violeta intensa. A coloração da solução de DPPH em contato com as amostras passa para a coloração amarela. A intensidade da cor varia de acordo com a concentração, conforme mostra Figura 7.

**Figura 7: Atividade antioxidante do extrato avaliado pelo método do DPPH em 40°C em concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup>.**



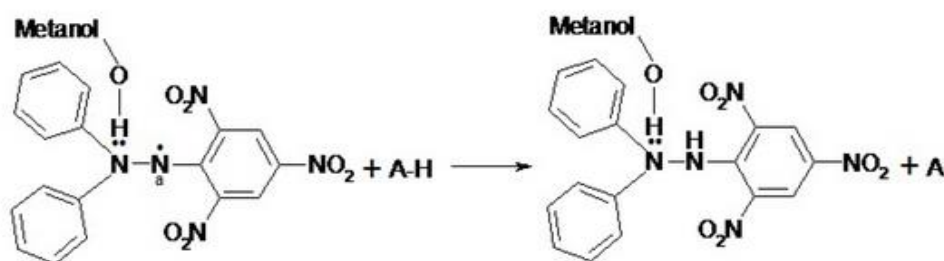
**Fonte: Autoria própria**

A atividade antioxidante quantifica a reação entre o radical DPPH e o composto antioxidante, que reduz o radical orgânico nitro gerando a sua respectiva hidrazina. Devido o impedimento estérico presente na molécula, os compostos antioxidantes possuem difícil alcance ao radical, assim, moléculas

menores terão melhor acesso ao radical e em consequência disso maior atividade antioxidante (FRANÇA, 2011).

Alguns aspectos podem limitar o método, como o tipo de solvente utilizado para dissolver o radical. Em meios alcoólicos a reatividade do radical com o composto antioxidante aumenta, pois, o próprio solvente doa um átomo de hidrogênio, aumentando a solubilidade e a taxa de transferência de hidrogênio para o nitrogênio que se encontra ligado a dois anéis aromáticos (Figura 8). Dessa forma o radical é estabilizado sobre o átomo de nitrogênio, aumentando a reatividade entre o antioxidante e o radical (OLIVEIRA, 2015).

**Figura 8 –Ligação química do metanol com o radical DPPH• e o aumento da localização do elétron desemparelhado no átomo de nitrogênio (N•) do radical DPPH•**

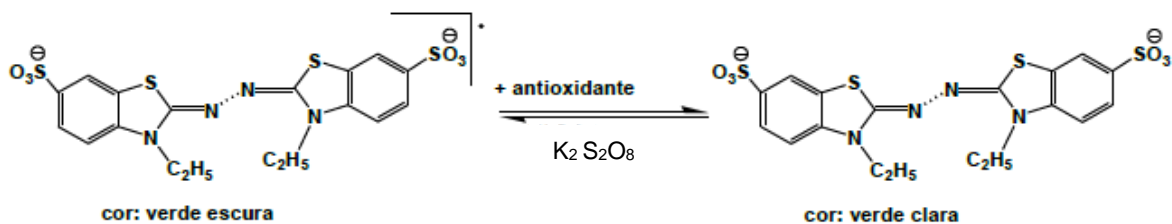


Fonte: OLIVEIRA (2015)

### 3.5.2 Método de sequestro do radical ABTS

Outro método que pode ser utilizado para medir a atividade antioxidante é o teste ABTS, que é caracterizado pela captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-acido sulfônico) (ABTS•+) (Figura 9). Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (KUSKOSKI et al., 2005).

**Figura 9 - Estabilização do radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.**



Fonte: CAMPOS e LISSI (1997).

A coloração do ABTS é azul esverdeada como pode ser visto na figura 10, quando a reação ocorre na ausência de pigmentos, como no caso dos padrões, o líquido passa do azul esverdeado forte para praticamente transparente. Como o *P. major* apresenta pigmentos, a coloração final ficou levemente amarelada.

Figura 10- Determinação da atividade antioxidante do extrato



Fonte: VEDANA (2008)

O radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  é produzido a partir de um precursor, o ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico. O radical ABTS é um composto cromóforo quimicamente estável, apresenta alta solubilidade em água e um máximo de absorvância a 734nm (MILLER et al., 1993; ANTOLOVICH, 2002).

O método do  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion  $\text{ABTS}^{\bullet+}$ . Esta captura provoca um decréscimo na absorvância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos, sendo representadas graficamente. A vantagem desse teste

consiste na sua relativa simplicidade que permite a aplicação de rotina de qualquer laboratório (PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 COLETA E SECAGEM DAS FOLHAS DE TANSAGEM

A amostragem das folhas de *P. major* (tansagem) foi coletada no Colégio Agrícola Manoel Ribas de Apucarana.

A secagem das folhas da tansagem foi realizada em estufa de circulação de ar nas temperaturas de 40, 60 e 80° C até seu peso permanecer constante. Após a secagem, os produtos desidratados foram triturados, armazenados e mantidos em geladeira para a realização das análises químicas.

### 4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Os produtos desidratados foram submetidos à extração com os seguintes solventes: etanol/água 5% e 30% (v/v), metanol/água 5% e 30% (v/v). Para a extração foram utilizadas 1,00 g das folhas e 100 mL de cada solvente, durante 24 horas sob agitação magnética ao abrigo da luz. Após este tempo, os extratos foram filtrados para balões volumétricos de 100 mL e o volume ajustado. Os extratos foram armazenados sob refrigeração ao abrigo da luz para análises posteriores.

### 4.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE FLAVONOIDES TOTAIS

Os flavonoides totais foram determinados segundo a metodologia proposta por Woisky e Salatino(1998). Foram pipetados 2,0 mL de cada extrato na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em tubos de ensaio individualmente. Adicionou-se em seguida, 1,0 mL de reagente metanol-cloreto de alumínio a 5% e 2,0 mL de metanol. Preparou-se um branco utilizando 4,0 mL de metanol

e 1,0 mL de metanol-cloreto de alumínio 5%. As leituras foram realizadas após 30 minutos, a 425 nm em espectrofotômetro Agile Technologies, modelo Cary 60 UV-vis. Uma curva de calibração foi preparada com uma solução metanólica de rutina nas concentrações de 25, 50, 75, 100, 125, 150 e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Os resultados foram expressos em mg de rutina por grama de extrato.

#### 4.4 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FENÓIS TOTAIS

O conteúdo de fenóis totais dos quatro extratos preparados, etanol/água 5% e 30% (v/v), metanol/água 5% e 30% (v/v), foi determinado usando o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia descrita por Swain e Hills (1959). Foram adicionados 0,5 mL do extrato, 8,0 mL de água e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu a um tubo de ensaio. Agitou-se em vortex e após 3 minutos adicionou-se 1,0 mL de uma solução de carbonato de sódio saturada 15%. Foi conduzido um branco nas mesmas condições, substituindo a amostra por 0,5 mL do solvente extrator. Após uma hora as leituras foram realizadas em espectrofotômetro Agile Technologies, modelo Cary 60 UV-vis na absorvância de 760 nm.

Uma curva padrão de ácido gálico nas concentrações de 100, 80, 60, 40, 20, 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  foi construída e os resultados foram expressos em mg EAG.100  $\text{g}^{-1}$  de amostra, onde EAG representa o equivalente em ácido gálico.



#### 4.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE DPPH

Para determinação da atividade antioxidante dos extratos etanol/água 5% e 30% (v/v), metanol/água 5% e 30% (v/v), foi utilizada uma solução 60  $\mu\text{M}$  de DPPH(2,2-difenil-1-picrilhidrazil) em metanol (MeOH HPLC). Em uma cubeta adicionou-se 2,0 mL de amostra na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  e 2,0 mL da solução do radical DPPH. Para o controle positivo foram adicionados 2,0 mL de MeOH HPLC e 2,0 mL da solução do radical, enquanto que para o branco da amostra, adicionou-se 2,0 mL de MeOH e 2,0 mL da solução do extrato. A seguir foram realizadas as leituras a cada um minuto em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 517 nm, durante 30 minutos (BRAND-WILLIAMS et al., 1995, MILIAUSKAS et al., 2004). A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle positivo, de acordo com a equação (1), na qual ( $A_c$ ) representa a absorbância do controle positivo, ( $A_b$ ) a absorbância do branco e ( $A_a$ ) representa a absorbância da amostra. Foi utilizado como padrão o BHT (butil-hidroxi-tolueno) e ácido ascórbico a uma concentração de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

$$AA\% = \frac{A_c - (A_a - A_b)}{A_c} \quad (1)$$

#### 4.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DE SEQUESTRO DO RADICAL LIVRE ABTS

A atividade antioxidante dos extratos etanol/água 5% e 30% (v/v), metanol/água 5% e 30% (v/v) foi determinada segundo a metodologia de Rufino et al. (2007), adaptada de Larrauri et al. (1997). O radical ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) foi preparado a partir da reação 5,0 mL da solução estoque de ABTS (192,0 mg de ABTS em 50,0 mL de água destilada) e 88  $\mu\text{g mL}^{-1}$  da solução de persulfato de potássio (378,4

mg de potássio em 10,0 mL de água). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente, por 16 horas. A seguir a mistura foi diluída até obter uma absorvância de 0,70 nm a 734 nm. Preparou-se no dia da análise.

Os extratos foram preparados nas concentrações de 1.000 µg mL<sup>-1</sup> em uma alíquota de 33,0 µL de cada extrato foi reagida com 3,0 mL do radical ABTS<sup>•+</sup> (3-étilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico). Foram realizadas as leituras a cada um minuto em espectrofotômetro Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-vis a 734 nm, durante 30 minutos. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle positivo, de acordo com a equação (2), na qual (A<sub>c</sub>) representa a absorvância do controle positivo e (A<sub>a</sub>) representa a absorvância da amostra e (A<sub>b</sub>) a amostra do branco.

$$AA\% = \frac{A_c - (A_a - A_b)}{A_c} \quad (2)$$

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados foram obtidos através da média de três repetições ± desvio padrão e foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05), com comparações múltiplas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Graph Pad In Stat, Versão 3.02 (1998).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Alguns compostos bioativos apresentam-se sensíveis à temperatura, degradando-se, desta forma é importante analisar como a secagem em diferentes temperaturas afeta estes compostos.

A secagem das folhas de *P. major* foi realizada nas temperaturas de 40, 60 e 80 °C. A Tabela 5 apresenta os valores de umidade e tempo de secagem em cada temperatura. O processo de secagem foi monitorado até que massa do material estivesse constante.

O tempo de secagem foi inversamente proporcional à temperatura, o que já era esperado. Foi possível remover cerca de 92% da massa umidade para todas as temperaturas, em tempos curtos de secagem.

Os valores de umidade estão de acordo com o valor máximo permitido pela ANVISA para chás, de 12%, indicando que está em condições adequadas para o controle de microrganismos e possível degradação química causadas pelo excesso de umidade (BRASIL, 1978).

**Tabela 5 – Secagem da *P. major* a diferentes temperaturas**

Temperatura	Massa seca (%)	Tempo de secagem (horas)
40°C	8,0	5,2
60°C	7,7	2,1
80°C	7,6	1,5

Fonte: Autoria própria

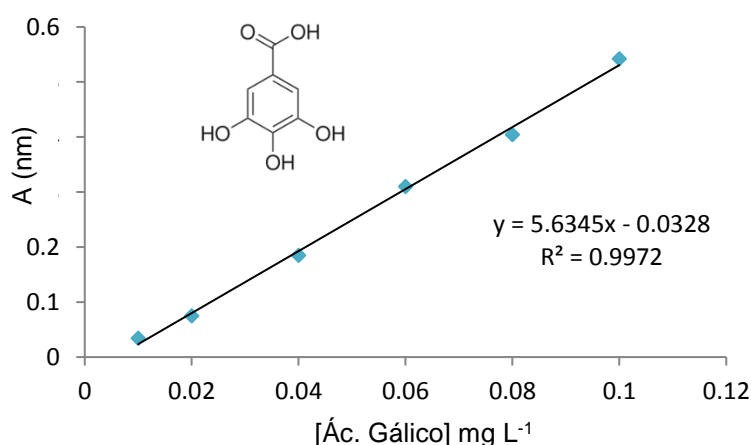
### 5.1 DETERMINAÇÃO DE FENOIS TOTAIS

Os compostos fenólicos estão intimamente ligados à ação antioxidante em produtos naturais. Fatores como maturação, espécie, método de cultivo, origem geográfica, condições de colheita, processos de armazenamento e

processamento, podem influenciar no teor destes compostos (SILVA et al., 2012).

O conteúdo de fenólicos totais baseado no poder redutor dos diferentes extratos da tansagem desidratada em diferentes temperaturas, com concentração de  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ , estão apresentados na Tabela 6 e foram calculados utilizando a equação da reta obtida para o ácido gálico (Figura 11) e expresso em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de tansagem ( $\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$ ).

Figura 11 - Curva padrão de ácido gálico para determinação de compostos fenólicos



Fonte: TEIXEIRA(2015)

Tabela 6 – Resultados dos compostos fenólicos totais em  $\text{mg EAG } 100 \text{ g}^{-1}$  amostra para os diferentes extratos da tansagem

Solvente (v/v)	40 °C	60 °C	80 °C
EtOH/H <sub>2</sub> O 5%	$0,6135 \pm 0,0025^{\text{b}, \text{B}}$	$0,2365 \pm 0,0024^{\text{d}, \text{G}}$	$0,2563 \pm 0,0075^{\text{c}, \text{G}}$
EtOH/H <sub>2</sub> O 30%	$0,7459 \pm 0,0372^{\text{a}, \text{A}}$	$0,4743 \pm 0,0099^{\text{a}, \text{C}, \text{D}}$	$0,3258 \pm 0,0078^{\text{b}, \text{F}}$
MeOH/H <sub>2</sub> O 5%	$0,6631 \pm 0,0386^{\text{b}, \text{B}}$	$0,3855 \pm 0,0237^{\text{b}, \text{E}}$	$0,4217 \pm 0,0161^{\text{a}, \text{D}, \text{E}}$
MeOH/H <sub>2</sub> O 30%	$0,5086 \pm 0,0120^{\text{c}, \text{C}}$	$0,2851 \pm 0,0217^{\text{c}, \text{F}, \text{G}}$	$0,2743 \pm 0,0034^{\text{c}, \text{F}, \text{G}}$

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=6).

a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

A, B – Letras iguais indicam que não há diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

O teor de compostos fenólicos totais na tansagem em amostra seca revelou o solvente EtOH/H<sub>2</sub>O 30% da secagem a 40 °C o mais eficiente na extração destes compostos, com valor de 0,7459 mg EAG 100 g<sup>-1</sup>.

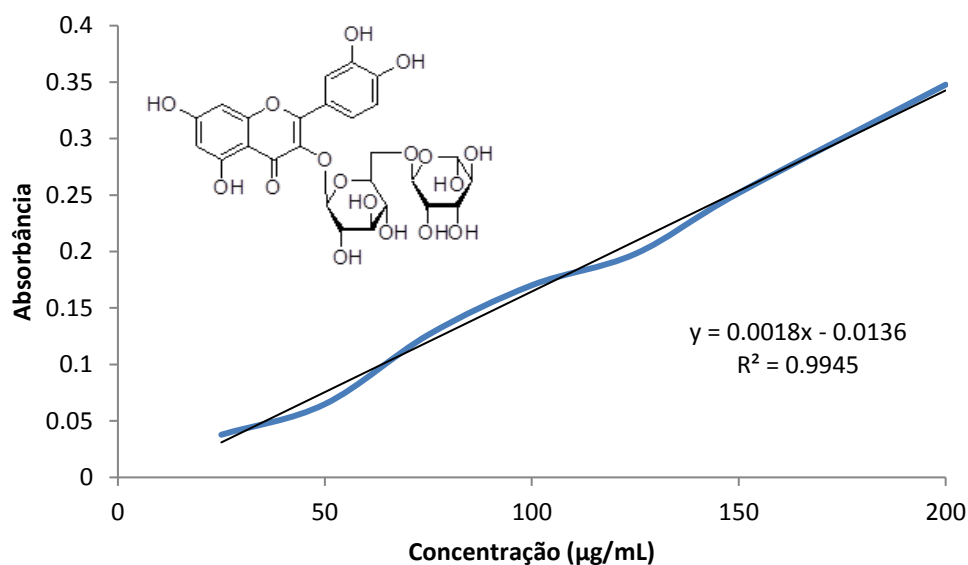
Comparando-se as temperaturas de secagem e os mesmos solventes extratores, a temperatura de 40°C apresentou maior quantidade de compostos fenólicos para todos os solventes, demonstrando a influência da temperatura na estabilidade dos compostos fenólicos da tansagem.

Comparando-se a eficiência dos solventes, EtOH/H<sub>2</sub>O 30% e MeOH/H<sub>2</sub>O 5% foram o mais eficiente para as temperaturas de 40 e 60°C e MeOH/H<sub>2</sub>O 5% o mais eficiente para a temperatura de 80°C. Os solventes EtOH/H<sub>2</sub>O30%na temperatura de 80°C e MeOH/H<sub>2</sub>O30% nas temperaturas de 60 e 80°C, foram os menos eficientes na extração de fenóis, não apresentando diferenças significativas entre seus valores.

Estudos recentes demonstraram que para o gengibre desidratado o maior conteúdo de fenóis foi extraído com MeOH/H<sub>2</sub>O 30% e seco a 80°C (CAMARGO,2016), demonstrando a importância de se estudar esses fatores para diferentes matrizes, uma vez que cada matriz apresenta mais especificidades.

A Tabela 7 apresenta os teores de flavonoides totais obtidos no presente estudo, os quais foram calculados utilizando a equação da reta obtida para o ácido gálico (Figura 12) e expresso em miligramas de equivalentes de rutina por 100 gramas de tansagem.

Figura 12 – Curva de rotina utilizada para a determinação de flavonoides



Fonte: CAMARGO, 2016

Tabela 7 – Valor de flavonoides totais presentes nos extratos de tansagem em mg de rutina 100 g<sup>-1</sup>

Solvente	40 °C	60 °C	80 °C
EtOH/H <sub>2</sub> O 5%	283,41 ± 12,60 <sup>b, C, D</sup>	311,60 ± 6,26 <sup>b, B, C</sup>	338,57 ± 0,85 <sup>a, A, B</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30%	275,18 ± 14,16 <sup>b, D</sup>	116,07 ± 8,74 <sup>c, F</sup>	125,73 ± 12,04 <sup>c, F</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5%	356,58 ± 2,60 <sup>a, A</sup>	346,37 ± 4,45 <sup>a, A</sup>	242,27 ± 23,08 <sup>b, E</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30%	12,17 ± 7,57 <sup>c, G</sup>	33,8 ± 7,54 <sup>d, G</sup>	n.d

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3). n.d. = não determinado

a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

A, B – Letras iguais indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

As condições que apresentaram maior teor de flavonoides totais foram às extrações realizadas com os solventes MeOH/H<sub>2</sub>O 5% com a tansagem seca a 40 e 60°C e EtOH/H<sub>2</sub>O 5% com a tansagem seca a 80°C, não apresentando diferenças significativas através do teste de Tukey entre seus valores. Estes dados nos mostram que os flavonoides da tansagem não sofreram degradação significativa com o aumento da temperatura. Não foi possível determinar o valor de flavonoides para o extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 30%, os valores de absorvância encontrados foram negativos em diversas tentativas de

testes. Foi este também, o solvente menos efetivo para a secagem a 40 e 60°C, não apresentando diferenças significativas entre seus valores.

Estudos demonstraram que o extrato preparado com o solvente MeOH/H<sub>2</sub>O 5% preparado com o gengibre desidratado a 40°C apresentou maior conteúdo de flavonóides (CAMARGO,2016).

## 5.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos extratos da *P. major*(metanol/água 5% e 30% e etanol/água 5 e 30% foi determinada pelos métodos de sequestro os radicais livres DPPH em concentrações 10.000 e 1.000 µg mL<sup>-1</sup> e ABTS em concentrações de 10.000 µg mL<sup>-1</sup>.

### 5.2.1 Método de sequestro do radical livre DPPH

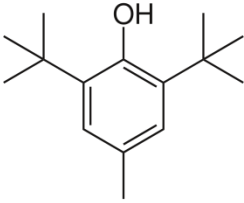
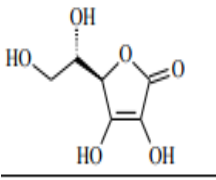
Nesse cenário, a análise cinética realizada para a determinação de atividade antioxidante é extremamente importante, visto que devido às interferências que podem sobrevir com o radical e a possibilidade dele degradar-se rapidamente, faz se necessário acompanhar as reações cinéticas com a finalidade de conhecer o comportamento da amostra frente o radical (PRADO, 2009).

Segundo Sánchez-Moreno, Larrauri e Saura-Calixto (1998), o comportamento cinético do composto pode ser classificado de acordo com o tempo de consumo de 50% do radical DPPH (TC<sub>50</sub>). Quando TC<sub>50</sub> é menor que 5 minutos a cinética é classificada como **rápida**, **intermediária** se TC<sub>50</sub> está entre 5 e 30 minutos ou **lenta** quando TC<sub>50</sub> apresenta-se maior do que 30 minutos.

As figuras 13-20) exibem o comportamento do radical DPPH: frente às soluções dos extratos MeOH/H<sub>2</sub>O 5% e 30% e EtOH/H<sub>2</sub>O 5 e 30%, em concentrações de 10.000 µg mL<sup>-1</sup> e 1.000 µg mL<sup>-1</sup> analisando-se o tempo *versus* a porcentagem de atividade antioxidante (%AA).

Adotaram-se o BHT e o ácido ascórbico como compostos padrões expressos na tabela 8 na concentração de  $100 \mu\text{g mL}^{-1}$  e adotou-se na Tabela 9 como padrão para as análises antioxidantes. A tabela 10 apresenta os valores obtidos de porcentagem de atividade antioxidante frente ao sequestro do radical DPPH.

**Tabela 8– Estrutura e propriedades dos antioxidantes sintéticos.**

Antioxidante	Estrutura	Natureza	Cinética	Caráter
BHT		Sintético	Lenta	Lipofílico
Ácido ascórbico		Ambos	Rápida	Hidrofílico

**Tabela 9 – Percentual de inibição do radical DPPH dos padrões BHTe Ácido Ascórbico**

Tempo (min.)	BHT	Ácido Ascórbico
0,0	$13,7 \pm 0,68$	$94,7 \pm 1,24$
5,0	$17,1 \pm 0,69$	$95,9 \pm 1,11$
10,0	$20,4 \pm 0,35$	$96 \pm 1,1$
20,0	$26,5 \pm 0,09$	$96 \pm 1,1$
30,0	$32,2 \pm 0,18$	$96 \pm 1,1$

Fonte: CAMARGO, 2016

As Tabelas 10 e 11 apresentam a porcentagem de atividade antioxidante para os extratos da tansagem na concentração de  $10.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  frente o radical DPPH nos tempos de 0, 5 e 30 minutos.



**Tabela 10 – Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de *P. majoma* concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup> nos tempos de 0, 5 e 30 minutos.**

<b>Solvente/T (min)</b>	<b>40° C</b>	<b>60°C</b>	<b>80°C</b>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=0	98,42± 0,31 <sup>a, b, c</sup>	78,37±1,13 <sup>d</sup>	65,88±1,06 <sup>d</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=5	99,1±0,46 <sup>a, b</sup>	86,72±0,17 <sup>c</sup>	76,81±0,31 <sup>d</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=30	98,94± 0,3 <sup>a, b, c</sup>	92,24±0,95 <sup>b</sup>	93,6±0,32 <sup>a, b</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30% T=0	98,2±0,52 <sup>a, b, c</sup>	95,96±0,29 <sup>a, b</sup>	79±0,1 <sup>d</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30% T=5	98,23±0,49 <sup>a, b, c</sup>	97,7±0,3 <sup>a, b</sup>	92,42±0,69 <sup>b, c</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30% T=30	98,23± 0,48 <sup>a, b, c</sup>	97,99±0,46 <sup>a</sup>	94,79±0,73 <sup>a, b</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5% T=0	98,73±0,65 <sup>a, b, c</sup>	94,46±1,4 <sup>a, b</sup>	91,95±1,04 <sup>b, c</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5% T=5	99,55±0,77 <sup>a</sup>	96,00±0,79 <sup>a, b</sup>	95,99±0,35 <sup>a</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5% T=30	98,93±0,58 <sup>a, b, c</sup>	98,30±0,66 <sup>a</sup>	96,64± 0,57 <sup>a</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30% T=0	96,53±0,43 <sup>b, c</sup>	95,54±1,31 <sup>a, b</sup>	68,27±0,43 <sup>d</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30% T=5	96,54±0,41 <sup>b, c</sup>	96,15±1,09 <sup>a, b</sup>	90,39±0,46 <sup>c</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30% T=30	96,4± 0,56 <sup>b, c</sup>	96,79±0,95 <sup>a</sup>	94,41±0,2 <sup>a, b</sup>

**Fonte: Autoria própria**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

A análise dos dados da Tabela 10 revela que a 40°C os solventes EtOH/H<sub>2</sub>O 5% e 30% e MeOH/H<sub>2</sub>O 5% apresentaram alto potencial antioxidante, não apresentando diferença significativa entre seus valores. O solvente MeOH/H<sub>2</sub>O 30% apresentou menor potencial antioxidante, contudo todos apresentaram cinética rápida e altos valores de porcentagem de atividade antioxidante.

A análise dos dados para a secagem a 60°C os solventes EtOH/H<sub>2</sub>O 30% e MeOH/H<sub>2</sub>O 5% e 30% apresentaram alto potencial antioxidante, não apresentando diferença significativa entre seus valores. O solvente EtOH/H<sub>2</sub>O

5% apresentou menor potencial antioxidante, contudo todos apresentaram cinética rápida e altos valores de porcentagem de atividade antioxidante.

A análise dos resultados para a secagem a 80 °C demonstra que os melhores resultados de atividade antioxidante foram para o solvente MeOH/H<sub>2</sub>O 5% inibindo 92% do radical no tempo T=0, os demais solventes foram menos ativos, porém também com cinética rápida.

A Tabela 11 apresenta a porcentagem de atividade antioxidante para os extratos da tansagem na concentração de 1.000 µg mL<sup>-1</sup> frente o radical DPPH nos tempos de 0, 5 e 30 minutos.

**Tabela 11 – Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de *P. major* na concentração de 1.000 µg mL<sup>-1</sup> nos tempos de 0, 5 e 30 minutos.**

<b>Solvente/T (min)</b>	<b>40° C</b>	<b>60°C</b>	<b>80°C</b>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=0	47,44 ± 1,03 <sup>d, e, f</sup>	16,06 ± 0,44 <sup>b, c</sup>	6,26 ± 0,43 <sup>h</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=5	50,5 ± 1,0 <sup>c, d, e</sup>	15,18 ± 0,36 <sup>b, c</sup>	9,06 ± 0,60 <sup>g, h</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=30	57,57 ± 1,03 <sup>b, c</sup>	16,95 ± 0,32 <sup>b, c</sup>	13,15 ± 0,56 <sup>f, g</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30% T=0	56,83 ± 1,39 <sup>b, c</sup>	20,2 ± 2,07 <sup>b, c</sup>	12,18 ± 1,45 <sup>f, g, h</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30% T=5	58,1 ± 2,68 <sup>b, c</sup>	22,42 ± 1,75 <sup>b, c</sup>	16,53 ± 1,42 <sup>e, f</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 30% T=30	70,72 ± 1,84 <sup>a</sup>	25,60 ± 2,10 <sup>b</sup>	23,1 ± 1,84 <sup>c, d</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5% T=0	47,48 ± 2,81 <sup>d, e, f</sup>	13,31 ± 2,86 <sup>c</sup>	14,25 ± 2,08 <sup>f, g</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5% T=5	54,22 ± 2,38 <sup>b, c, d</sup>	12,88 ± 0,59 <sup>c</sup>	21,18 ± 1,75 <sup>d, e</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 5% T=30	62,40 ± 2,56 <sup>a, b</sup>	19,52 ± 2,07 <sup>b, c</sup>	28,27 ± 1,35 <sup>c</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30% T=0	41,45 ± 0,68 <sup>f</sup>	41,52 ± 1,06 <sup>a</sup>	44,28 ± 0,35 <sup>b</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30% T=5	44,79 ± 0,10 <sup>e, f</sup>	20,48 ± 5,09 <sup>b, c</sup>	48,78 ± 0,36 <sup>a, b</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O 30% T=30	47,34 ± 0,52 <sup>d, e, f</sup>	44,06 ± 1,99 <sup>a</sup>	52,3 ± 0,77 <sup>a</sup>

**Fonte: autoria própria**

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3). n.d. = não determinado  
a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

Nesta concentração também foi possível verificar diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os extratos e temperaturas de secagem analisados. Para a secagem a 40°C os solventes extratores que apresentaram maior potencial antioxidante foram o EtOH/H<sub>2</sub>O 30% e MeOH/H<sub>2</sub>O 5%. Para a secagem a 60°C e 80°C o solvente MeOH/H<sub>2</sub>O 30% foi o mais ativo. Estes foram os extratos mais ativos quando se compara entre todas as temperaturas de secagem. Os resultados demonstram a influência da concentração na atividade antioxidante, quanto maior a concentração, maior a atividade.

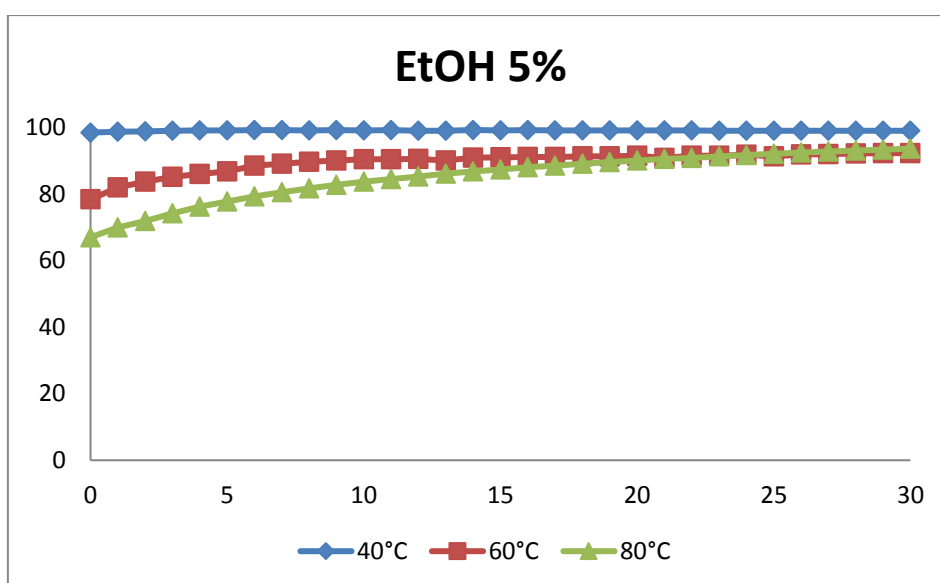


Figura 13- Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (10.000 µg mL<sup>-1</sup>) expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 5%

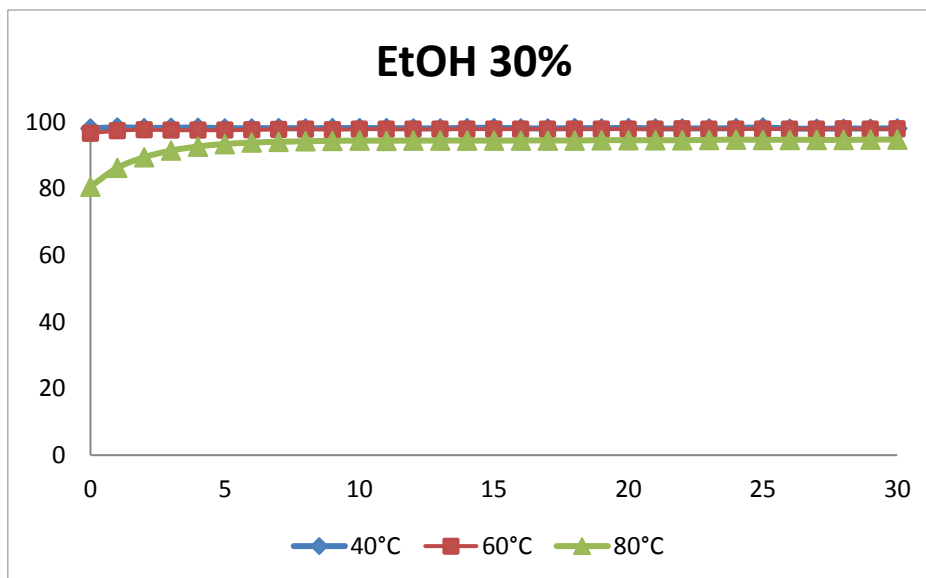


Figura 14- Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 30%

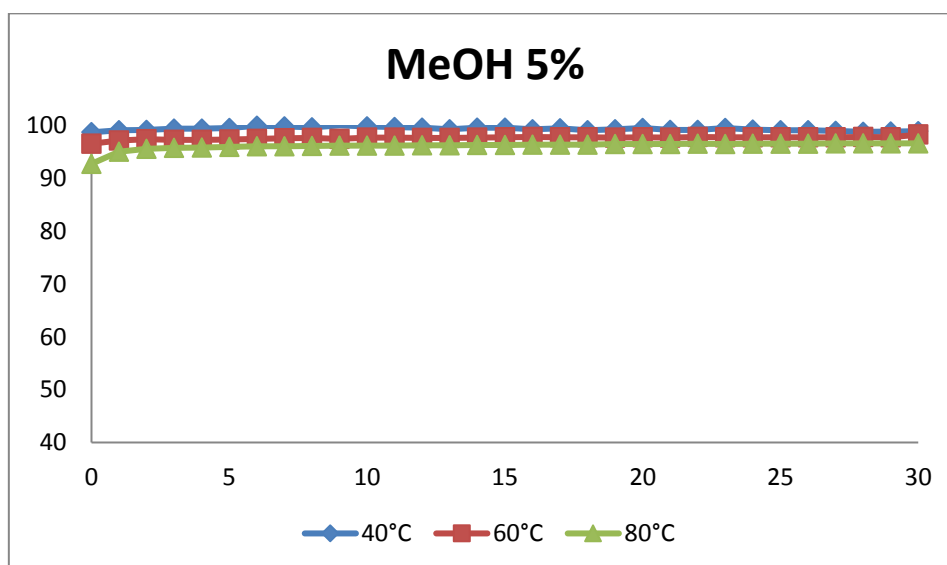


Figura 15- Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 5%

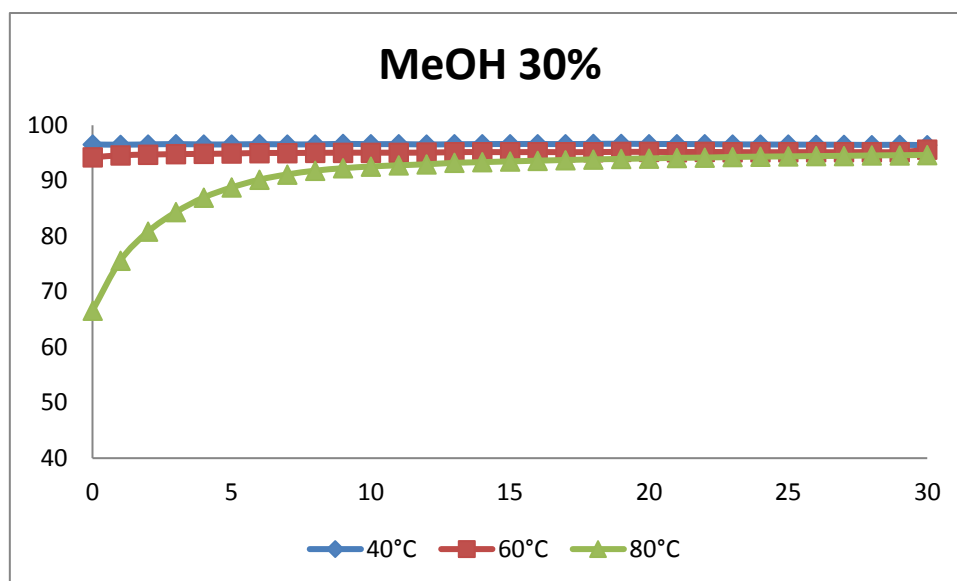


Figura 16- Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) expressa em %AA versus tempo(minutos) com extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 30%

De acordo com a Tabela 10 e os figuras 17-20, todos os extratos em todas as temperaturas apresentaram cinética rápida, inibindo mais do que 50% do radical DPPH em um tempo inferior a 5 minutos.

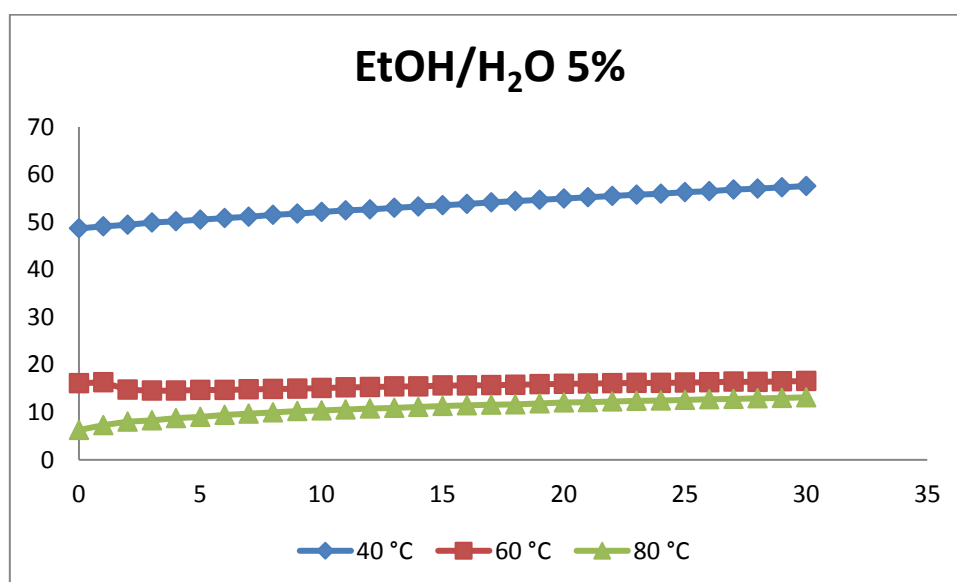


Figura 17- Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (1.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 5%

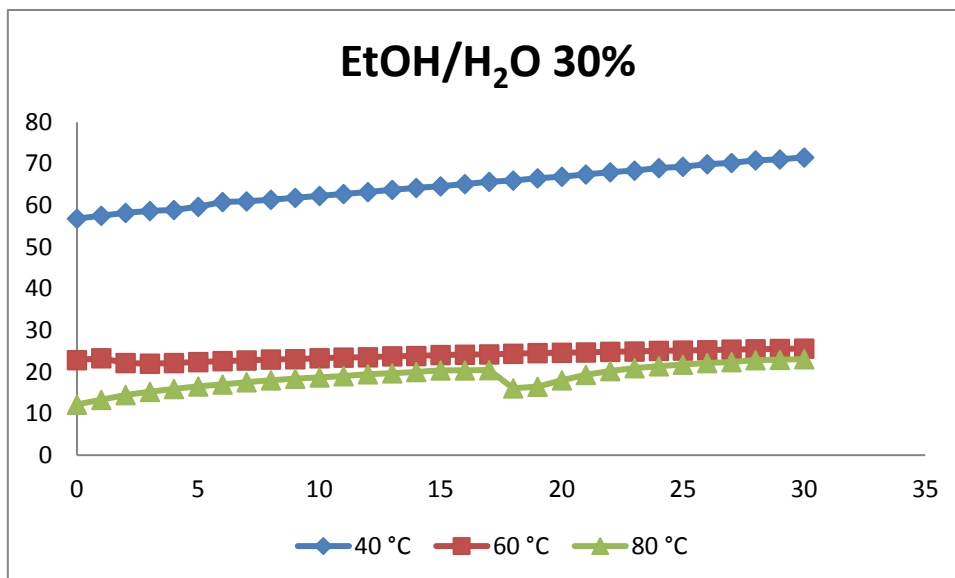


Figura 18 - Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de  $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$  expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 30%

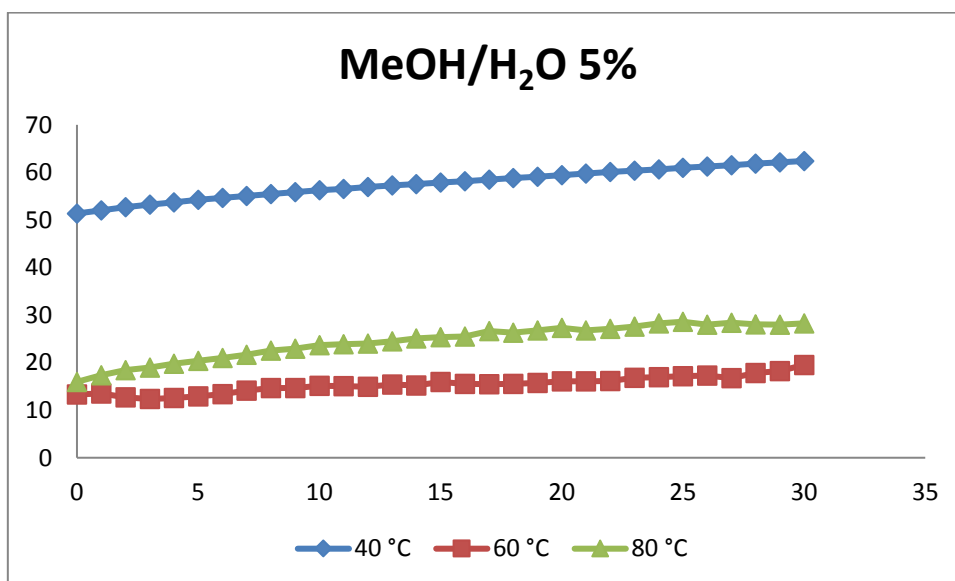
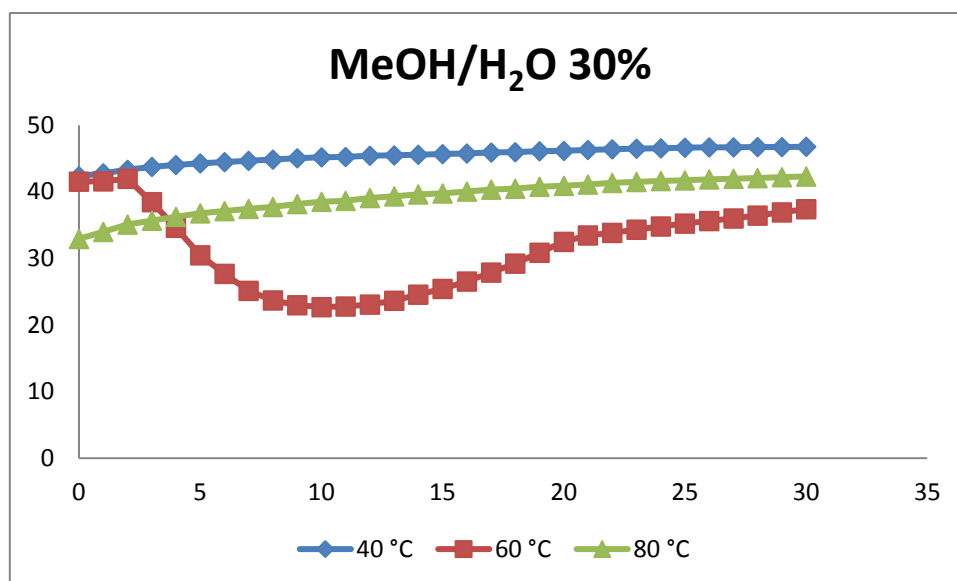


Figura 19 - Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de  $(1.000 \mu\text{g mL}^{-1})$  expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 5%



**Figura 20 - Curva cinética de degradação do radical DPPH em concentração de (1.000 µg mL<sup>-1</sup>) expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 30%**

E para a concentração de 1.000 µg mL<sup>-1</sup> apenas os extratos MeOH/H<sub>2</sub>O 5% foram os que apresentaram percentual de inibição para todas as secagens, os extratos MeOH/H<sub>2</sub>O 30% para a secagem de 40°C e EtOH/H<sub>2</sub>O 70% para 80°C. Todos apresentaram cinética rápida, entretanto a inibição foi inferior a 70% do radical. Dentre as concentrações analisadas apenas a menor apresentou cinética lenta e potencial antioxidante baixo, quando comparada as demais concentrações. Entretanto ao compará-la ao padrão BHT, esta apresentou inibição superior.

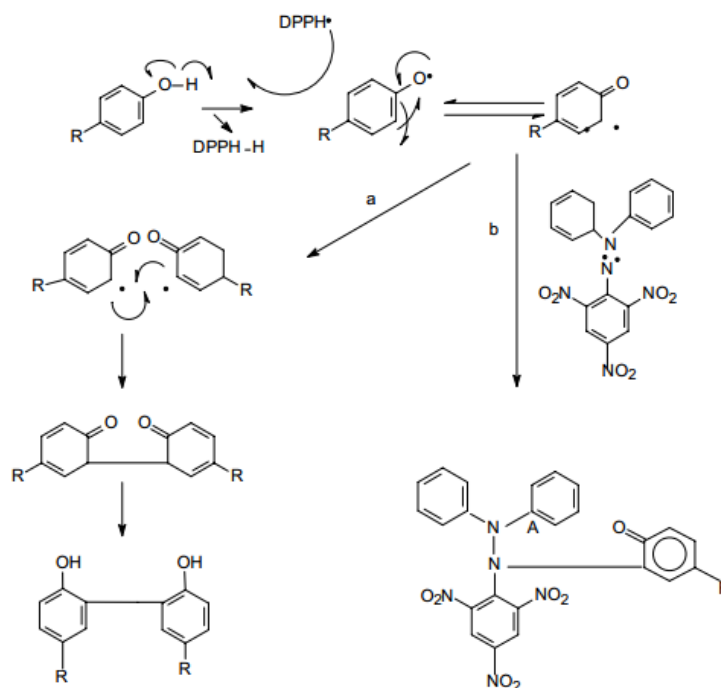
Cada uma das substâncias antioxidantes reagem de forma característica com o DPPH•, resultando em uma cinética diferenciada. Podemos mencionar os compostos que reagem lentamente, como o BHT e BHA, e aqueles de cinética rápida, como o ácido ascórbico (CARPES, 2008). Essas características diferenciais são decorrentes não somente de um impedimento estérico (HOGG et al., 1961) mas também da presença e do número de hidroxilas existentes nessas moléculas, as quais podem doar hidrogênio para estabilizar o radical livre.

Dessa forma *P. major* seco em temperaturas distintas apresentou bom potencial de sequestro do radical DPPH nos diferentes extratos analisados. O

potencial antioxidante desta planta pode ser explicado devido à presença de compostos fenólicos, flavonoides e iridoides (DALGÊ, 2014; KIKUZARI; NIKATANI, 1993).

Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) propuseram os mecanismos de reação que ocorrem entre os compostos fenólicos e o radical DPPH. Estes mecanismos envolvem de forma isolada ou combinada, a dimerização por acoplamento oxidativo de dois radicais fenoxil, seguida da regeneração de dois grupos hidroxila pela transferência do hidrogênio, os quais podem reagir novamente com o DPPH, ou esta pode estabilizar-se com um radical arila, conforme a Figura 12(BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSSET, 1995).

**Figura 21– Mecanismo de ação provável entre o radical DPPH e substâncias fenólicas (a- dimerização e b- estabilização do radical DPPH)**



Fonte: Brand-Williams; Cuvelier; Berset(1995)



## 5.2.2 Atividade antioxidante pelo método ABTS

Para expressar os valores do percentual observado da secagem da *P. major*. Foram criadas as tabelas 11 no qual se encontra na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$

**Tabela 11 – Percentual de inibição do radical ABTS dos diferentes extratos de *P. major* na concentração de 10.000  $\mu\text{g mL}^{-1}$**

Solvente	T = 40° C	T = 60°C	T = 80°C
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=0	42±0,55 <sup>d</sup>	49,38±1,08 <sup>c, d</sup>	45,27±1,43 <sup>c</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=5	45,72±0,59 <sup>b, c, d</sup>	49,76±1,23 <sup>c, d</sup>	51,08±1,3 <sup>b</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O 5% T=30	58,50±4,66 <sup>a</sup>	57,09±0,74 <sup>b</sup>	61,26±0,84 <sup>a</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O30% T=0	44,02±0,97 <sup>c, d</sup>	42,93±0,52 <sup>e, f</sup>	38,85±0,63 <sup>d</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O30% T=5	50,56±1,09 <sup>b</sup>	46,52±0,69 <sup>d, e</sup>	41,56±0,84 <sup>c, d</sup>
EtOH/H <sub>2</sub> O30% T=30	63,09±1,7 <sup>a</sup>	56,33±0,51 <sup>b</sup>	57,88±0,31 <sup>a</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O5% T=0	50,12±2,47 <sup>b, c</sup>	41,11±1,86 <sup>f</sup>	42,14± 1,32 <sup>c, d</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O5% T=5	44,8±1,54 <sup>b, c, d</sup>	44,8±1,43 <sup>d, e, f</sup>	44,77±1,44 <sup>c</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O5% T=30	58,10±0,04 <sup>a</sup>	57,69±1,1 <sup>b</sup>	58,43±0,59 <sup>a</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O30% T=0	46±1 <sup>b, c, d</sup>	47,32±1,02 <sup>c, d, e</sup>	45,59±0,72 <sup>c</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O30% T=5	48,28±0,86 <sup>b, c, d</sup>	52,52±0,97 <sup>b, c</sup>	51,04±0,98 <sup>b</sup>
MeOH/H <sub>2</sub> O30% T=30	61±0,88 <sup>a</sup>	63,67±0,74 <sup>a</sup>	62,4±0,18 <sup>a</sup>

**Fonte: Autoria própria**

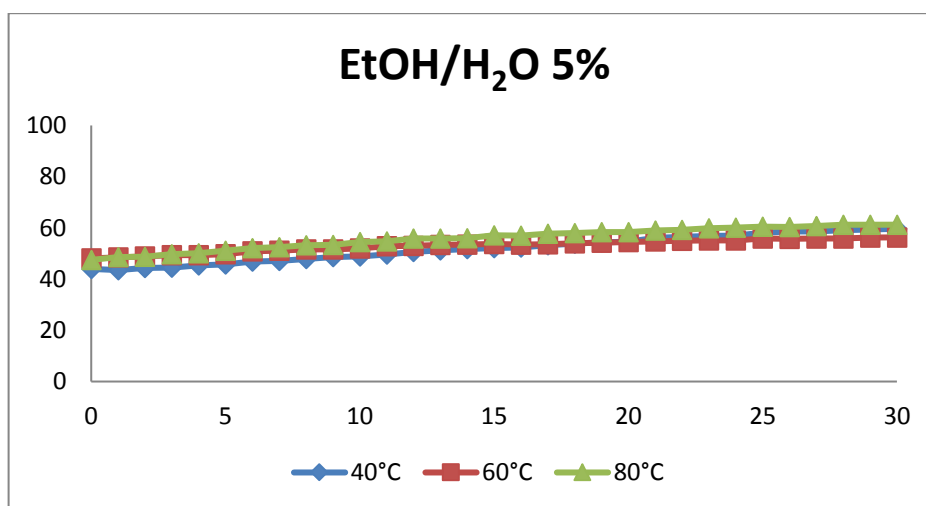
Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=3).

a, b – Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferenças significativas (p<0,05) pelo teste de Tukey.

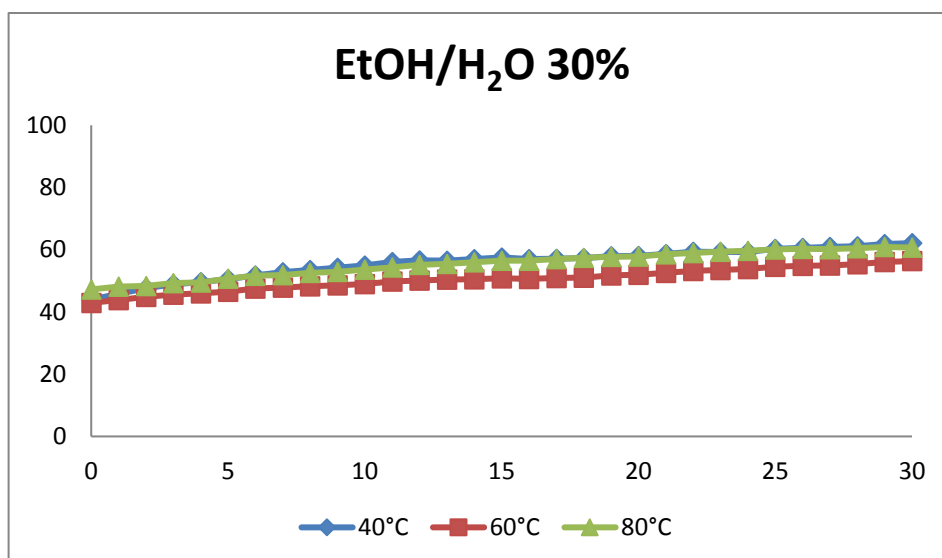
Para a secagem a 40° C e 80° C a porcentagem de atividade antioxidante não apresentou diferença significativa entre os solventes, sendo todos potencialmente equivalentes. Já na secagem a 60° C o solvente MeOH/H<sub>2</sub>O 30% foi o que apresentou maior percentual de atividade antioxidante frente o ABTS.

Segundo Prado et al. (2009), a atividade antioxidante pode ser afetada por vários fatores além da polaridade. A posição dos grupos hidrofílicos exerce relevante influencia no percentual de inibição da oxidação, dependendo do meio em que ocorre a reação. Além de que, a pouca seletividade do ABTS<sup>•</sup> na reação com átomos doadores de hidrogênio e o tempo de incubação da amostra, são os fatos limitantes desse método (CAMPOS, 1997).

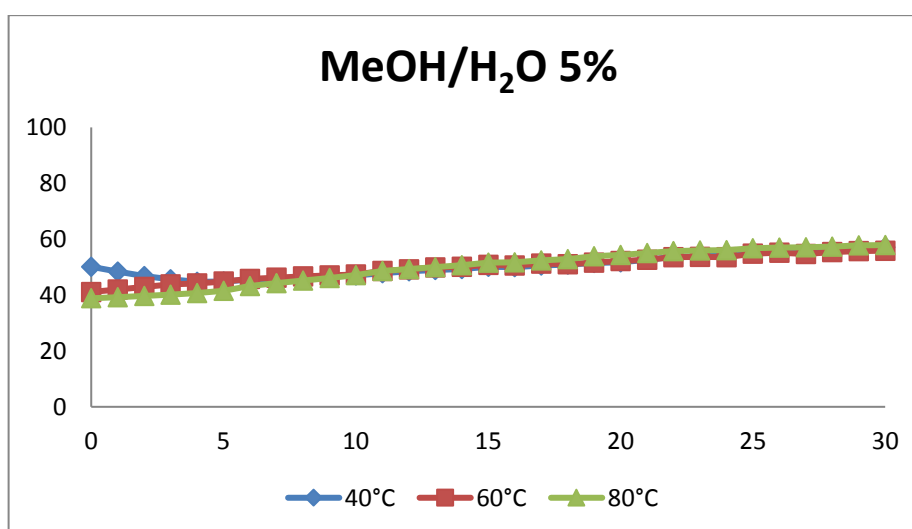
Os resultados dos estudos cinéticos foram obtidos analisando-se o tempo *versus* a porcentagem de atividade antioxidante (%AA) para os extratos de tansagem e estão apresentados nas figuras 22- 25.



**Figura 22 - Curva cinética de captura do radical ABTS expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 5%**



**Figura 23 - Curva cinética de captura do radical ABTS expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato EtOH/H<sub>2</sub>O 30%**



**Figura 24 - Curva cinética de captura do radical ABTS expressa em %AA versus tempo (minutos) com extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 5%**

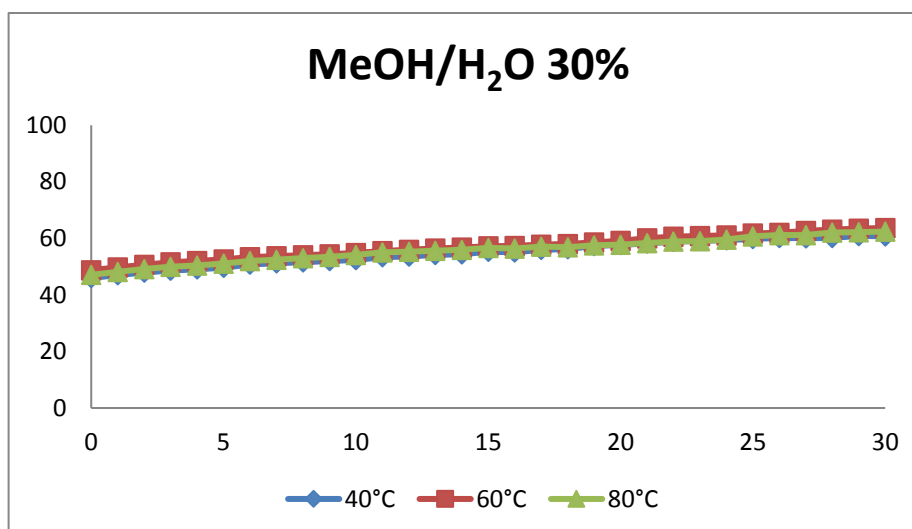


Figura 25 - Curva cinética de captura do radical ABTS expressa em %AA versus tempo(minutos) com extrato MeOH/H<sub>2</sub>O 30%

Segundo Henriquez, Aliaga e Lissi (2004), poucos estudos são feitos quanto à cinética do ABTS com diversas espécies químicas devido à complexidade da cinética obtida, sendo possível apenas observar a inibição para o ABTS

Campos e Lissi (1999) apontam que a reação de certos compostos com o radical ABTS· também podem formar ligações entre radicais, gerando subprodutos e alterando a cinética.

Em uma breve análise em relação à característica cinética quanto à captura do radical ABTS, percebe-se que os quatro solventes extratores exibem o mesmo comportamento e em comparação aos valores padrões expostos anteriormente, possui uma cinética intermediária.

## 6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados que foram obtidos, conclui-se que para as folhas de *Plantago major* extrato etanólico 30% apresentou o maior teor de compostos fenólicos na temperatura de 40 °C. As condições que apresentaram maiores teores de flavonoides totais foram as extrações realizadas com os solventes MeOH/H<sub>2</sub>O 5% em 40 °C e 60 °C e EtOH/H<sub>2</sub>O 5% em 80°C.

Os solventes extratores demonstram-se eficientes na extração de flavonoides e compostos fenólicos e a temperatura de secagem da tansagem influenciaram nesta composição.

Todos os extratos nas três temperaturas para a concentração de 10.000 µg mL<sup>-1</sup> apresentaram alta atividade antioxidante, apresentando percentuais maiores que 92% de inibição do radical DPPH no tempo de 30 minutos, demonstrando cinética rápida.

Na concentração de 1.000 µg mL<sup>-1</sup> no tempo de 30 minutos, os extratos que apresentaram maior porcentagem de inibição do radical DPPH foram o etanólico 30% e metanólico 5%, com cinética rápida.

Para a atividade dos extratos frente o ABTS, os quatro extratos da secagem a 40°C apresentaram maiores percentuais de inibição do radical.

Conclui-se que o extrato etanólico 30% que apresentou maior conteúdo de fenóis e o metanólico 5% que apresentou maior conteúdo de flavonoides foram os extratos que também apresentaram a maior atividade antioxidante. Portanto a secagem da tansagem deve ser realizada em 40°C, e a extração dos compostos bioativos pode ser preparado com MeOH/H<sub>2</sub>O 5% ou EtOH/H<sub>2</sub>O 30%, e que considerando a menor toxicidade do etanol, indica-se este como melhor solvente extrator, considerando a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS.

## REFERÊNCIAS

ABUD, M. A., Molina, A., Wendel, G. H., Hikawczuk, V. E. J., Pelzer, L. E., María, A. O., & Saad, J. R. (2012). Gastroprotective Effects of *Plantago major* and Metabolites in Rats. ***Latin Americann Journal of Pharmacy***, 31(8), 1203-6.

ALBACH DC, Meudt HM, Exelman B. Piecing together the “new” Plantaginaceae. *Am J Bot.* ;92(2):297-315.

ALONSO, JR. Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas e farmacológicas. ISIS Ed. Argentina. 1998.

AHMAD, Mohammad Shamim; AHMAD, Moghis U.; OSMAN, S. M.. A NEW HYDROXYOLEFINIC ACID FROM PLANTAGO MAJOR SEED OIL. ***Phytochemistry***, Aligarh, p.2137-2139, jan. 1980

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. ***Analyst***, v. 127, p. 183-198, 2002.

APG (The Angiosperm Phylogeny Group). (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1-20.

ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. ***Trends in Food Science & Technology***, v. 11, p. 419-421, 2000.

ATTA, A.h.; EL-SOUD, K. Abo. The antinociceptive effect of some Egyptian medicinal plant extracts. ***Journal Of Ethno pharmacology***. Giza, p. 235-238. set. 2004.

ATTA, Attia H.; MOUNEIR, Samar M.. Evaluation of some medicinal plant extracts for anti-diarrhoeal activity. ***Phytotherapy Research***, [s.l.], v. 19, n. 6, p.481-485, 2005. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1639>.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. ***Food Chemistry*** v. 99, p. 191-203, 2006.

BAPTISTA, Mírian J.; SIQUEIRA, José O. Efeito de flavonoides na germinação de esporos e no crescimento assimbiótico do fungo micorrízico arbuscular *Gigasporagigantea*. ***Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal***, v. 6, n. 2, p. 127-134, 1994.

BARREIROS, A. L. B. S; DAVID, J. M; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quimica. Nova**, V.29, p. 113-123, 2006.

BEHLING, Estela Beatriz et al. FLAVONÓIDE QUERCETINA: ASPECTOS GERAIS E AÇÕES BIOLÓGICAS. **Alim. Nutr**, Araraquara, p.285-292, jul. 2004.

BIANCO, A., Guiso, M., & Passacantilli, P. Iridoid and phenylpropanoid glycosides from new sources. (1984). *Journal of Natural Products*, 47(5), 901-2.

BIESKI, IGC, MARI GEMMA, C. Quintais medicinais. Mais saúde, menos hospitais – Governo do Estado de Mato Grosso. Cuiabá. 2005.

BLOIS, M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p. 1199-1200, 1958.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, v.22, p.25-30, 1995.

BRASIL. Constituição (1978). Resolução - Cnnpan<sup>o</sup>n<sup>o</sup> 12, de 24 de julho de 1978. **Normas Técnicas Especiais, do Estado de São Paulo, Revistas Pela Cnpa, Relativas A Alimentos (e Bebidas), Para Efeito em Todo Território Brasileiro**. São Paulo, Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12\\_78\\_cha.htm](http://www.anvisa.gov.br/anvisa/legis/resol/12_78_cha.htm)>. Acesso em: 04 maio 2017.

BRASIL. Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe "sobre o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais", Diário Oficial da União. p.1-4, 2004

BRAZ, Renato et al. Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal Of Pharmacognosy**, Maringá, p.1111-1118, ago. 2011.

CADET, J.; DELATOUR, T.; DOUKI, T.; GASPARUTTO, D.; POUGET, J. P.; RAVANAT J. L.; SAUVAIGO, S. Hydroxyl radicals and DNA base damage. **Mutation Research**, v. 424, p. 9-21, 1999

CALIXTO, J.b.. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, Florianópolis, v. 33, p.179-189, 2000.

CAMARGO, JENIFFER N.A. Características químicas do *Zingiberofficinale* (gingibre). 2016. 56 p. Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2016.

CAMPOS, AM; LISSI, E.A. Kinetics of the reaction between 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) derived radical cations and phenols. **International Journal of Chemical Kinetics**. v. 29, P. 219–224. 1997

CARVALHO, Luciana Marques de; COSTA, Jennifer Anne Martins da; CARNELOSSI, Marcelo Augusto Gutierrez. Qualidade em plantas medicinais. **Embrapa**, Aracaju, v. 1, n. 162, p.1-54, dez. 2010.

CARVALHO, Ana Cecília Bezerra. **Plantas medicinais e fitoterápicos: regulação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializados no Brasil**. 2011. 318 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

CAI YZ, Luo Q., Sun M., Corke H. Atividade antioxidante e compostos fenólicos de 112 plantas medicinais chinesas tradicionais associadas ao anticancerígeno. *Life Sci*. 2004; 74 : 2157-2184. Doi: 10.1016 / j.lfs.2003.09.047.

CHIANG, L.C et al. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. **Antiviral Research**, [s.l.], v. 55, n. 1, p.53-62, jul. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0166-3542\(02\)00007-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0166-3542(02)00007-4).

CHIANG, L.-C., Chiang, W., Chang, M.-Y., & Lin, C.-C. (2003). In vitro cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *The American journal of Chinese medicine*, 31(2), 225–34.

CORDEIRO, Cynthia Helena Gontijo et al. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, Araraquara, p.395-404, set. 2006.

CORDEIRO, Cynthia Helena Gontijo. **Atividade biológica de gel dentifrício e enxaguatório bucal contendo extratos vegetais**. 2005. 99 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Faculdade de Ciências Farmacêuticas Câmpus de Araraquara, Araraquara, 2005.

DALGÊ, J.J. **Estudo da capacidade antioxidante, antimicrobiana e antihemolítica do gengibre (*Zingiberofficinale*)**. Pirassununga: USP, 2014.



DAVIES, D. D.; STUMPF, P. K. *Secondary Plant Products: A Comprehensive Treatise*; Conn E.E.: New York, 1981.

EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2008.

FRANÇA, L. M. Desenvolvimento de Sistema de Análise por Injeção Sequencial para Determinação Espectrofotométrica da Capacidade Antioxidante em Bebidas Empregando o Radical Derivado do N-fenil-1,4-fenilenediamino. 2011.

GARCIA, AA. et al. *Fitoterapia. Vademécum de prescripción. Plantas medicinales*. 3ª ed. 1999.

**GraphPad InStat**. Software. Versão 3.02. 1998.

GILBERT, B; FERREIRA, JL; ALVES, LF. *Monografias de plantas medicinais brasileiras e aclimatadas*. Curitiba. ABIFITO. 2005.

GUPTA, MP et al. *270 plantas medicinais iberoamericanas*. CYTED. Colômbia. 1995.

HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLINGER, J.; ARUOMA, O.I. The characterization of antioxidants. **Food and chemical toxicology**. v. 33, p. 601-617, 1995.

HALLIWELL, B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. **Mutation. Research**. v. 443, p. 37-52, 1999

HENRIQUEZ, C; ALIAGA, C; LISSI, E. Kinetics profiles in the reaction of abts derived radicals with simple phenols and polyphenols. **J. Chil. Chem. Soc.**, v. 49, n. 1, p. 65-67, 2004.

HERNÁNDEZ, A. M.; PRIETO GONZÁLES, E. A. Plantas que contienen polifenoles. **Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas**, Ciudad de La Habana, v.18, n. 1, p. 12-14, 1999.

KAWASHTY, S. A., Gamal-el-din, E., Abdalla, M. F., & Saleh, N. A. M. (1994). Flavonoids of *Plantago* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 22(7), 729–733.

KOLAK, U., Boğa, M., Uruşak, E. A., Ulubelen, A. (2011). Constituents of *Plantago major* subsp. *intermedia* with antioxidant and anticholinesterase capacities. *TurkishJournalofChemistry*, 35, 637-45.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. ChemistryandBiologicalActivitiesofFlavonoids: An Overview. **The Scientific World Journal**, v.3, p. 1-16, 2013.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI\_FILHO, J.; FETT, R. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em polpa de frutos. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p.1390-1393, 1997.

LIU, Lixia et al. FATTY ACID PROFILES OF LEAVES OF NINE EDIBLE WILD PLANTS: AN AUSTRALIAN STUDY. **Journal Of Food Lipids**. Connecticut, p. 65-71. jan. 2002.

MACHADO, Hussen; NAGEM, Tanus J.; PETERS, Vera M.; FONSECA, Cristiane S.; OLIVEIRA, Tânia T. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Juiz de Fora, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MAKSYUTINA, N. P.. BAICALEIN AND SCUTELLAREIN THE LEAVES OF *Plantago major*. **Kiev Institute For The Further Education Of Doctors. Translated From Khimiy~ Prirodnykh Soedinenii**, Moscow, p.374-375, jan. 1971.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. **Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais**. Química Nova, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v. 17, n. 6, p. 271-278, 2002.

MATOS, FJA O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha. 2 ed. UFC Edições. 1997

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.

MÜLLER, L.; FRÖHLICH, K.; BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (aTEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. **Food Chemistry**, v.129, p.139-148. 2011.

MILLER N. J; RICE-EVANS C. A; DAVIES M. J; GOPINATHAN V; MILNER A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, p 407-412, 1993.

MURAI, M., Takenaka, T., & Nishibe, S. (1996). Iridoids from *Plantago major*. *Natural Medicines*, 50, 306.

NACZK, Marian; SHAHIDI, Fereidoon. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal Of Chromatography A**, [s.l.], v. 1054, n. 1-2, p.95-111, out. 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>.

NIJVELDT, Robert J et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications 1–3. **American Society For Clinical Nutrition**. Amsterdam, p. 418-25. maio 2001.

OLIVEIRA, A. C; VALENTIM, I. B; GOULART, M. O. F; SILVA, C. A; BECHARA, E. J. H; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, V. 32, p. 689-702, 2009.

OLENNIKOV, D. N.; TANKHAEVA, L. M.; SAMUELSEN, A. B. QUANTITATIVE ANALYSIS OF POLYSACCHARIDES FROM *Plantago major* LEAVES USING THE DREYWOOD METHOD. **Chemistry Of Natural Compounds**, Oslo, p.265-268, dez. 2005

ORDÓÑEZ, J.A.; RODRIGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnología de alimentos**, v.1. Porto Alegre: Artmed, 2007.

OZBEK, Hanefi et al. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. **Indian Journal Of Pharmacology**, [s.l.], v. 41, n. 3, p.120-124, 2009. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0253-7613.55211>.

PAILER, M., & Haschke-Hofmeister, E., Inhaltsstoffe aus *Plantago major*. (1969). *Planta Medica*, 17(2), 139-45.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791-800, 2006

POURMORAD, F.; HOSSEINIMEHR, S. J.; SHAHABIMAJD, N.. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *AfricanJournalOfBiotechnology*, Sari, v. 5, n.11, p.1-4, 10 abr. 2006.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. 2009. 106 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

PRADO, A.C.P.; ARAGÃO, A.M.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de extratos da casca de noz-pecã [*Caryaillinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 12, n. 4, p. 323-332, 2009.

RAVN, H., Nishibe, S., Sasahara, M., & Xuebo, L. Phenolic compounds from *Plantago asiatica*. (1990). **Phytochemistry**, 29(11), 3627-31.

REINA, Elaine et al. The Effects of *Plantago major* on the Activation of the Neutrophil Respiratory Burst. **Journal Of Traditional And Complementary Medicine**, [s.l.], v. 3, n. 4, p.268-272, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.4103/2225-4110.119706>.

RINGBOM, T., Segura, L., Noreen, Y., Perera, P., & Bohlin, L. (1998). Ursolic acid from *Plantago major*, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. *Journal of natural products*, 61(10), 1212–5.

RISPAIL, Nicolas; MORRIS, Phillip; WEBB, K Judith. PHENOLIC COMPOUNDS: EXTRACTION AND ANALYSIS. **Lotus Japonicus Handbook**, Wales, UK, v. 75, p.349-355, jan. 2005.

RODRIGUES; GUEDES. Utilização de plantas medicinais no Povoado Sapucaia, Cruz das Almas – Bahia. **Rev. Bras. Pl. Med**, Botucatu, p.1-7, ago. 2006.

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **FoodChemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

RONTED, N., Chase, M. W., Albach, D. C., Bello, M. A. (2002). Phylogenetic relationships within *Plantago* (Plantaginaceae): evidence from nuclear ribosomal ITS 115 and plastid *trnL-F* sequence data. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 139, 323-338.

RUFINO M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Embrapa: Comunicado Técnico online 127, p.1-4, 2007.

SAMUELSEN, Anne Berit et al. Structural features and anti-complementary activity of some heteroxylan polysaccharide fractions from the seeds of *Plantago major* L. **Carbohydrate Polymer**, Norway, v. 38, p.133-143, 1999.

SAMUELSEN, Anne Berit. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. **Journal Of Ethnopharmacology**, Oslo, v. 71, p.1-21, 2000.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, p. 270-276, 1998.

SANGIAN, Hadi et al. Antiplasmodial activity of ethanolic extracts of some selected medicinal plants from the northwest of Iran. **Parasitology Research**, [s.l.], v. 112, n. 11, p.3697-3701, 7 ago. 2013. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-013-3555-4>.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M. Polyphenols: antioxidants and beyond. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, p. 215S-7S, 2005.

SCHAICH, K. M.; XIE, T. J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111–125, 2015

SCHMELZER, G. H; FAKIM, A Gurib-. **Medicinal Plants, Volume 1 Medicinal Plants, Technical Centre for Agricultural and Rural Cooperation (Ede, Netherlands) Volume 11 de Plant resources of tropical Africa**, Wageningen, Netherlands: Prota Foundation/backuys Publishers/cta, 2008. 792 p. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?id=7FJqgQ3\\_tnUC&pg=PA461&dq=plantago&hl=pt-BR&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=bittes&f=false](https://books.google.com.br/books?id=7FJqgQ3_tnUC&pg=PA461&dq=plantago&hl=pt-BR&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=bittes&f=false)>. Acesso em: 4 out. 2016.

SILVA, R.P.; ALMEIDA, A.K.P.; ROCHA, F.A.G. Os riscos em potencial do uso indiscriminado de plantas medicinais. 2010.

SILVA, FAM, BORGES, MFM, FERREIRA, MA. Metodos para avaliacao do grau de oxidacaolipidica e da capacidade antioxidante. **Quimica Nova**. v.22, P. 94-103, 1999

SILVA, Q. J.; MOREIRA, A. C. C. G.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de genótipos de ciriguelas (*Spondia Purpurea* L.) **Alimento e nutrição**, v. 23, n. 1, p. 73-80, 2012.

SOURI, E et al. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. **Daru**, Tehran, p.83-87, dez. 2007.

SOUZA, Cynthia Domingues de; FELFILI, Jeanine Maria. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*, Goiânia, Go, Brasil, v. 1, n. 20, p.135-142, 2006.

SOUZA, C. M. M.; ROCHA e SILVA, H.; VIEIRA Jr, G. M.; AYRES, M. C. C.; DA COSTA, L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. **Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Mediciniais**. *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA G, Haas APS, Poser GL, Schapoval EES, Elisabetsky E. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *J Ethnopharmacol*. 2004;90(1):135-43.

SOUZA VC, Hassemer G. Lista de Espécies da Flora do Brasil [Internet]. Rio de Janeiro. [acesso em: 2017 abril 28]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrasil/PrincipalUC/PrincipalUC.do#CondicaoTaxonCP>.

SWAIN, T.; HILLS, W.E. The phenolic constituents of *Punnusdomestica*. I-quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science f Fod and Agriculture**, v. 19, n. 1 p. 63-68, 1959.

TASKOVA, Rilka et al. Iridoid glucosides from *Plantagocornuti*, *Plantago major* and *Veronica cymbalaria*. **Phytochemistry**, Sofia, p.1443-1445, fev. 1999.  
TOYODA, Masatake et al. Profiles of Potentially Antiallergic Flavonoids in 27 Kinds of Health Tea and Green Tea Infusions. **J. Agric. FoodChem.**. Tokyo, p. 2561-2564. jun. 1997.

TUROLLA, Monica Silva dos Reis; NASCIMENTO, Elizabeth de Souza. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, Sp, Brasil, v. 42, n. 2, p.289-306, jun. 2006.

VEDANA, Maria Isabel Simczak. **EFEITO DO PROCESSAMENTO NA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA UVA**. 2008. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

VELASCO-LEZAMA, R. et al. Effect of *Plantago major* on cell proliferation in vitro. **Journal Of Ethnopharmacology**.Iztapalapa, p. 36-42. mar. 2005.

VILLAÑO, D. et al. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. **Talanta**, [s.l.], v. 71, n. 1, p.230-235, 15 jan. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>.

VISIOLI, F.; KEANEY JR., J. F.; HALLIWELL, B.; Antioxidants and cardiovascular disease; panaceas or tonics for tired sheep? **Cardiovascular Research**, v. 47, p. 409, 2000.

WOISKY, R G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, n. 2, p. 99-105, 1998.

WEBBER, C.; RIBEIRO, M.C.; VELÁSQUEZ, C.J.A. Nova abordagem contra os efeitos UV. **Cosmetics & Toiletries**, v.17, p.76-80, 2005.

ZUBAIR, Muhammad et al. Detection of genetic and phytochemical differences between and within populations of *Plantago major* L. (plantain). **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 136, p.9-16, mar. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.01.002>.