

Estudo da influência da temperatura de secagem e solvente extrator na capacidade antioxidante de folhas *Plantago major*

Study of the influence of drying temperature and extractive solvent on the antioxidant capacity of *Plantago major* leaves

10.32712/2446-4775.2019.827

Santos, Katlyn Bazoli dos¹; Tonin, Lilian Tatiani Dusman^{1*}.

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Coordenação do Curso de Licenciatura em Química (COLIQ). Rua Marcílio Dias, 635, Jardim Paraíso, CEP 86812-460, Apucarana, Paraná, Brasil.

*Correspondência: liliandusman@utfpr.edu.br.

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da temperatura de secagem e solvente extrator na composição de fenóis totais, flavonoides e capacidade antioxidante das folhas da *Plantago major* (nome comum Brasileiro: Tansagem). O conteúdo de fenóis totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu e de flavonoides com $AlCl_3$. A capacidade antioxidante foi determinada pelos métodos de sequestro do radical livre DPPH[•] e ABTS^{•+}. Os resultados demonstraram que o solvente EtOH/H₂O 70:30 v/v (40 °C) foi o mais eficiente na extração de fenólicos totais. O aumento da temperatura de secagem diminuiu o percentual destes compostos, mas influenciou pouco na degradação dos flavonoides. O aumento da temperatura de secagem diminuiu também o potencial antioxidante dos extratos pelo método de sequestro do radical DPPH[•]. A melhor resposta frente este radical foi com EtOH/H₂O 70:30 v/v e MeOH/H₂O 95:5 v/v (40 °C). A atividade antioxidante pelo método ABTS^{•+} teve pouca influência da temperatura de secagem e do solvente extrator. Nossos estudos colaboram para desenvolver formulações da tansagem que levem a um melhor aproveitamento dos seus componentes principais, incluindo produtos farmacêuticos, alimentícios e cosméticos industriais.

Palavras-chave: *Plantago major*. Fenóis totais. Flavonoides. Capacidade antioxidante.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the influence of drying temperature and extractive solvent on the composition of total phenols, flavonoids and antioxidant capacity of *Plantago major* leaves (common name Brazilian: Tansagem). The content of total phenols was determined by the Folin-Ciocalteu method and flavonoids by the $AlCl_3$. The antioxidant capacity was determined by the free radical scavenger DPPH[•] and ABTS^{•+} methods. The results demonstrated that the EtOH/H₂O 70:30 v/v solvent (40 °C) was the most efficient

in the extraction of total phenolics. The increase in the drying temperature decreased the percentage of these compounds, but little influenced the degradation of flavonoids. The increase in the drying temperature decreased the antioxidant potential of the extracts. The best response against this radical was using EtOH/H₂O 70:30 v/v and MeOH/H₂O 95:5 v/v (40 °C). The antioxidant activity by the ABTS⁺ method had little influence on drying temperature and extractor solvent. Our studies collaborate to develop formulations of the tansagem that lead to better use of its main components, including pharmaceutical, food and cosmetic industries products.

Keywords: *Plantago major*. Total Phenols. Flavonoids. Antioxidant capacity.

Introdução

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^[1]. 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 Ministério da Saúde. Dentre estas plantas encontra-se a tansagem (*Plantago major*), objeto de estudo deste trabalho^[2].

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^[3]. Essa planta é utilizada na medicina popular brasileira como anti-inflamatório, antibiótico, para infecções da boca, garganta, urinárias, ginecológicas e oculares, diurético, analgésico, antigripal, cicatrizante, eupéptico, antiúlcera gástrica, contra cálculos renais, contra hidropisias e antiespasmódico^[4].

A Tansagem apresenta algumas propriedades terapêuticas como, atividade anti-inflamatória e hematoprotetora^[5-7], antibacteriana^[8], anticâncer^[9], atividade antioxidante^[10-12], antiviral^[13,14], antidiabética^[15], entre outras. Seus constituintes químicos principais são alcaloides, compostos fenólicos (derivados do ácido cafeico), flavonoides (principalmente luteolina e apigenina), alcaloides, terpenoides e iridoides glicosilados, ácidos graxos, polissacarídeos e vitaminas. Estes compostos podem ser encontrados em quase todas as partes da planta, como semente, folhas, flores e raízes^[16].

As evidências sobre o seu efeito prejudicial dos radicais livres no organismo têm motivado cada vez mais as pesquisas em relação aos antioxidantes. Seu excesso no organismo exibe efeitos maléficos, estando relacionados com várias patologias^[17,18].

A busca por compostos bioativos de origem natural com alta capacidade antioxidante vem aumentando nas duas últimas décadas, principalmente devido ao seu potencial preventivo^[19]. Encontrar métodos extrativos eficientes é importante para a obtenção de um produto final com elevados teores de substâncias ativas, e uma das estratégias é combinar solventes com diferentes polaridades^[20].

A secagem é o processo no qual um líquido é retirado da superfície ou interior de um material através da evaporação e transferência de calor e massa. Apresenta vantagens por aumentar a vida útil, ter baixo custo,

facilitar a armazenagem e o transporte dos produtos e concentrar seus componentes químicos^[21]. Apesar das vantagens, um grande número de transformações químicas ocorre durante a operação de secagem juntamente com as transformações físicas, sendo necessária a análise da qualidade do produto final^[22]. Estudos realizados com produtos naturais têm demonstrado a influência da temperatura de secagem e do solvente extrator na atividade antioxidante e na extração de compostos bioativos^[23-26].

O presente trabalho teve como objetivo realizar a secagem das folhas da 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.

Material e Métodos

Coleta e secagem das folhas de tansagem

As folhas de *P. major* (tansagem) foram coletadas no Colégio Agrícola Manoel Ribas de Apucarana e identificadas pelo Engenheiro Agrônomo Nilton Yoshio Fukushima. A secagem das folhas da tansagem foi realizada em estufa de circulação e renovação de ar (marca SOLAB, modelo 102/480) nas temperaturas de 40, 60 e 80 °C, até peso constante. Após a secagem, os produtos desidratados foram triturados em liquidificador doméstico, armazenados e mantidos em geladeira para a realização das análises.

Preparação dos extratos

Os produtos desidratados foram submetidos à extração com os solventes: etanol/água (EtOH/H₂O) 95:5 e 70:30 (v/v), metanol/água (MeOH/H₂O) 95:5 e 70:30 (v/v). Para a extração foram utilizados 1,00 g das folhas e 100 mL de cada solvente, durante 24 h sob agitação magnética ao abrigo da luz. Após este tempo, os extratos foram filtrados, utilizando-se funil analítico e papel filtro qualitativo (80 g/m²), para balões volumétricos de 100 mL e o volume ajustado. Os extratos foram armazenados sob refrigeração ao abrigo da luz para análises posteriores.

Determinação do teor de flavonoides totais

Os flavonoides totais dos extratos foram determinados segundo metodologia reportada na literatura^[27] com modificações. Foram pipetados 2,0 mL de cada extrato na concentração de 10.000 µg mL⁻¹ em tubos de ensaio individualmente. Adicionou-se 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 min, a 425 nm em espectrofotômetro (Agilent 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 µg mL⁻¹ ($y = 0,001x - 0,013$; $R^2 = 0,994$). Os resultados foram expressos em mg de rutina por grama de extrato.

Determinação do conteúdo de fenóis totais

O conteúdo de fenóis totais dos extratos foi determinado usando o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia descrita^[28]. Foram adicionados 0,5 mL do extrato na concentração de 10.000 µg mL⁻¹, 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 min adicionou-se 1,0 mL de uma solução de carbonato de sódio saturada a 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 (Agilent 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 ($y = 5,634x - 0,032$; $R^2 = 0,997$) e os resultados foram expressos em mg EAG 100 g^{-1} de amostra, onde EAG representa o equivalente em ácido gálico.

Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre DPPH

Para determinação da atividade antioxidante dos extratos foi utilizada uma solução 60 μM de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) em metanol (MeOH). Em uma cubeta adicionaram-se 2,0 mL de amostra (concentrações de 10.000 e 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e 2,0 mL da solução do radical DPPH. Para o controle positivo foram adicionados 2,0 mL de MeOH e 2,0 mL da solução do radical, enquanto que para o branco da amostra, adicionaram-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 min^[29]. 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 absorvância do controle positivo, (A_b) a absorvância do branco e (A_a) representa a absorvância da amostra. Foi utilizado como padrão o BHT (butil-hidroxi-tolueno) e ácido ascórbico a uma concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

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

Determinação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre ABTS^{•+}

A atividade antioxidante dos extratos foi determinada segundo a metodologia descrita na literatura^[30]. 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 μL da solução de persulfato de potássio (378,4 mg persulfato de potássio em 10,0 mL de água). A mistura foi mantida no escuro à temperatura ambiente, por 16 h. A seguir a mistura foi diluída até obter uma absorvância de 0,70 a 734 nm. Foram adicionados 33,0 μL do extrato (concentração 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) em uma cubeta contendo 3,0 mL do radical ABTS^{•+}. Para o controle positivo foram adicionados 33,0 μL de MeOH e 3,0 mL da solução do radical, enquanto que para o branco da amostra, adicionaram-se 3,0 mL de MeOH e 33,0 μL da solução do extrato. Foram realizadas as leituras a cada minuto em espectrofotômetro (Agilent Technologies, modelo Cary 60 UV-VIS) a 734 nm, durante 30 min. A atividade antioxidante foi expressa como porcentagem de inibição em relação ao controle positivo, de acordo com a equação (1).

Análise estatística

Os resultados apresentados foram obtidos por meio da média de três repetições \pm 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 InStat, Versão 3.02 (1998).

Resultados e Discussão

A secagem das folhas de *P. major* foi realizada nas temperaturas de 40, 60 e 80 °C, com tempos de secagem de 5,2; 2,1 e 1,5 h respectivamente, demonstrando que o aumento da temperatura proporcionou

a aceleração do processo, o que reduziu o tempo de secagem. Os rendimentos foram respectivamente de 8,0%, 7,7% e 7,6%.

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^[31]. O conteúdo de fenólicos totais dos extratos da tansagem está apresentado na **TABELA 1**.

O método espectrofotométrico utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, consiste de uma mistura de cor amarela dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstístico em meio básico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6+. Na presença de agentes redutores forma-se um complexo molibdênio-tungstênio azul, no qual a média do estado de oxidação dos metais está entre 5+ e 6+. Este não é um método específico, pois detecta todos os grupos fenólicos presentes no extrato, incluindo aqueles presentes nas proteínas extraíveis e substâncias como ácido ascórbico^[32].

O teor de compostos fenólicos totais da tansagem revelou que o solvente EtOH/H₂O 70:30 v/v da secagem a 40 °C foi o mais eficiente na extração destes compostos. 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, ressaltando a influência da temperatura na estabilidade dos compostos fenólicos da tansagem. Comparando-se a eficiência dos solventes, EtOH/H₂O 70:30 v/v foi o mais eficiente para as temperaturas de 40 e 60 °C e MeOH/H₂O 95:5 v/v o mais eficiente para a temperatura de 80 °C. Diversos autores têm estudado o melhor método e solvente para a extração de compostos fenólicos de diferentes matrizes, sendo que a escolha mais apropriada varia de acordo com o objetivo de aplicação, gerando economia e eficiência no processo^[33,34].

TABELA 1: Resultados dos compostos fenólicos totais em mg EAG 100 g⁻¹ amostra para os diferentes extratos da tansagem.

Solvente (v/v)	40 °C	60 °C	80 °C
EtOH/H ₂ O 95:5	613,5 ± 2,50 ^{b, B}	236,5 ± 2,40 ^{d, G}	256,3 ± 7,50 ^{c, G}
EtOH/H ₂ O 70:30	745,9 ± 37,2 ^{a, A}	474,3 ± 9,90 ^{a, C, D}	325,8 ± 7,80 ^{b, F}
MeOH/H ₂ O 95:5	663,1 ± 38,6 ^{b, B}	385,5 ± 23,7 ^{b, E}	421,7 ± 16,1 ^{a, D, E}
MeOH/H ₂ O 70:30	508,6 ± 12,0 ^{c, C}	285,1 ± 21,7 ^{c, F, G}	274,3 ± 3,40 ^{c, F, G}

Resultados expressos como média ± 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.

A **TABELA 2** apresenta os teores de flavonoides totais para os extratos da tansagem. As condições que apresentaram maior teor de flavonoides totais foram as extrações realizadas com os solventes MeOH/H₂O 95:5 v/v com a tansagem seca a 40 e 60 °C e EtOH/H₂O 95:5 v/v a 80 °C, não apresentando diferenças significativas entre seus valores. Observa-se que o aumento da temperatura de secagem foi pouco eficiente na degradação dos flavonoides em decorrência da diminuição do tempo de secagem. Nossos dados corroboram com os resultados reportados na literatura referente a secagem do taro^[35] e polpa de camu-camu^[36], nos quais foram observados que apesar de os flavonoides serem compostos termossensíveis, estão sujeitos a uma maior degradação quando submetidos a altas temperaturas por tempo prolongado.

TABELA 2: Valor de flavonoides totais presentes nos extratos de tansagem em mg de rutina 100 g⁻¹.

Solvente (v/v)	40 °C	60 °C	80 °C
EtOH/H ₂ O 95:5	283,41 ± 12,60 ^{b, C, D}	311,60 ± 6,26 ^{b, B, C}	338,57 ± 0,85 ^{a, A, B}
EtOH/H ₂ O 70:30	275,18 ± 14,16 ^{b, D}	116,07 ± 8,74 ^{c, F}	125,73 ± 12,04 ^{c, F}
MeOH/H ₂ O 95:5	356,58 ± 2,60 ^{a, A}	346,37 ± 4,45 ^{a, A}	242,27 ± 23,08 ^{b, E}
MeOH/H ₂ O 70:30	12,17 ± 7,57 ^{c, G}	33,80 ± 7,54 ^{d, G}	< 1,0

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

A **TABELA 3** apresenta a porcentagem de atividade antioxidante para os extratos da tansagem na concentração de 10.000 µg mL⁻¹ frente o radical DPPH nos tempos de 0, 5 e 30 min.

O comportamento cinético do composto pode ser classificado de acordo com o tempo de consumo de 50% do radical DPPH (TC₅₀). Quando TC₅₀ é menor que 5 min a cinética é classificada como rápida, intermediária se TC₅₀ está entre 5 e 30 min ou lenta quando TC₅₀ apresenta-se maior do que 30 min^[37].

O BHT e o ácido ascórbico na concentração de 100 µg mL⁻¹ foram utilizados como controle positivo (padrão) para a atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre DPPH. O ácido ascórbico apresentou uma cinética rápida, inibindo 94,7% do radical em um tempo menor que 5 min, enquanto o BHT apresentou uma cinética lenta, inibindo 32,2% do radical DPPH em 30 min.

TABELA 3: Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de *P. major* na concentração de 10.000 µg mL⁻¹ nos tempos de 0, 5 e 30 min.

Solvente (v/v)/T (min)	40 °C	60 °C	80 °C
EtOH/H ₂ O 95:5 T=0	98,42 ± 0,31 ^{a, b, c}	78,37 ± 1,13 ^d	65,88 ± 1,06 ^d
EtOH/H ₂ O 95:5 T=5	99,07 ± 0,46 ^{a, b}	86,72 ± 0,17 ^c	76,81 ± 0,31 ^d
EtOH/H ₂ O 95:5 T=30	98,94 ± 0,30 ^{a, b, c}	92,24 ± 0,95 ^b	93,60 ± 0,32 ^{a, b}
EtOH/H ₂ O 70:30 T=0	98,19 ± 0,52 ^{a, b, c}	95,96 ± 0,29 ^{a, b}	79,00 ± 0,10 ^d
EtOH/H ₂ O 70:30 T=5	98,23 ± 0,49 ^{a, b, c}	97,70 ± 0,30 ^{a, b}	92,42 ± 0,69 ^{b, c}
EtOH/H ₂ O 70:30 T=30	98,23 ± 0,48 ^{a, b, c}	97,99 ± 0,46 ^a	94,79 ± 0,73 ^{a, b}
MeOH/H ₂ O 95:5 T=0	98,73 ± 0,65 ^{a, b, c}	94,46 ± 1,40 ^{a, b}	91,95 ± 1,04 ^{b, c}
MeOH/H ₂ O 95:5 T=5	99,55 ± 0,77 ^a	96,00 ± 0,79 ^{a, b}	95,99 ± 0,35 ^a
MeOH/H ₂ O 95:5 T=30	98,93 ± 0,58 ^{a, b, c}	98,30 ± 0,66 ^a	96,64 ± 0,57 ^a
MeOH/H ₂ O 70:30 T=0	96,53 ± 0,43 ^{b, c}	95,54 ± 1,31 ^{a, b}	68,27 ± 0,43 ^d
MeOH/H ₂ O 70:30 T=5	96,54 ± 0,41 ^{b, c}	96,15 ± 1,09 ^{a, b}	90,39 ± 0,46 ^c
MeOH/H ₂ O 70:30 T=30	96,40 ± 0,56 ^{b, c}	96,79 ± 0,95 ^a	94,41 ± 0,20 ^{a, b}

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 3** revela que os extratos que apresentaram maior potencial antioxidante foram: a 40 °C com os solventes EtOH/H₂O 95:5 e 70:30 e MeOH/H₂O 95:5; a 60 °C com os solventes EtOH/H₂O 70:30 e MeOH/H₂O 95:5 e 70:30, não apresentando diferença significativa entre seus valores. Todos os extratos apresentaram cinética rápida e altos valores de porcentagem de atividade antioxidante. Para a secagem a 80 °C os melhores resultados de atividade antioxidante foram para o solvente MeOH/H₂O 95:5 inibindo 92% do radical no tempo zero, e os demais solventes foram menos ativos, porém também com cinética rápida. Os extratos de tansagem apresentaram atividade antioxidante maior que o padrão BHT, e similar ao ácido ascórbico.

A **TABELA 4** apresenta a porcentagem de atividade antioxidante para os extratos da tansagem na concentração de 1.000 µg mL⁻¹ frente o radical DPPH nos tempos de 0, 5 e 30 min.

Nesta concentração também foi possível verificar diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os extratos e temperaturas de secagem. Para a secagem a 40 °C os solventes extratores que apresentaram maior potencial antioxidante foram o EtOH/H₂O 70:30 e MeOH/H₂O 95:5, não apresentando diferença significativa entre seus valores ($p < 0,05$), com cinética rápida. Para a secagem a 60 °C e 80 °C o solvente MeOH/H₂O 70:30 foi o mais ativo.

O aumento da temperatura de secagem diminuiu o potencial antioxidante dos extratos, excetuando-se o MeOH/H₂O 70:30. Para as folhas da tansagem, a melhor resposta de sequestro do radical livre DPPH foi secando-as a 40 °C e extraíndo seus compostos bioativos com EtOH/H₂O 70:30 e MeOH/H₂O 95:5.

Os resultados demonstram a influência da concentração na atividade antioxidante, quanto maior a concentração, maior a atividade (**TABELAS 3 e 4**).

TABELA 4: Percentual de inibição do radical DPPH dos diferentes extratos de *P. major* na concentração de 1.000 µg mL⁻¹ nos tempos de 0, 5 e 30 min.

Solvente (v/v)/T (min)	40 °C	60 °C	80 °C
EtOH/H ₂ O 95:5 T=0	47,44 ± 1,03 ^{d, e, f}	16,06 ± 0,44 ^{b, c}	6,26 ± 0,43 ^h
EtOH/H ₂ O 95:5 T=5	50,51 ± 1,01 ^{c, d, e}	15,18 ± 0,36 ^{b, c}	9,06 ± 0,60 ^{g, h}
EtOH/H ₂ O 95:5 T=30	57,57 ± 1,03 ^{b, c}	16,95 ± 0,32 ^{b, c}	13,15 ± 0,56 ^{f, g}
EtOH/H ₂ O 70:30 T=0	56,83 ± 1,39 ^{b, c}	20,19 ± 2,07 ^{b, c}	12,18 ± 1,45 ^{f, g, h}
EtOH/H ₂ O 70:30 T=5	58,10 ± 2,68 ^{b, c}	22,42 ± 1,75 ^{b, c}	16,53 ± 1,42 ^{e, f}
EtOH/H ₂ O 70:30 T=30	70,72 ± 1,84 ^a	25,60 ± 2,10 ^b	23,10 ± 1,84 ^{c, d}
MeOH/H ₂ O 95:5 T=0	47,48 ± 2,81 ^{d, e, f}	13,31 ± 2,86 ^c	14,25 ± 2,08 ^{f, g}
MeOH/H ₂ O 95:5 T=5	54,22 ± 2,38 ^{b, c, d}	12,88 ± 0,59 ^c	21,18 ± 1,75 ^{d, e}
MeOH/H ₂ O 95:5 T=30	62,40 ± 2,56 ^{a, b}	19,52 ± 2,07 ^{b, c}	28,27 ± 1,35 ^c
MeOH/H ₂ O 70:30 T=0	41,45 ± 0,68 ^f	41,52 ± 1,06 ^a	44,28 ± 0,35 ^b
MeOH/H ₂ O 70:30 T=5	44,79 ± 0,10 ^{e, f}	40,48 ± 5,09 ^a	48,78 ± 0,36 ^{a, b}
MeOH/H ₂ O 70:30 T=30	47,34 ± 0,52 ^{d, e, f}	44,06 ± 1,99 ^a	52,30 ± 0,77 ^a

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.

A interação de uma substância antioxidante com o DPPH· depende, principalmente, de sua conformação estrutural e do número de grupos hidroxílicos disponíveis. Entretanto, para a maioria das substâncias testadas o mecanismo parece ser muito mais complexo, sendo necessários estudos mais aprofundados^[29].

Estudos demonstraram potencial antioxidante superior do extrato etanólico de *P. major*, quando comparado aos extratos preparados com água (quente e gelada), pelo método de sequestro do radical livre DPPH^[12]. Relatos sobre o potencial antioxidante do extrato metanólico da tansagem, sugerem que os compostos responsáveis por esta propriedade são provavelmente compostos fenólicos que possuem grupos hidroxila, e os flavonoides que possuem os mesmos grupos nas posições 3', 4' no anel B e/ou na posição C-3^[38].

Além disso, a ligação dupla C2-C3 conjugada com um grupo 4-ceto, é responsável pela deslocalização de elétrons do anel B, aumentando ainda mais a capacidade de eliminação de radicais livres e/ou sua remoção^[39,40]. A ausência dos grupos OH no anel B e, a presença de grupos OH nas posições 7 e 8 do anel A é capaz de compensar e tornar-se um maior determinante da atividade antirradicalar de flavonoides^[41]. Os flavonoides já isolados de *P. major* possuem essas características estruturais^[16], podendo ser os compostos responsáveis pelo alto potencial antioxidante da planta.

A **TABELA 5** apresenta os resultados de atividade antioxidante dos diferentes extratos da tansagem na concentração de 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ determinada pelo método do sequestro do radical livre ABTS^{·+}.

Para as secagens a 40 e 80 °C, no tempo de 30 min, não houve diferença significativa nos valores de atividade antioxidante para os diferentes solventes extratores. Para a secagem a 60 °C o extrato MeOH:H₂O 70:30 foi o que demonstrou maior poder antioxidante. Os resultados de atividade antioxidante pelo método ABTS^{·+}, demonstram pouca influência da temperatura de secagem das folhas da tansagem e do solvente extrator. A cinética das reações quanto à captura do radical ABTS^{·+} apresentou-se de rápida a intermediária em todas as condições testadas.

TABELA 5: Percentual de inibição do radical ABTS^{·+} dos diferentes extratos de *P. major* na concentração de 10.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Solvente (v/v) / T (min)	T = 40 °C	T = 60 °C	T = 80 °C
EtOH/H ₂ O 95:5 T=0	42,01 \pm 0,55 ^d	49,38 \pm 1,08 ^{c, d}	45,27 \pm 1,43 ^c
EtOH/H ₂ O 95:5 T=5	45,72 \pm 0,59 ^{b, c, d}	49,76 \pm 1,23 ^{c, d}	51,08 \pm 1,30 ^b
EtOH/H ₂ O 95:5 T=30	58,50 \pm 4,66 ^a	57,09 \pm 0,74 ^b	61,26 \pm 0,84 ^a
EtOH/H ₂ O 70:30 T=0	44,02 \pm 0,97 ^{c, d}	42,93 \pm 0,52 ^{e, f}	38,85 \pm 0,63 ^d
EtOH/H ₂ O 70:30 T=5	50,56 \pm 1,09 ^b	46,52 \pm 0,69 ^{d, e}	41,56 \pm 0,84 ^{c, d}
EtOH/H ₂ O 70:30 T=30	63,09 \pm 1,70 ^a	56,33 \pm 0,51 ^b	57,88 \pm 0,31 ^a
MeOH/H ₂ O 95:5 T=0	50,12 \pm 2,47 ^{b, c}	41,11 \pm 1,86 ^f	42,14 \pm 1,32 ^{c, d}
MeOH/H ₂ O 95:5 T=5	44,80 \pm 1,54 ^{b, c, d}	44,80 \pm 1,43 ^{d, e, f}	44,77 \pm 1,44 ^c
MeOH/H ₂ O 95:5 T=30	58,10 \pm 0,04 ^a	57,69 \pm 1,10 ^b	58,43 \pm 0,59 ^a
MeOH/H ₂ O 70:30 T=0	46,00 \pm 1,00 ^{b, c, d}	47,32 \pm 1,02 ^{c, d, e}	45,59 \pm 0,72 ^c
MeOH/H ₂ O 70:30 T=5	48,28 \pm 0,86 ^{b, c, d}	52,52 \pm 0,97 ^{b, c}	51,04 \pm 0,98 ^b
MeOH/H ₂ O 70:30 T=30	61,00 \pm 0,88 ^a	63,67 \pm 0,74 ^a	62,40 \pm 0,18 ^a

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.

Nossos estudos colaboram para desenvolver formulações da tansagem que levem a uma melhor utilização da sua biomassa, direcionando estudos de identificação e quantificação dos componentes principais e de ensaios farmacológicos destes extratos.

Conclusão

Para as folhas de *Plantago major* os solventes extratores que forneceram melhores respostas de atividade antioxidante foram EtOH/H₂O 70:30 e MeOH/H₂O 95:5 preparados a partir das folhas secas a 40 °C. O aumento da temperatura de secagem influenciou negativamente no potencial antioxidante dos extratos. Para a secagem a 40 °C o extrato etanólico 70:30 foi o que apresentou maior conteúdo de fenóis e o metanólico 95:5 o que apresentou maior conteúdo de flavonoides, observando-se uma correlação positiva entre o conteúdo de fenóis totais e flavonoides com a atividade antioxidante da tansagem.

Referências

1. Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz J Med Biol Res.** 2000; 33: 179-189. ISSN: 1414-431X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
2. Agência Saúde. **MS elabora Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS.** 2009. [[Link](#)].
3. Samuelsen AB, Lund I, Djahromi JM, Paulsen BS, Wold JK, Knutsen SH. The traditional uses chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. **J Ethnopharmacol.** 2000; 71: 1-21. ISSN 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
4. Messias MCTB, Menegatto MF, Prado ACC, Santos BR, Guimarães MFM. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Rev Bras PI Med.** 2015; 17(1): 76-104. ISSN 1516-0572. [[CrossRef](#)].
5. Türel I, Özbek H, Erten R, Öner AC, Cengiz N, Yilmaz O. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. **Indian J Pharmacol.** 2009; 41(3): 120-124. ISSN 0253-7613. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
6. Hussan F, Mansor AS, Hassan SN, Kamaruddin TNTNE, Budin SB, Othman F. Anti-Inflammatory property of *Plantago major* leaf extract reduces the inflammatory reaction in experimental acetaminophen-induced liver injury. **Evid Based Complement Alternat Med.** 2015; 2015:1-7. ISSN 1741-4288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
7. Mello JC, Gonzalez MVD, Moraes VWR, Prieto T, Nascimento OR, Rodrigues T. Protective effect of *Plantago major* extract against t-BOOH-induced mitochondrial oxidative damage and cytotoxicity. **Molecules.** 2015; 20: 17747-17759. INSS 1420-3049. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
8. Metiner K, Özkan O, Ak S. Antibacterial effects of ethanol and acetone Extract of *Plantago major* L. on gram positive & gram negative bactéria. **Kafkas Univ Vet Fak Derg.** 2012; 18(3): 503-505. ISSN 1300-6045. [[CrossRef](#)].
9. Kartini SP, Suchitra T, Pongpun S, Omboon V. Effects of *Plantago major* extracts and its chemical compounds on proliferation of cancer cells and cytokines production of lipopolysaccharide-activated THP-1 macrophages. **Pharmacogn Mag.** 2017; 13: 393-399. ISSN 0973-1296. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

10. Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **Afr J Biotechnol.** 2006; 5(11): 1-4. ISSN 1684-5315. [[Link](#)].
11. Souri E, Amin G, Farsam H, Barazandeh TM. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plant extracts. **DARU.** 2008; 16(2): 83-87. ISSN 2008-2231. [[Link](#)].
12. Kobeasy MI, Abdel-Fatah OM, El-Salam SMA, Mohamed ZEOM. Biochemical studies on *Plantago major* L. and *Cyamopsis tetragonoloba* L. **Int J Biodiver Conserv.** 2011; 3(3): 83-91. ISSN 2141-243X. [[Link](#)].
13. Chiang LC, Chiang W, CHANG MY, Ng LT, Lin CC. Antiviral activity of *Plantago major* extracts and related compounds in vitro. **Antiviral Res.** 2002; 55(1): 53-62. ISSN 0166-3542. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
14. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Lin CC. *In vitro* cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. **Am J Chin Med.** 2003; 31(2): 225-234. ISSN 0192-415X. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
15. Abdulghani MA, Hamid I, Al-Naggar RA, Osman MT. Potential antidiabetic activity of *Plantago major* leaves extract in streptozocin-induced diabetic rats. **Res J Pharm Biol Chem Sci.** 2014; 5(2): 896-902. ISSN 0975-8585.
16. Adom MB, Taher M, Mutalabisin MF, Amri MS, Kudos MBA, Sulaiman MWW, et al. Chemical constituents and medical benefits of *Plantago major*. **Biomed Pharmacother.** 2017; 96: 348-360. ISSN 0753-3322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
17. Halliwell B, Aeschbach R, Lolinger J, Aruoma OI. The characterization of antioxidants. **Food Chem Toxicol.** 1995; 33: 601-617. ISSN 0278-6915. [[CrossRef](#)].
18. 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. **Mutat Res.** 1999; 443: 37-52. ISSN 0027-5107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
19. Gil-Chávez GJ, Villa JA, Ayala-Zavala J, Heredia JB, Sepulveda D, Yahia EM, et al. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. **Compr Rev Food Sci Food Saf.** 2013; 12(1): 5-23. ISSN 1541-4337. [[CrossRef](#)].
20. Gonzalez M, Gonzalez V. Sample preparation of tropical and subtropical fruit biowastes to determine antioxidant phytochemicals. **Anal Methods.** 2010; 2(12): 1842-1866. ISSN 1759-9660. [[CrossRef](#)].
21. Celestino SMC. **Princípios de secagem de alimentos.** Planaltina - DF: Embrapa Cerrados; 2010. ISSN 2176-5081. [[Link](#)].
22. Labuza TP. **Moisture sorption: practical aspects of isotherm measurement and use.** St. Paul: American Associations of Cereal Chemists. Cereal Chemists. 1984:150p. [[CrossRef](#)].
23. Da Silva CFG, Suzuki RM, Canesin EA, Tonin LTD. Otimização do processo de extração de compostos fenólicos do jiló (*Solanum gilo* Radi) e aplicação na estabilidade oxidativa do óleo de soja. **Rev Virtual Quim.** 2017; 9: 729-739. ISSN 1984-6835. [[CrossRef](#)].
24. Tonetti CR, Suzuki RM, Tonin LTD. Efeito antioxidante do extrato do resíduo da produção do vinho na estabilidade oxidativa do óleo de soja. **Braz J Food Res.** 2016; 7: 1-15. ISSN 2448-3184. [[CrossRef](#)].
25. Silva CFG, Mendes MP, Almeida VV, Michels RN, Sakanaka LS, Tonin LTD. Parâmetros de qualidade físico-químicos e avaliação da atividade antioxidante de folhas de *Plectranthus barbatus* Andr. (Lamiaceae) submetidas a diferentes processos de secagem. **Rev Bras PI Med.** 2016; 18: 48-56. ISSN 1983-084X. [[CrossRef](#)].

26. Sobota JF, Pinho MG, Oliveira VB. Perfil físico-químico e atividade antioxidante do cálice da espécie *Hibiscus sabdariffa* L. a partir do extrato aquoso e alcoólico obtidos por infusão e decocto. **Rev Fitos**. 2016; 10(1): 33-46. ISSN 2446-4775. [[CrossRef](#)].
27. Peixoto Sobrinho TJS, Gomes TLB, Cardoso KCM, Amorim ELC, Albuquerque UP. Otimização de metodologia analítica para o doseamento de flavonoides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Quim Nova**. 2010; 33: 288-291. ISSN 0100-4042. [[CrossRef](#)].
28. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods Enzymol**. 1999; 299: 152-178. ISSN 0076-6879. [[CrossRef](#)].
29. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Sci Technol**. 1995; 22: 25-30. ISSN 0023-6438. [[CrossRef](#)].
30. Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Perez-Jimenez J, et al. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Embrapa: **Comunicado Técnico online**. 2007; 127: 1-4. ISSN 1679-6535. [[Link](#)].
31. Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Nascimento RJ. Capacidade antioxidante de frutas. **Rev Bras Cienc Farm**. 2008; 44:193-201. ISSN 1516-9332. [[CrossRef](#)].
32. Naczki M, Shahidi F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J Chromatogr A**. 2004; 1054(1/2): 95-111. ISSN 0021-9673. [[CrossRef](#)].
33. Casagrande M, Zanela J, Júnior AW, Busso C, Wouk J, Iurckevicz G, et al. Influence of time, temperature and solvent of the extraction of bioactive compounds of *Baccharis dracunculifolia*: *In vitro* antioxidant activity, antimicrobial potential, and phenolic compound quantification. **Ind Crop Prod**. 2018; 125: 207-2019. ISSN 0926-6690. [[CrossRef](#)].
34. Behbahani BA, Yazdi FT, Shahidi F, Hesarinejad MA, Mortazani AS, Mohebbi M. *Plantago major* seed mucilage: Optimization of extraction and some physicochemical and rheological aspects. **Carbohydr Polym**. 2017; 155: 68-77. ISSN 0144-8617. [[CrossRef](#)].
35. Castro DS, Oliveira TKB, Lemos DM, Rocha APT, Almeida RD. Efeito da temperatura sobre a composição físico-química e compostos bioativos de farinha de taro obtida em leite de jorro. **Braz J Food Technol**. 2017; 20: 1-5. ISSN 1981-6723. [[CrossRef](#)].
36. Fujita A, Borges K, Correia R, Franco BDGM, Genovese MI. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaughn). **Food Res Int**. 2013; 54(1): 495-500. INSS 0963-9969. [[CrossRef](#)].
37. Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **J Sci Food Agric**. 1998; 76: 270-276. ISSN 0022-5142. [[CrossRef](#)].
38. Amic D, Davidovic-Amic D, Beslo D, Trinajstić N. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. **Croat Chem Acta**. 2003; 76(1): 55-61. ISSN 0011-1643. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
39. Cao G, Sofic E, Prior RL. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radic Biol Med**. 1997; 22(5): 749-760. ISSN 0891-5849. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
40. Heijnen CGM, Haenen GRMM, Van Acker WJF, Van Der Vijgh FAA, Bast A. Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. **Toxicol in Vitro**. 2001; 15: 3-6. ISSN 0887-2333. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

41. Arora A, Nair MG, Strasburg GM. Structure–activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. **Free Radic Biol Med**. 1998; 24(9): 1355–1363. ISSN 1873-4596. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 19/06/2019 | **Aceite:** 11/10/2019 | **Publicação:** 08/11/2019

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Santos KB, Tonin LTD. Estudo da influência da temperatura de secagem e solvente extrator na capacidade antioxidante de folhas *Plantago major*. **Revista Fitos**. Rio de Janeiro. 2019; 13(3): 200-211. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/810>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

