

## INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO GAMA NA AÇÃO ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS BRUTOS DE FOLHAS DE ANACARDIUM OCCIDENTALE LINN.

Gustavo Henrique Farias dos Santos<sup>1</sup>; Edvane Borges da Silva<sup>1,2</sup>; Claudia Sampaio de  
Andrade Lima<sup>3</sup> e Ademir de Jesus Amaral<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Estudos em Radioproteção e Radioecologia – GERAR  
Departamento de Energia Nuclear (DEN/UFPE)  
Av. Professor Luiz Freire, nº 1000 - CDU  
50740-540 Recife, PE, Brasil

<sup>2</sup> Centro Acadêmico de Vitória (CAV/UFPE)  
Alto do Reservatório, S/N – Bela Vista  
50010-921 - Vitória de Santo Antão, PE, Brasil

<sup>3</sup> Departamento de Biofísica e Radiobiologia, Universidade Federal de Pernambuco  
Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cid. Universitária, Recife, PE  
Recife, PE, Brasil. CEP. 50670-901

### RESUMO

*Anacardium occidentale* Linn. é uma planta conhecida popularmente por cajueiro, comumente encontrada no Nordeste do Brasil, sendo de grande interesse científico, por conter altos níveis de compostos bioativos, como polifenóis, flavonóides e taninos, que caracterizam suas aplicações como antioxidantes naturais, o qual pode contribuir na proteção contra processos oxidativos no organismo humano. O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da irradiação gama do <sup>60</sup>Co na ação antioxidante dos extratos de folhas de *A. occidentale*. Os extratos de *A. occidentale* foram extraídos com etanol 70%, evaporadas sob pressão reduzida e divididas em amostras controle e irradiação a 10 kGy. Analisando posteriormente o sequestro de radical DPPH (concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 ppm) e poder redutor (concentrações de 25; 50; 100; 200; 400; 600; 800 e 1000 ppm). Os resultados evidenciaram aumento das ações antioxidantes dependente da concentração e da dose de 10 kGy em ambos ensaios. Porém, o sequestro de DPPH exibiu variações de atividade de 50% a 92%, para controle, e de 75% e 100% para irradiados. Observa-se que as amostras irradiadas apresentaram atividade máxima (100%) em uma concentração 4 vezes menor (50 ppm) que as amostras controle. Apresentando CE<sub>50</sub> dos padrões de BHT (235,8%) e Vitamina C (63,5%) muito baixos quando comparados com o controle extratos (8,1%) e os irradiados (0,48). Contudo, os resultados obtidos nesse estudo indicam que os extratos de folhas de *A. occidentale* irradiados na dose de 10 kGy apresentam forte ação antioxidante frente ao radical DPPH e poder redutor, o que permite vislumbrar a sua utilização como fonte natural de antioxidantes.

### 1. INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços na indústria químico-farmacêutica, o alto custo dos fármacos convencionais, além dos diversos problemas que surgem em decorrência dos seus usos, tais como a maior agressão ao organismo humano e a notória incidência de efeitos colaterais, tem-se percebido um crescente interesse dos pesquisadores em estudar os fitoterápicos de tal forma que estes possam, em diversas situações, substituir as drogas utilizadas nas mais diversas especialidades médicas, em todo o mundo [1].

O uso de antimicrobianos sintéticos em demasia levou ao surgimento e à disseminação de micro-organismos resistentes aos compostos antimicrobianos disponíveis no mercado [2,3]. Isto incentivou a busca por novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas, tais como as plantas utilizadas na medicina tradicional, que se apresentam como potenciais fontes de agentes de novas moléculas bioativas, as quais permitem a eficiência do tratamento a bacterioses e são combatentes de doenças consequentes da ação microbiana [4,5].

No entanto, os estudos científicos experimentais são essenciais para confirmar as possíveis propriedades antibióticas de um grande número de plantas e de seus produtos derivados [6, 7, 8].

Inúmeras espécies de plantas possuem propriedades medicinais comprovadas [9,10]. Dentre elas tem-se *Schinus terebinthifolius* Raddi, conhecida como aroeira, planta que ocorre de forma natural na Argentina, Paraguai, Uruguai e Brasil.

No Brasil, a aroeira ocorre em diversas regiões fitoecológicas, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, em várias formações vegetais, sendo encontrada sob diferentes aspectos morfológicos, variando de pequenos arbustos até grandes árvores, o que demonstra o alto potencial adaptativo a diversos ambientes [11,12].

Esta planta se destaca por suas estruturas (folhas e cascas do caule) possuírem comprovadas ações antiinflamatória, antiulcerogênica, sendo utilizadas como antisséptico, no tratamento de estomatites, úlcera gastroduodenal, doenças venéreas, inflamação do útero, infecções do aparelho urinário, feridas na pele, diarreia, etc. [13,14]. Suas cascas e folhas são utilizadas na forma de decocto com fins expectorante, anti-séptico, antidiarréico e cicatrizante. Além isto, suas principais características morfo-histológicas e químicas levam ao seu reconhecimento laboratorial como uma droga antimicrobiana [15].

Como se percebe, diversos trabalhos sobre *Schinus terebinthifolius* têm sido realizados no Brasil, demonstrando suas inúmeras utilidades ao homem e ao ecossistema natural [16,17,18,19].

A bioatividade das plantas medicinais é inerente a um grupo de compostos chamados metabólitos secundários. Estes são sintetizados a partir de reações catabólicas, anabólicas e da biotransformação a partir dos aminoácidos, carboidratos e lipídios produzidos pela planta. Entre os principais metabólitos secundários, está o tanino, que se destaca pela sua variada atividade biológica [20].

As características fitoquímicas de *Schinus terebinthifolius* apontam para a presença de compostos, como óleos essenciais, taninos e flavonoides, os quais são produzidos através do seu metabolismo secundário distribuídos em teores e composições variáveis nas diferentes partes vegetais, como cascas, tronco, frutos e folhas, sendo utilizados nas indústrias de alimentos, de curtimento de couro, de perfumaria e de cosmetic [21,22].

Em estudo Martinez [23] observou que o extrato etanólico a 30% da aroeira apresentou atividade antibacteriana sobre as cepas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.

Lima [24] avaliou o espectro de atividade antimicrobiana do extrato aquoso de *S. terebinthifolius* sobre cepas bacterianas e fúngicas. Segundo os resultados desta pesquisa, dentre as 11 espécies microbianas ensaiadas, oito (73%) foram sensíveis ao extrato aquoso de *S. terebinthifolius* na concentração de 5000µg/mL. Porém a concentração inibitória mínima (CIM) do produto para algumas cepas foi de 2500µg/mL e, particularmente, *C. albicans* foi sensível até 1250µg/mL.

Degáspari [25] analisou a atividade antimicrobiana de extratos aquoso e alcoólico obtidos de frutos da *Schinus terebinthifolius*, diretamente ligados à quantidade de compostos fenólicos existentes nesses extratos. Pelos testes, verificou-se que o extrato alcoólico apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, já o extrato aquoso não apresentou efeito inibitório sobre os crescimentos dos microrganismos testados.

Alves [26] avaliou a atividade *in vitro* da aroeira sobre microorganismos na cavidade oral, observando que o extrato hidroalcoólico desta planta apresentou atividade bactericida e bacteriostática sobre *S. mutans*, *S. mitis*, *S. sobrinus*, *S. sanguis* e *L. casei*, como também ação antifúngica sobre *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*.

Santos e colaboradores [27] realizaram um estudo avaliando a cicatrização de feridas provocadas no estômago de ratos, utilizando o extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*). Os resultados mostraram que o uso do extrato hidroalcoólico de Aroeira não alterou o processo de cicatrização do estômago quanto à avaliação macroscópica, tensiométrica e microhistológica.

A ação cicatrizante do extrato hidroalcoólico da Aroeira em bexiga de ratos através de análise macroscópica e histológica, foi estudo por Lucena e colaboradores [16]. Os autores concluíram com este estudo que o uso de extrato hidroalcoólico de Aroeira mostrou efeito cicatrizante favorável nas cistotomias em ratos.

Soares [17] avaliou a atividade antibacteriana *in vitro* da tintura da casca da aroeira a 20% sobre *Streptococcus mutans*. Este autor observou que houve eficácia deste fitoterápico na descontaminação de escovas dentais *in vitro*.

A descoberta da radiação foi um fato bastante importante para a ciência, mas apenas quando os pesquisadores foram capazes de produzi-la artificialmente é que a valorização e aplicabilidade aumentaram. Assim, a energia nuclear passou a ser utilizada na geração de energia elétrica, medicina, indústria, agricultura e pesquisa [28].

A irradiação é o processo de aplicação desta energia a um material, tal como os alimentos e extratos vegetais, com a finalidade de esterilizá-los ou preservá-los com a inativação de microrganismos, parasitas, insetos e outras pragas [7,29,30,31,32,33,34].

A radiação gama, em doses que varia de 0.5 a 10 kGy, pode ou não desencadear mudanças físico-químicas em materiais de origem vegetal, sendo estas mudanças peculiares a cada espécie. Alguns autores [7, 35, 36, 37, 38] observaram que a radiação provocou o aumento dos teores de flavonas, fenóis totais e taninos sem associação dose-dependente; Já outros autores [39, 40, 41] observaram que a radiação gama age diminuindo os teores de taninos. Porém, alguns estudos observaram que a radiação gama pode não influenciar os teores de

fenóis e taninos, mesmo na dose de 10 kGy [42, 43]. Estas alterações podem também afetar as atividades biológicas dos vegetais, provocando uma acentuada potencialização da ação antimicrobiana de alguns extratos vegetais [7, 31, 34, 44].

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da radiação gama do  $^{60}\text{Co}$  sobre os extratos brutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, analisando a sua influência na atividade antimicrobiana de extratos obtidos de cascas e folhas.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1. Material Vegetal

A área de coleta do material vegetal foi no município de Caruaru, em fragmento com cerca de 20 hectares, dentro da Estação Experimental de Caruaru, órgão pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA). A estação fica situada na microrregião do Vale do Ipojuca, umas das seis Mesorregiões do Agreste pernambucano (08°14'23.9"S e 35°55'13.8"W) [26].

A coleta das amostras foi realizada em novembro de 2012, onde selecionou-se plantas de parcelas previamente demarcadas no interior do fragmento e melhor estado de conservação, considerados preferenciais para desenvolvimento vegetal [27]. Foram coletadas 348,15g de folhas em árvores com diâmetro ao nível do solo  $\text{DNS} \geq 10$  cm, com folhas íntegras localizadas a partir de 1 m do solo. Posteriormente, as amostras coletadas foram devidamente armazenadas, identificadas e transportadas ao laboratório para subseqüente análise.

No laboratório de Biofísica Química do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da UFPE, as folhas de *A. occidentale* foram submetidas à secagem à sombra e em ambiente ventilado, com temperatura de 25°C. Para uniformizar e acelerar o processo de secagem, todo o material foi periodicamente revolvido visando expor as áreas mais úmidas propensas ao desenvolvimento de fungos. Depois da secagem, as amostras foram trituradas em uma forrageira, para obter um material de menor granulometria.

Para obtenção dos extratos brutos, utilizaram-se as 289,15g de folhas de *A. occidentale* seca e moída, o qual foram maceradas durante 24 horas até esgotamento em etanol/água (70%). Posteriormente, os extratos hidroalcoólicos foram filtrados e o líquido foi evaporado à secura em evaporador rotativo e seu rendimento foi calculado. A excicata de *A. occidentale* Linn., foi depositada no herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco sob o número 46236.

### 2.2. Avidade Antioxidante

#### 2.2.1 Atividade Sequestrante ou redução de radicais livres DPPH

A técnica seguiu as pesquisas de Segundo Yen e colaboradores [28], Falcão e colaboradores [29] e Costa e colaboradores [30], utilizando um radical (DPPH) de cor roxo, que ao ser

colocado em contacto com a amostra a ser analisada é consumido de acordo com o poder antioxidante dessa amostra. O radical DPPH é previamente preparado a uma concentração de 60µM, sendo preparado da seguinte forma: são dissolvidos 2,4 mg de radical em 100mL de metanol e homogeneizados num balão volumétrico e acondicionado a 4°C durante 24h.

No dia seguinte, as amostras de extratos brutos de folhas de *A. occidentale* foram dissolvidas em etanol, nas seguintes concentrações: 200, 100,50, 25, 12,5 e 6,25 ppm. Posteriormente, em placas 96 poços, foram colocadas em cada poço 100 µL de amostra misturados com 100 µL dasolução de DPPH. A mistura foi acondicionada por 30 min e em seguida obteve-se a leitura na faixa de absorbância de 517 nm (Espectrofotômetro Shimadzu, UV-1601, Japão). A avaliação é possível a partir da mudança de coloração da solução (quando esta recebe um elétron do radical hidrogênio), o que é avaliada através do espectrofotômetro que avalia a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre. Os testes foram realizados em quatro repetições. A atividade sequestrante de radicais livres foi expressa segundo a equação:

$$\text{Atividade sequestrante de DPPH (AA \%)} = 100 \times (1 - \frac{\text{Amostra} - \text{branco}}{\text{Controle}})$$

Onde o branco foi o valor de 100 µL de etanol a 99,5% misturado com a solução de amostra, a Amostra, 100 µL da solução de amostra misturada à solução de DPPH e a amostra controle será o valor da solução de DPPH 0,15mM com 100 µL de etanol a 99,5%.

Os valores de AA% e das concentrações (200, 100,50, 25, 12,5 e 6,25 ppm) foram relacionados através de ajustes no Excell para resultar no valor de CE<sub>50</sub>, que é a concentração necessária para produzir metade (50%) de um efeito máximo estimado em 100% para o extrato da planta.

O valor de CE<sub>50</sub> visa dar parâmetros numéricos de quanto a planta é capaz de produzir substâncias antioxidantes e verificar a eficácia da mesma frente a radicais livres no modelo testado.

### **2.2.2 Avaliação do poder redutor**

A avaliação do poder redutor foi realizada de acordo com Yildirim e colaboradores [31]. Alíquotas de 0,01 mL do extrato, na concentração de 1000 a 25 ppm foram utilizadas, Uma alíquota de 0,2 mL foi misturada a 0,2 mL de tampão fosfato (pH 6,6) e 0,2 mL de ferricianeto de potássio (10 mg/mL). Incubou-se a mistura a 50°C por 20 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,2 mL de ácido tricloroacético a 10% e a amostra foi centrifugada por 10 minutos. 125 µL dos sobrenadantes foram coletados, misturados com 125 µL de água destilada e 20 µL de 0,1%(w/v) de cloreto férrico em uma placa de 96 poços mantidos à temperatura ambiente por 10 minutos. A leitura foi realizada a 700 nm (Espectrofotômetro Shimadzu, UV-1601, Japão). Um volume de água destilada, equivalente à amostra, foi usado como branco.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico Bioestat 5.0, utilizando a ANOVA um critério, seguido do teste de Tukey para comparações múltiplas entre as médias. Também foi utilizado o teste de correlação de Pearson para avaliar a correlação entre as concentrações dos extratos e os percentuais de sequestro de DPPH. As análises foram realizadas considerando um nível de significância de 5%.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Sequestro de DPPH

Na Tabela 1, estão apresentados os valores da atividade antioxidante das amostras controle e irradiada, bem como a CE<sub>50</sub>. A atividade foi dependente da concentração e da dose de 10 kGy, visto que, exibiram entre 6,25 e 200 ppm, variações de atividade de 50% a 92%, para controle, e de 75% e 100% para os irradiados. Observa-se que as amostras irradiadas apresentaram atividade máxima (100%) em uma concentração 4 vezes menor (50 ppm) que as amostras controle.

A análise estatística indicou a existência de forte correlação entre as concentrações dos extratos e os percentuais de sequestro de DPPH ( $\rho = 0,8700$ , para controle e  $\rho = 0,8226$ , para os irradiados). Porém, o teste mostrou que não ocorreu uma relação de dependência entre os parâmetros avaliados ( $p = 0,0242$  e  $p = 0,0444$ , para amostras controle e irradiados, respectivamente).

**Tabela 1: Percentuais médios da atividade antioxidante dos extratos de folhas de *Anacardium occidentale* Linn., em diferentes concentrações, antes e após a irradiação e a CE<sub>50</sub> dos controles positivos.**

Concentração (ppm)	Sequestro de DPPH*	
	(%)	
	Controle	Irradiados
6,25	50,49 ± 5,42 <sup>aA</sup>	75,23 ± 2,22 <sup>bA</sup>
12,5	49,97 ± 7,68 <sup>aA</sup>	89,94 ± 6,28 <sup>bB</sup>
25	64,63 ± 8,39 <sup>aB</sup>	99,97 ± 2,57 <sup>bC</sup>
50	78,06 ± 1,45 <sup>aC</sup>	100 ± 2,14 <sup>bD</sup>
100	88,92 ± 1,66 <sup>aD</sup>	100 ± 1,18 <sup>bD</sup>
200	92,68 ± 2,22 <sup>aE</sup>	100 ± 2,22 <sup>bE</sup>
CE <sub>50</sub> <sup>**</sup> Extratos folhas	8,1	0,48
CE <sub>50</sub> Vitamina C	63,5	-
CE <sub>50</sub> BHT	235,8	-

\*Dados expressos em média ± desvio padrão. Resultados de quatro repetições

\*\* CE<sub>50</sub> é a concentração mínima para o sequestro de 50% de DPPH em um máximo de 100%.

Letras minúsculas após as médias, numa mesma linha, indicam diferença estatística significativa entre as amostras não irradiadas e as irradiadas.

Letras maiúsculas diferentes numa mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as concentrações.

Os resultados indicaram diferenças entre os percentuais de sequestro de DPPH e concentrações de extratos (controle e irradiados), mostrando que, apenas as concentrações mais baixas (6,25 e 12,5 ppm) das amostras controle, não ocorreram diferenças estatísticas significativas. Entretanto, esta significância ( $p > 0,5$ ) pôde ser observada nas amostras irradiadas, porém nas concentrações de 100 e 50 ppm. Percebe-se (Tabela 1) que soluções preparadas a partir de extratos irradiados de folhas de *A. occidentale*, a partir de 50 ppm são eficientes em sequestrar 100 % de DPPH; já os extratos não irradiados, apresentaram um percentual máximo 92,68 % de sequestro de DPPH, a 200 ppm.

Os dados obtidos nesse trabalho apresentam a atividade antioxidante do BHT muito baixa, pelos dados de  $CE_{50} = 235,8\%$ , quando comparados a da Vitamina C de  $CE_{50} = 63,5\%$  e de extratos de folhas de *A. occidentale* com  $CE_{50} = 8,1\%$ . Isso pode ser devido a pouca estabilidade e sensibilidade a temperaturas que o BHT tem como características, por isso são consideradas de uso restrito. Segundo Halliwell e Gutteridge [32] a vitamina C é considerada como o padrão de comparação para estudos antioxidantes de materiais de origem vegetal. Assim, nesse trabalho a atividade antioxidante dos extratos de folhas de *A. occidentale*, indicou ser maior que o do padrão da Vitamina C (Tabela 1).

Ainda na Tabela 1 são apresentados os valores de  $CE_{50}$  para as amostras não irradiadas e irradiadas. Os valores do  $CE_{50}$  indicam que realmente ocorreu uma intensificação da ação antioxidante dos extratos de folhas após a irradiação, uma vez que houve uma diminuição no valor do  $CE_{50}$  de 8,1 para 0,48 ppm. Este valor indica que soluções na concentração de 0,48 ppm, preparadas a partir de extratos irradiados, são capazes de sequestrar um percentual de 50% de DPPH.

Uma das principais consequências do estress oxidativo é a peroxidação lipídica, taninos são conhecidos por inibi-las e tem sido demonstrado a sua capacidade para captar os radicais livres [33]. A capacidade de captação de radicais, depende em grande parte da sua estrutura, particularmente do seu grau de polimerização, a partir do qual um aumento do poder de captação de radicais é observado com um aumento no grau de polimerização [34].

Resultados semelhantes foram obtidos por [1] para os extratos brutos etanólicos de casca do *A. occidentale*, que apresentaram percentuais semelhantes de sequestro do DPPH, provenientes da presença de polifenóis, principalmente pela presença de ácidos anacárdicos e taninos. Já Broinizi e colaboradores [35] observaram que a presença de ácidos gálico, ferúlico, caféico, protocatecuico, quínico, cinâmico, gentísico, p-cumárico e salicílico, provavelmente foram os responsáveis pela atividade antioxidante do bagaço do pedúnculo de caju, porém os percentuais de sequestro só foram mais expressivos (em torno de 95%) para a concentração de 1000 ppm.

Barbosa e colaboradores [36] realizaram um estudo onde foi avaliada a capacidade antioxidante de extrato aquoso de folhas de *A. humille* St. Hill, o cajuzinho do Cerrado (ou cajuí), que apresentavam polifenóis e taninos. Seus resultados mostraram que as folhas do cajuí possuem atividade antioxidante menor que os extratos utilizados no presente trabalho, sendo o seu maior percentual de sequestro de DPPH em torno de 30%, na concentração de 100 ppm.

Rodrigues e colaboradores [37] realizaram um estudo para a avaliação do potencial antioxidante pelo sequestro de DPPH do extrato etanólico de caules e folhas de *Senna*

*obtusifolia*, que apresentavam polifenóis em sua composição, e encontraram nas concentrações máximas de 500 ppm, principalmente em suas folhas, atividade antioxidante menor que a dos extratos etanólicos de folhas de *A. occidentale*, realizados por Rocha e colaboradores [38], que obtiveram percentuais máximos de sequestro de DPPH em torno de 73% para a concentração em questão.

Bernardes e colaboradores [39] utilizaram três diferentes concentrações (10, 100 e 1000 ppm) de extratos metanólicos de folhas de *A. occidentale* para a determinação da capacidade de sequestro do DPPH. Esses autores encontraram valores semelhantes aos do presente trabalho para a concentração de 100 ppm, com um valor percentual de sequestro de DPPH em torno de 93%. Esta capacidade foi de 100% no caso de extratos metanólicos na concentração de 1000 ppm.

Santos e colaboradores [40] obteve em seu trabalho valores de  $CE_{50}$  de 6,32 ppm para extratos de cascas de *A. occidentale*. Segundo a autora, os extratos de folhas não apresentaram atividade antioxidante, frente às concentrações utilizadas. Porém, analisando os dados apresentados pela referida autora, foi possível realizar um ajuste dos dados levando em consideração as concentrações mais baixas (5, 10, 15, 20 e 50 ppm) em função do sequestro de DPPH. O resultado deste ajuste mostrou que a  $CE_{50}$  para as folhas foi de 0,28 ppm, valor este que está de acordo com o encontrado no presente trabalho para amostras irradiadas. Também a partir dos dados de Rocha e colaboradores [41], foi possível se determinar uma  $CE_{50}$  de 16,96 ppm para extratos etanólicos de cascas de raízes de *A. occidentale*.

Mishra e colaboradores [42] estudaram a influência da radiação gama na dose de 10 kGy na atividade antioxidante, pelo método do sequestro de DPPH, de *Camellia sinensis* que também apresenta flavonóides e taninos na sua composição, e verificaram que a irradiação não alterou a atividade deste material vegetal a ponto de influenciar nas suas ações antioxidantes. Kumar e colaboradores [19] utilizaram os mesmos método e dose em diversos fitoterápicos e obtiveram resultados semelhantes.

Jeong e colaboradores [24] analisaram a influência da irradiação gama nas doses, 10, 20 e 50 kGy e controle, na atividade antioxidante de extratos de folhas e raízes de *Nelumbo nucifera*, que apresentam em sua composição polifenóis das classes de flavonóides e taninos. E verificaram que entre os extratos controle, o sequestro de radicais hidroxila e superóxido foram maiores em extratos de folhas e menores em extratos de raízes. Os autores observaram ainda que não ocorreu alterações na atividade antioxidante de extratos de folhas entre as doses aplicadas.

Nesse contexto, Camargo e colaboradores [43] estudaram a atividade antioxidante, pelo método de sequestro de DPPH, de extratos de pele de amendoim que apresentavam em sua composição polifenóis totais e taninos condensados, quanto a influência da irradiação gama na dose de 10 kGy e observaram não haver alteração da atividade antioxidante com a utilização desta dose. Porém, é relevante observar que esses extratos apresentavam certo teor de umidade, o que favoreceu os efeitos indiretos da radiação gama. Já o presente trabalho, utilizou os extratos brutos a seco de folhas de *A. occidentale*, o que favorece os efeitos diretos da radiação. Porém, eles observaram que a cultivar IACRunner 886 teve suas características antioxidantes alteradas após a exposição à radiação na dose de 15 kGy.

O mesmo não foi encontrado por Mustapha e colaboradores [44], que estudaram os efeitos da radiação gama, sobre as propriedades antioxidantes, através do método de sequestro de



radical DPPH, do milho Millet (*Pennisetum Glaucum* L.R.Br.), apresentando proteínas e compostos fenólicos. Os resultados revelaram que a dose de radiação a 1; 2; 3 e 5 kGy resultou em uma ligeira diminuição na atividade antioxidante, porém esta não foi estatisticamente significativa quando comparadas com amostras não-irradiadas. Mustapha e colaboradores [44] e Tongnuanchan; Benjakul; Prodpran [45] associaram essas diferenças na atividade antioxidante, aos teores de compostos polifenólicos, que após a exposição a irradiação, sofreram uma redução não significativa, com o aumento das doses.

Mustapha e colaboradores [44] relatam ainda que diversos fatores podem contribuir para que haja diferenças no efeito da radiação em teores de compostos fenólicos, alguns deles são: condições geográficas e ambientais, tipo de planta, estado da amostra, composição do conteúdo fenólico (sólido ou seco), solvente de extração, processos de extração, temperatura e a dose de radiação gama.

### 3.2 Poder Redutor

A Tabela 2 apresenta os resultados dos testes de poder redutor de extratos brutos de *A. occidentale* em diversas concentrações. Pode-se observar que, após a irradiação, houve um aumento do poder redutor dos extratos de folhas em todas as concentrações estudadas, resultados estes comprovados pelo teste estatístico, ao nível de 5% de significância.

Na avaliação da capacidade antioxidante a partir do teste do poder redutor, subtende-se que quanto maior a absorbância da amostra, maior a sua capacidade antioxidante. Assim como no caso do sequestro do DPPH, no teste do poder redutor, a capacidade antioxidante é função da concentração do extrato, ou seja, quanto maior a concentração, maior a capacidade antioxidante. Porém, ao contrário do que ocorre no teste do sequestro do DPPH, onde se observou uma estabilização do sequestro a 50 ppm, no caso das amostras irradiadas, no teste do poder redutor, percebe-se que não ocorre esta estabilização, uma vez que a análise estatística indicou que ocorre diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) para as diferentes concentrações utilizadas.

Observa-se ainda nas Tabelas 1 e 2 que houve influência da radiação gama nas características antioxidantes dos extratos, com os percentuais de sequestro de DPPH e as absorbâncias sendo maiores após a irradiação. Este fato foi comprovado pela análise estatística, a qual mostrou haver diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras não irradiadas e irradiadas para todas as concentrações utilizadas.

**Tabela 2: Percentuais médios do poder redutor de extratos de folhas de *Anacardium occidentale* Linn., em diferentes concentrações, antes e após a irradiação.**

Concentração (ppm)	Absorbância <sup>*¶</sup> (nm)	
	Controle	Irradiados
25	0,020 ± 0,009 a	0,143 ± 0,003 b
50	0,077 ± 0,020 a	0,343 ± 0,011 b
100	0,197 ± 0,015 a	0,550 ± 0,018 b
200	0,582 ± 0,011 a	0,823 ± 0,007 b
400	0,864 ± 0,008 a	0,936 ± 0,008 b
600	0,917 ± 0,030 a	1,163 ± 0,005 b
800	1,151 ± 0,017 a	1,320 ± 0,006 b
1000	1,202 ± 0,008 a	1,540 ± 0,007 b

\*Dados expressos em média ± desvio padrão. Resultados de quatro repetições  
Letras diferentes após as médias, numa mesma linha, indicam diferença estatística significativa entre as amostras controle e as irradiadas. (média de 4 repetições).

Diversos trabalhos relacionam a atividade antioxidante de materiais vegetais aos compostos fenólicos, com destaque para a classe dos flavonoides [46, 47], bem como aos derivados cinâmicos, cumarinas, taninos condensados [1, 48, 49, 50, 51].

### 3. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo indicam que os extratos de folhas de *A. occidentale* irradiados contêm quantidades consideráveis de compostos fenólicos e apresenta uma forte ação antioxidante frente ao radical DPPH e poder redutor, o que permite vislumbrar a sua utilização como fonte natural de antioxidantes.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradem ao CNPq pelo apoio financeiro que permitiu a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

1. Martorelli, S.B.F; Pinheiro, A.L.B; Souza, I.A.; Higino, J.S.; Bravo, F., “Efeito Antiinflamatório e Cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira) a 30% e em orabase- estudo “In vivo”, Universidade Federal de Pernambuco /Recife, Maio, 2011.
2. Lopes, C. A.; Moreno, G.; Curi, P. R.; Gottschalk, A.F.; Modolo, J. R.; Horacio, A.; Corrêa, A.; Pavan, C., “Characteristics of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovinemastitis in Brazil”, *British Veterinary Journal*, London, v. **146**:5, p. 443-8, 1990.
3. Norrby, S. R.; Nord, C. E., “Lack of development of new drugs: a potential serious threat to public health”, *Lancet Infectious Diseases*, Solna, v. **5**, p. 115-119, 2005.
4. Cohen, M. L., “Epidemiology of drug resistance: implications for apost-antimicrobial era”, *Science*, Washington, v. **257**:11, p. 1050-1055, 1992.
5. Ribeiro, A. Q.; Leite, J. P. V.; Dantas-Barros, A. M., “Perfil de utilização de fitoterápicos em farmácias comunitárias de Belo Horizonte sob a influência da legislação nacional. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. **15**:1, p. 65-70, 2005.
6. Faiza, I.; Wahiba, K.; Nassira, G.; Chahrazed, B.; Atik, B. F., “Antibacterial and antifungal Activities of olive (*Olea europaea* L.) from Algeria”, *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, v. **2**, p. 69-73, 2011.
7. Santos, G. H. F.; Silva, E. B.; Silva, B. L.; Sena, K. X. F. R.; Lima, C. S. A., “Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extracts of *Anacardium occidentale* rich in tannins”, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*”, v. **21**:3, p. 444-449, 2011.
8. Goulart, L. S.; Teles, H. L.; Mendes, V.A.; Souza Vieira, M.C.; Moura, S.V.; Ramon, J.L.; Souza, J.M.; Souza Vieira, J.C.; Campos, E.P., “Prospecção antifúngica em *Agonandra brasiliensis*”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. **94**:3, p. 289-294, 2013.
9. Agra, M.F.; França, P.F.; Barbosa-Filho, J.M., “Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. **1**:17, p. 114-140, 2007.
10. Santos, A. B. S. da. et al. Efeito fungitóxico do óleo de nim sobre *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* e *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Revista Caatinga*, Mossoró, v. **22**:2, p. 17-22, 2009.
11. Fleig, M. 1987. Anacardiaceae. Boletim do Instituto de Biociências da UFRGS, 42: 1-70
12. Fleig, M.; Klein, R. M., 1989. Anacardiáceas. In: REITZ, R. Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí : Herbário Barbosa Rodrigues. 64 p.
13. Duarte, M. R.; Toledo, M. G.; OLIVEIRA, R. B., “Diagnose morfoanatômica de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae)”, *Visão Acadêmica*, Paraná, v. **7**: 2, p. 5-13, jul./dez. 2006.
14. Soares, D.G.S.; Oliveira, C.B.; Leal, C.; Drumond, M.R.S.; Padilha, W.W.N., “Atividade Antibacteriana in vitro da Tintura de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na Descontaminação de Escovas Dentais Contaminadas pelo *S. mutans*”, *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, João Pessoa, v. **7**: 3, p.253-257, 2007.
15. Ribas, M. O., “Efeito da *Schinus terebinthifolius raddi* sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato”, *Revista Odontologia Ciência*, Porto Alegre, v. **21**:53, jul./set. 2006.
16. Lucena, P.L.H.; Ribas-Filho, J.M.; Nascimento, M.M.; Czezko, N.G.; Dietz, U.A.; Correa-Neto, M.A.; Henriques, G.S.; Santos, O.J.; Ceschin, A.P.; Thiele, E.S., “Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius Raddi*) na cicatrização de feridas cirúrgicas

- em bexiga de ratos”, *Acta Cir Bras.* [periódico na Internet]; **Suppl 2**, p. 46-51. Disponível em URL: <http://www.scielo/acb>, 2006.
17. Soares, D.G.S.; Oliveira, C.B.; Leal, C.; Drumond, M.R.S.; Padilha, W.W.N., “Atividade Antibacteriana in vitro da Tintura de Aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na Descontaminação de Escovas Dentais Contaminadas pelo *S. mutans*”, *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, João Pessoa, v. 7:3, p.253-257, 2007.
  18. Ribas, M. O. et al., “Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato”, *Revista Odontologia Ciência*. Porto Alegre, v. 21:53, p. 245-252, 2006.
  19. Medeiros, K. C. P. et al., “Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: Eucalyptus globulus Labill, Peltodonradicans pohl and *Schinus terebinthifolius* Radd in inflammatory models”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17:1, p. 23-28, 2007.
  20. Santos, S. C.; Mello, J. C. P. Taninos. In: Simoes, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (Eds). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Cap. 24. 2 ed. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. UFSC, p. 517-544, 2000.
  21. Lawrence, B., “A discussion of *Schinus molle* and *Schinus terebinthifolius*”, *Perfumer & Flavorist*, v. 9, p. 65-69, 1984.
  22. Queires, L.C.S.; Rodrigues, L.E.A., “Quantificação das substâncias fenólicas totais em órgãos da aroeira *Schinus terebinthifolius* (Raddi)”, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v.41, p. 247-253, 1998.
  23. Martinez, M. J.; Gonzalez, N.A.; Badell, B.J., “Actividad antimicrobiana del *Schinus terebinthifolius* Raddi (copal)” *Revista Cuba Plantas Med*, v. 1:3, p. 37-39, 1996.
  24. Lima, E.O.; Pereira, F. O.; Lima, I.O.; Trajano, V.N.; Souza, E.L., “*Schinus Terebinthifolius* Raddi: Avaliação do espectro de ação antimicrobiana de seu extrato aquoso”. *Infarma*, v.16: 7-8 (2004).
  25. Degáspari, C. H.; Waszczyński, N.; Prado, M. R. M., “Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi Antimicrobial activity of *Schinus terebinthifolius* Raddi”, *Ciênc. agrotec. Lavras*, v.29:3, p. 617-622, 2005.
  26. Alves P.M. Atividade antimicrobiana e antiaderente in vitro dos extratos da *Myracrodruon urundeuva* ALL., *Malva sylvestris* e *Psidium guajava* Linn. sobre microorganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. [Dissertação]. João Pessoa: Faculdade de odontologia. Universidade Federal da Paraíba, 2005.
  27. Santos, O.J.; Ribas-Filho J.M.; Czecko, N.G.; Branco-Neto, M.L.C.; Naufel Jr, C.R.; Ferreira, L.M.; Campos, R.P.; Moreira, H.; Porcides, R.D.; Dobrowolski, S., “Avaliação do extrato de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de gastrorrafias em ratos”, *Acta Cir Bras*, [periódico na Internet], 21, **Suppl 2**, p.39-45. Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>, 2006.
  28. Cardoso, E. M., “Apostila educativa: Aplicações da Energia Nuclear”, *Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN)*, Disponível em: [www.cnen.gov.br](http://www.cnen.gov.br), 2002.
  29. Balock, J. W.; Burdittjr., A. K.; Christenson, L. D., “Effects of gamma radiation on various stages of three fruit fly species”, *Journal of Economic Entomology*, New Hampshire, v. 56:1, p. 42-46, 1963.
  30. Arthur, V.; Walder, J. M. M.; Domarco, R. E.; Wiendl, F. M.; Silva, A. C.; Leme, M. H. de A. Desinfestação de *Eugenia uvalha*, infestadas por *Anastrepha fraterculus* (Wied., 1830) (Dip. Tephritidae), através da radiação gama, *Energia Nuclear e Agricultura*, Piracicaba, v. 10:2, p.97-111, 1989.

31. Aziz, N. H.; El-Fouly, M. Z.; Abu-Shady, M. R.; Moussa, L. A. A., "Effect of gamma radiation on the survival of fungal and actinomycetal floras contaminating medicinal plants", *Applied Radiation Isotopes*, Oxford., v.48:1, p.71-76, 1997.
32. Bennet, N.; Langley, R.; Reuter, G., "The environmental impact of irradiation plants", *Radiation Physical Chemistry*, v.52, p.515-517, 1998.
33. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Diretoria Colegiada. Resolução n. 48 de 16 de março de 2004. *Diário Oficial*, Brasília, DF.53 (1): p. 39-41 (2004).
34. Satomi, L. C.; Soriani, R. R.; Pinto, T. J. A., "Descontaminação de drogas vegetais empregando irradiação gama e óxido de etileno: aspectos microbianos e químicos", *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v.41, p.4, 2005.
35. Moussaid, M.; Lacroix, M.; Nketsia-Tabini, J.; Boubekri, C., "Phenolic compounds and the colour of oranges subjected to a combination treatment of waxing and irradiation", *Radiation Physics Chemistry*, v. 57, p. 273-275, 2000.
36. Miranda, M. B.; Horil, J.; Alcarde, A. R., "Estudo do efeito da irradiação gama ( $^{60}\text{Co}$ ) na qualidade da cachaça e no tonel de envelhecimento", *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.26:4, p.772-778, 2006.
37. Bhat, R.; Sridhar, K. R.; Tomita-Yokotani, K. Effect of ionizing radiation on antinutritional features of velvet bean seeds (*Mucuna pruriens*), *Food Chemistry*, v. 103, p. 860-866, 2007.
38. Stajner, D.; Milosevic, M.; Popovic, B. M., "Irradiation Effects on Phenolic Content, Lipid and Protein Oxidation and Scavenger Ability of Soybean Seeds", *International Journal of Molecular Sciences*, v. 8, p. 618-627, 2007.
39. Villavicencio, A. L. C. H.; Mancini-Filho, J.; Delincée, H.; Greiner, R., "Effect of irradiation on anti-nutrients (total phenolics, tannins and phytate) in Brazilian beans", *Radiation Physics Chemistry*, v.57, p. 289-293, 2000.
40. Brigide, P.; Canniatti-Brazaca, S. G., "Antinutrients and "in vitro" availability of iron in irradiated common beans (*Phaseolus vulgaris*)", *Food Chemistry*, v.98, p.85-89, 2006.
41. Toledo, T. C. F.; Canniatti-Brazaca, S. G.; Arthur, V.; Piedade, S. M. S., "Effects of gamma radiation on total phenolics, trypsin and tannin inhibitors in soybean grains", *Radiation Physics and Chemistry*, v.76, p.1653-1656, 2007.
42. Koseki, P. M.; Villavicencio, A. L. C. H.; Brito, M. S.; Nahme, L. C.; Sebastião, K. I.; Rela, P. R.; Almeida-Muradian, L. B.; Mancini-Filho, J.; Freitas, P. C. D., "Effects of irradiation in medicinal and edible herbs", *Radiation Physics and Chemistry*, v.63, p.681-684, 2002.
43. Santos, G.H.F.; Silva, E.B.; Sena, K.X.F.R.; Silva, B.L.; Lima, C.S.A., "The influence of  $^{60}\text{Co}$  gamma radiation on the action of phenolic compounds of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan in the microbiological control of crude extracts", *Intern. J. Low Radiat.*, v.7, p. 223-235, 2010.
44. Mechi, R.; Canniatti-Brazaca S.G.; Arthur, V., "Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris*L.) irradiado", *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.25:1, 2005.
45. Folin, O.; Ciocalteu, V., *Journal of Biological Chemistry*, v. 73, 1927. 424p.
46. Queiroz, C. R. A. A.; Morais, S. A. L.; Nascimento, E. A., "Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*)", *Revista Árvore*, v. 26: 4, p. 485 - 492, 2002.
47. Bauer, A. M.; Kirby, M. N.; Sherris, J. C., "Antibiotics susceptibility test by a standardized single disk methods", *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p. 493-494, 1966.

48. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. Document: M100 – S20, v. **30**:1, Replaces M100 – S19. 19 (3), 2010.
49. Nostro, A.; Germano, M. P.; D'angelo, V.; Marino, A.; Cannatelli, M. A., “Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity”, *Letters in Applied Microbiology*, v.**30**, p.379–384, 2000.
50. Srinivasan, D.; Nathan, S.; Suresh, T.; Perumalsamy, P.L., “Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine”, *Journal of Ethnopharmacology*, v.74:3, p.217-220, 2001.
51. Hodges, N., “Pharmaceutical applications of microbiological techniques. In: Aulton, M.E. (Ed.)”, *Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design*, 2nd ed. Harcourt Publishers Limited, London, p. 606, 2002.
52. Loguercio, A. P.; Battistin, A.; Vargas, A. C.; Henzel, A.; Witt, N. M., “Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico das folhas de jambolão (*syzygium cumini* (L.) Skells)”, *Ciência Rural*, Santa Maria, v.**35**:2, p.371-376, 2005.
53. Tadeg, H.; Mohammed, E.; Asres, K.; Gebre-Mariam, T., “Antimicrobial activities of some selected traditional Ethiopian medicinal plants used in the treatment of skin disorders”, *Journal of Ethnopharmacology*, v. 100, p. 168–175, 2005.
54. Costerton, J. W.; Stewart, Philip S., “Bacterial Biofilms: A common cause of persistent infections”, *Science*, v. **284**, p. 1318-1322, 1999.
55. Rios, J. L.; Recio, M.C., “Medicinal plants and antimicrobial activity”, *Journal of Ethnopharmacology*, v.100:1-2, p. 80-84, 2005.
56. Calixto, J.B., “Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents)”, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. Ribeirão Preto, v.**33**:2, p. 179-189, 2000.
57. Capasso, R.; Izzo, A.A.; Pinto, L., “Phytotherapy and quality of herbal medicines”, *Fitoterapia*, v.**71**, p.58-65, 2000.
58. Bara, M.T.F.; Ribeiro, P.A.M.; Arantes, M.C.B., “Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais”, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.**16**:2, 2006.