

## AVALIAÇÃO DO TEOR DE FENÓIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE *Capsicum frutescens* L

L. C. C. Freire<sup>1</sup>, E. I. M. Araújo<sup>2</sup>, L. A. Alves<sup>3</sup>, L. M. Bertini<sup>4</sup>

E-mail: laizacarlos@hotmail.com<sup>1</sup>; isaias\_desbrava@hotmail.com<sup>2</sup>; leonardo.alcantara@ifrn.edu.br<sup>3</sup>; luciana.bertini@ifrn.edu.br<sup>4</sup>

### RESUMO

A busca por produtos naturais com fins terapêuticos vem crescendo bastante nos últimos tempos, por ser um produto que não apresenta tantos danos ao meio ambiente e de baixo custo. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo estudar a planta *Capsicum frutescens* L, conhecida popularmente como pimenta malagueta. A mesma foi submetida a testes fitoquímicos,

para identificação de seus metabólitos secundários, atividade antioxidante através do método do radical livre DPPH e a avaliação do teor de fenóis totais através do método de folin-ciocalteau. Após os testes, verificou-se que a planta não apresenta uma boa atividade antioxidante e apresentou um baixo teor de fenóis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Produtos naturais, *Capsicum frutescens* L, atividade antioxidante, fenóis totais.

## EVALUATION OF PHENOL CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Capsicum frutescens* L

### ABSTRACT

The search for natural products with therapeutic purposes has increased considerably in recent times, is a product that brings so much damage to the environment and because of its low cost. Thus, the present work aims to study the plant *Capsicum frutescens* L, popularly known as chili. The same was subjected to several tests for identification of phytochemicals as secondary

metabolites, the antioxidant activity by a DPPH solution, a free radical to know the concentration that inhibits 50% of this, and evaluation of total phenols by Folin-Ciocalteau. After the tests, it was found that the plant does not present a good antioxidant activity and exhibited a low phenolic content.

**KEYWORDS:** Natural products, *Capsicum frutescens* L, antioxidant activity, total phenols.

## 1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais são utilizados pela humanidade desde o tempo dos primórdios, onde a busca pela cura de doenças pela ingestão foi uma das primeiras formas da sua utilização. O Brasil, com a grandeza de seu litoral, de sua flora e, sendo o detentor da maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta, não pode abdicar de sua vocação para os produtos naturais. A Química de Produtos Naturais (QPN) é, dentro da Química Brasileira, a área mais antiga e a que, talvez ainda hoje, congregue o maior número de pesquisadores (PINTO *et al.*, 2002).

As pesquisas de plantas medicinais envolvem investigações da medicina tradicional e popular (etnobotânica); isolamento, purificação e caracterização de princípios ativos (química orgânica: fitoquímica); investigação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados (farmacologia); transformações químicas de princípios ativos (química orgânica sintética); estudo da relação estrutura/atividade e dos mecanismos de ação dos princípios ativos (química medicinal e farmacológica) e finalmente a operação de formulações para a produção de fitoterápicos (MACIEL *et al.*, 2002).

A planta *Capsicum frutescens L.*, popularmente conhecida por pimenta malagueta, é classificada dentro da família *Solanaceae* e o gênero *Capsicum*. Atua na diminuição do nível de gordura no sangue, como expectorante ajudando a descongestionar vias respiratórias, como redutora de inflamações e, pelo teor de vitamina C, como antioxidante sendo capaz de contribuir para a eliminação de radicais livres e, assim, retardar o processo de envelhecimento das células (REIFSCHNEIDER, 2000). Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo estudar os extratos fixos dessa planta nos seus aspectos químicos e biológicos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Plantas condimentares, tais como as pimentas e pimentões do gênero *Capsicum*, que sempre foram usadas pelos índios e civilizações antigas para tornar os alimentos mais agradáveis ao paladar, além de serem utilizadas como conservantes em alimentos, são fontes de antioxidantes naturais como a vitamina E, vitamina C e carotenoides (REIFSCHNEIDER, 2000).

O Brasil é o segundo maior produtor de pimenta no mundo (RISTORI *et al.*, 2002) e centro da diversidade do gênero *Capsicum* (REIFSCHNEIDER, 2000). Essa hortaliça está difundida em todas as regiões do Brasil, sendo que as principais áreas de cultivo são as regiões Sudeste e Centro-Oeste. São comercializadas para o consumo in natura, conservas caseiras e exportação do produto industrializado (WAGNER, 2003).

As pimentas, principalmente as malaguetas, são estimadas para condimentar comidas e excitar o apetite. Por causa da capsaicina, um alcalóide encontrado na semente, são acres, excitantes e provocam localmente um estímulo rápido e energético (BRAGA, 1976).

O pimentão e as pimentas doces não possuem sabor picante, devido à ausência do alcalóide capsaicina, sendo estes utilizados como corantes e para consumo in natura. As pimentas, em sua maioria, possuem sabor ardido, característico, devido à presença do alcalóide capsaicina

na placenta, nas sementes e, pode ser encontrada em menor grau, no pericarpo do fruto, destacando-se a pimenta-malagueta, pelo elevado teor possui sabor mais pungente (REIFSCHNEIDER, 2000).

A capsaicina atua na diminuição do nível de gordura no sangue, como expectorante ajudando a descongestionar vias respiratórias, como redutora de inflamações e, pelo teor de vitamina C, como antioxidante sendo capaz de contribuir para a eliminação de radicais livres e, assim, retardar o processo de envelhecimento das células (REIFSCHNEIDER, 2000).

Em pimentas, a pungência deve-se à presença de amidas chamadas capsaicionóides. Segundo ROSA *et al.* (2002), a atividade antioxidante dos capsaicionóides inibem a peroxidação de lipídios com desempenho semelhante ao tocoferol, justificando o seu uso como antioxidantes naturais, uma vez que o Brasil é o segundo produtor de pimenta no mundo e centro de diversidade do gênero *Capsicum* (RISTORI *et al.*, 2002; REIFSCHNEIDER, 2000 ).

Pesquisadores conduziram um estudo para verificar a atividade antioxidante dos frutos de pimenta, conforme o seu estado de maturidade e observaram que há uma diferença na atividade antioxidante entre os frutos verdes e os maduros, sendo que os frutos maduros apresentam maior atividade antioxidante (PERUCKA; OLESZEK, 2000).

A cor dos frutos das pimentas é bastante variada, começando geralmente com verde, amarelo ou branco na fruta não madura, e se tornando vermelho, marrom ou quase preto em frutas maduras (LONG-SOLIS, 1998). A cor de cada variedade no estado de maturação depende da capacidade dos frutos de sintetizar carotenóides e até mesmo de reter pigmentos de clorofila. Quanto maior o grau de maturação da pimenta, maior será o conteúdo de capsaicina, dessa forma o conteúdo dessa substância nos frutos não está relacionado com a cor dos frutos e sim o grau de maturação (LONG-SOLIS, 1998).

Os flavonóides em maior conteúdo encontrados nas pimentas são a quercetina e a luteolina, que estão presentes em formas conjugadas. Luteolina tem maior atividade antioxidante seguida pela capsaicina e pela quercetina (LEE *et al.*, 2005). As substâncias mencionadas podem ser observadas na Figura 1.

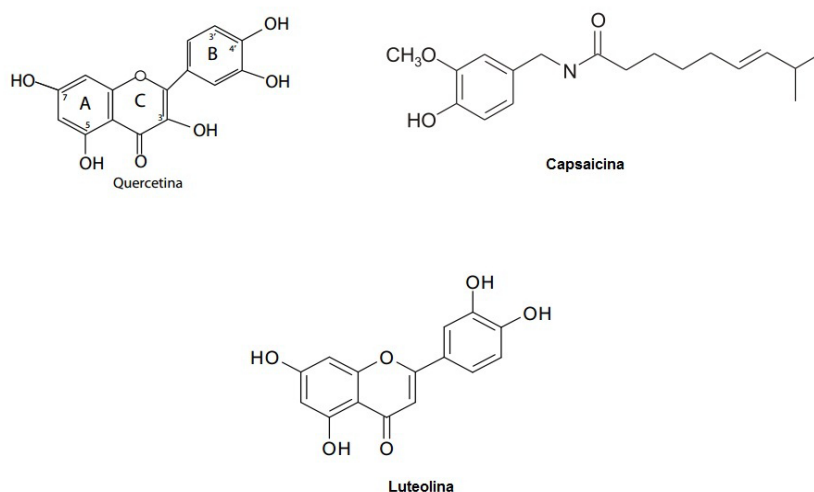


Figura 1: Estrutura química da quercetina, capsaicina e luteolina



### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Preparo do extrato etanólico

O material vegetal (folhas, galhos, fruto e raiz) do *Capsicum frutescens L.* foi coletado na cidade de Apodi no Rio Grande do Norte. O mesmo foi picado e em seguida colocado em um recipiente de vidro com etanol deixando em contato por 7 dias. Esse processo foi repetido por três vezes. Após esse período foi filtrado o solvente das folhas e concentrado em um rota evaporador sob pressão reduzida.

#### 3.2 Testes fitoquímicos dos extratos vegetais

Os testes fitoquímicos foram realizados segundo metodologia proposta por MATOS (2009). Os extratos etanólicos obtidos foram submetidos aos testes de: fenóis e taninos, flavonóides, catequinas, esteróides e triterpenos (teste de Liberman-Buchard) e saponinas, como descrito nos próximos itens.

##### 3.2.1 Teste para fenóis e taninos

Em um tubo de ensaio adicionou-se 3 gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  ao extrato, em seguida agitou-se bem e foi observada as variações na cor e na formação de precipitado.

##### 3.2.2 Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides

Foi separado três tubos de ensaio e adicionado uma quantidade de extrato em cada um. O primeiro foi acidulado a pH 3, o segundo alcalinizado a pH 8,5 e o terceiro a pH 11.

##### 3.2.3 Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas

Pegou-se dois tubos de ensaio com extrato, o primeiro foi acidulado a pH 3 e o segundo alcalinizado a pH 11, em seguida os tubos foram aquecidos por 3 minutos e verificado a variação na cor.

##### 3.2.4 Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Foi adicionado a um tubo de ensaio com o extrato alguns centigramas de magnésio em fita e 0,5 mL de HCl concentrado. Esperou-se o fim da reação indicada pelo termino da efervescência e observou-se a mudança na cor da mistura.

##### 3.2.5 Teste para saponinas

Em um tubo de ensaio com extrato foi adicionado 5-10 mL de água para dissolvê-lo. Após esse processo o tubo foi agitado com a solução, fortemente, de dois a três minutos, observando-se a formação de espuma.

### 3.2.6 Teste para esteroides e triterpenoides (lieberman-burchard)

Tomou-se outro tubo com extrato e foi adicionado 1-2 mL de clorofórmio para a dissolução do mesmo. Após esse processo a solução clorofórmica foi filtrada em um pequeno funil fechado com uma pequena bolinha de algodão para um segundo tubo de ensaio. Foi adicionado 1 mL de anidrido acético, e agitou-se suavemente e acrescentado três gotas de ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ), tornou-se a agitar, observando-se o desenvolvimento de cores.

### 3.3 Teste Antioxidante

Os testes para verificar a atividade antioxidante e encontrar a  $IC_{50}$  (Concentração que inibe 50% dos radicais) dos extratos foram realizados com uma solução metanólica de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)  $60\mu M$ . Foram preparadas diferentes concentrações com os extratos e frações e misturadas a 1mL de DPPH e após 30 minutos foram feitas as leituras no espectrofotômetro a 520 nm (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Outro procedimento da mesma forma foi feito com o TROLOX, padrão positivo que foi utilizado para controle. Os resultados obtidos após a leitura foram aplicados em um programa de estatística (Origin 7.0), para que gerasse um gráfico, do qual foi calculado a  $IC_{50}$  de cada extrato.

### 3.4 Fenóis Totais

O teste para verificação dos fenóis totais foi feito pelo método de Folin-Cicalteau. Cada extrato vegetal foi dissolvido em metanol, em seguida transferido para um balão volumétrico de 100 mL e aferido o menisco. Em outro balão, de 50 mL, foi transferido 7,5 mL da solução inicial, esta segunda solução teve seu volume novamente acertado com metanol. Uma alíquota de 100  $\mu L$  desta última solução foi agitada com 500  $\mu L$  do reagente de Folin-Cicalteau e 6 mL de água destilada por 1 min. Após esse tempo foi adicionado 2 mL de  $Na_2CO_3$  a 15% a mistura e agitada por 30 s. A solução teve seu volume acertado para 10 mL com água destilada. Esperou-se 2 h, e em seguida a absorbância das amostras foram medidas no espectrofotômetro a 750 nm, fazendo uso de cubetas de quartzo (BONOLI *et al.*, 2004). A quantificação dos compostos fenólicos nos extratos foi realizada em triplicata e os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de extrato bruto.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram obtidos 21,2574g do extrato etanólico das folhas (EEFCF), 11,5227g do extrato etanólico do fruto (EEFRCF), 8,6013g do extrato etanólico dos galhos (EEGCF) e 2,151g do extrato etanólico das raízes (EERCL), o que resultou em um rendimento de 8,77%, 6,44%, 2,70% e 1,56%, respectivamente. Os extratos foram submetidos a testes fitoquímicos para identificar as classes de metabólitos secundários presente nos mesmos, e estes resultados podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1: Identificação dos metabólitos secundários presentes nos extrato etanólicos de *Capsicum frutescens L.*

METABÓLICOS SECUNDÁRIOS	EEFCF	EEFRCF	EEGCF	EERCF
Fenóis e Taninos	(-)	(-)	(-)	Taninos flobabênicos
Antocianinas, Antocianidinas e Flavonóides	(-)	(-)	(-)	(-)
Leucoantocianidinas, Catequinas e Flavonas	(-)	(-)	(-)	(-)
Flavonóis, Flavanonas, Flavanonóis e Xantonas	(-)	(-)	(-)	(-)
Saponinas	(-)	(-)	(-)	(-)
Esteroides e Triterpenóides	Esteroides livres	Esteroides livres	Esteroides livres	(-)

EEFCL: Extrato etanólico das folhas de *Capsicum frutescens L.*;  
EEFRCL: Extrato etanólico dos frutos de *Capsicum frutescens L.*;  
EEGCL: Extrato etanólico dos galhos de *Capsicum frutescens L.*;  
EERCL: Extrato etanólico das raízes de *Capsicum frutescens L.*;  
(-): Teste negativo

Na análise fitoquímica, os testes para o extrato etanólico das folhas, do fruto e galhos foram positivos somente para esteróides e triterpenóides, indicando a presença de esteróides livres. O extrato das raízes apresentou apenas taninos flobabênicos. Os demais testes deram todos negativos para os quatro extratos.

O valor da concentração inibidora (IC<sub>50</sub>) foi calculado a fim de se definir a concentração necessária para inibir o radical DPPH em 50%. Os resultados obtidos através dos testes antioxidantes podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2: Atividade antioxidante obtida pelo método do DPPH dos extratos de *Capsicum frutescens L.*

Extratos	IC <sub>50</sub>	Código
Etanólico das folhas	204,60 ppm	EEFCF
Etanólico do fruto	687,57 ppm	EEFRCF
Etanólico dos galhos	431,29 ppm	EEGCF
Etanólico das raízes	138,54 ppm	EERCF
TROLOX	4,07 ppm	-

Mediante os resultados obtidos, pode-se observar que a raiz de *Capsicum frutescens L* foi a que apresentou melhor atividade antioxidante quando comparado com os demais extratos, o que já era esperado, pois foi o único que apresentou taninos flobabênicos.



Na Tabela 3 estão expressos os resultados da determinação dos fenóis totais dos extratos, que foram realizados pelo método de folin-ciocalteau, expressos em equivalência de ácido gálico (EAG) por grama de extrato bruto.

Tabela 3: Teor de fenóis totais obtida pelo método folin-ciocalteau dos extratos de *Capsicum frutescens L.*

Extrato	FENÓIS TOTAIS (mg EAG/g de extrato bruto)	Código
Etanólico das folhas	34,96	EEFCF
Etanólico do fruto	45,48	EEFRCF
Etanólico dos galhos	29,70	EEGCF
Etanólico das raízes	38,46	EERCF

O extrato que apresentou a maior concentração de fenóis foi o etanólico do fruto, e também o que apresentou a pior atividade antioxidante. Pode-se observar uma relação inversa entre ambos os testes, uma vez que os fenóis são bons antioxidantes, porém é possível acontecer os resultados falsos positivos, devido a influencia de alguns fatores tais como: ausência de taninos, presença não significativas de flavonóides (SANTOS; BLATT, 1998) e presença de proteínas (SILVA *et al.*, 2010).

## 5 CONCLUSÃO

Diante das pesquisas realizadas, pôde-se constatar a presença de esteróides livres e taninos flobabênicos que se caracterizam por serem os metabólitos secundários presentes nos extratos do material vegetal coletado. A atividade antioxidante de *Capsicum frutescens L.*, quando comparada com o padrão positivo é considerada baixa, apresentando a IC50 muito elevada, onde o extrato que apresentou uma maior atividade foi o etanólico das raízes com 138,54 ppm. A planta apresentou um baixo teor de fenóis, o que comprova assim a relação existente entre fenóis e a atividade antioxidante.

Vale salientar que apenas os testes fitoquímicos não são suficientes para validar uma espécie como terapêutica, é necessário realizar outros testes biológicos como, por exemplo, toxicidade, teste esse que será realizados posteriormente para uma melhor avaliação da *Capsicum frutescens L.*

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, H. M. **Plantas como fonte de fitofármacos.** Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola. n° 3, p. 01-06. 2001.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.** 3. ed., Fortaleza: Escola Superior de Agricultura de Mossoró, 1976, 234 p.

LEE, J. J.; *et al.* Impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (*Capsicum spp.*). **Scientia Horticulturae**, v.106, p.341-352, 2005.

- LONG-SOLIS. **Capsicum y cultura:** la historia del chilli. México: Ed. Fundo de Cultura Econômica. P.240, 1998.
- MACIEL M. A. M. et al. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, 25:429-438. 2002.
- MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental.** 3 ed. – Fortaleza: Edições UFC, 2009. p. 47-54.
- PERUCKA, L.; OLESZEK, W. Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annuum* L. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography. **Innovative Food Science & Emerging Technologies.** v.7, p.189-192, 2000.
- PINTO, A. C. et al. Produtos Naturais: Atualidade, Desafios E Perspectivas. **Quim. Nova**, Vol. 25, Supl. 1, 45-61, 2002.
- REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.) **Capsicum:** pimentas e pimentões no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000.
- RISTORI, C. A.; PEREIRA, M. A. S.; GELLI, D. S. O efeito da pimenta do reino moída frente a contaminação in vitro com *Salmonella* Rubslaw. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 62, n. 2, p. 131-133, 2002.
- ROSA, A. et al. Antioxidant Activity of Capsinoids. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 25, p. 7396-7401, novembro. 2002.
- SANTOS, M. D.; BLATT, C. T. T. Teor de flavonóides e fenóis totais em folhas de *Pyrostegia venusta* miers de mata e de cerrado. **Rev. Bras. Bot.** Vol. 21, n. 2, São Paulo, ago. 1998.
- SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.
- WAGNER, C. M. **Variedade e base genética da pungência e da caracteres do fruto:** implicações no melhoramento de uma população de *Capsicum annuum* L. 2003. 104 p. Dissertação (Mestrado Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.