

COMPOSIÇÃO FENÓLICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E CITOPROTETORA DOS EXTRATOS DE *PSIDIUM GUAJAVA* L. VAR. *PYRIFERA* E *PSIDIUM GUAJAVA* L. VAR. *POMÍFERA*.

Nadghia Figueiredo Leite; Celestina Elba Sobral de Souza; Anne Karyzia Lima Santos de Lavor; Dara Isabel Vieira de Brito; Fernando Gomes Figueiredo; João Victor de Alencar Ferreira; Irwin Rose Alencar de Menezes; Henrique Douglas Melo Coutinho*

Resumo

A avaliação da atividade antioxidante tem sido uma questão importante considerando sua importância sobre a saúde humana. O experimento consistiu em avaliar os potenciais antioxidantes, *in vitro*, dos extratos de *Psidium guajava* L. var. *pyrifera* e *Psidium guajava* L. var. *pomifera* além de quantificar fenóis e flavonoides presentes nos extratos. Nos testes de avaliação da captura do radical livre DPPH, foi observada uma melhor atividade antioxidante no EHFPG var. *pomifera* que deve estar relacionada ao elevado índice de flavonoides e compostos fenólicos. Para o teste de TBARs com fosfolipídio de ovo, os extratos reduziram os níveis basais no processo de peroxidação lipídica, e quando induzidos por Fe²⁺ o EEFPG mostrou-se mais eficiente. Através destes ensaios pode-se verificar que os extratos das folhas das espécies *P. guajava* L. e *P. guajava* L. var. *pomifera* apresentaram uma atividade antioxidante, porém não relacionada com substâncias fenólicas. Os extratos também não apresentaram potencial citoprotetor contra o sulfato de ferro II.

Palavras-chave: Antioxidante, Citoproteção, Compostos Fenólicos, Metal Pesado, *Psidium*

PHENOL COMPOSITION AND EVALUATION OF THE CYTOPROTECTIVE AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF EXTRACTS OF *PSIDIUM GUAJAVA* L. VAR. *PYRIFERA* AND *PSIDIUM GUAJAVA* L. VAR. *POMIFERA*

Abstract

The antioxidant activity evaluation has been an important issue considering its importance to human health. The experiment was to evaluate the antioxidant potential *in vitro*, extracts of *Psidium guajava* L. var. *pyrifera* and *Psidium guajava* L. var. *pomifera* also quantify phenols and flavonoids present in the extracts. In tests of capturing the free radical DPPH was observed a better antioxidant activity in EHFPG var. that is related to the high level of flavonoids and phenolic compounds. To test TBARs with phospholipid egg extracts reduced the basal levels in the process of lipid peroxidation, and when induced by the Fe²⁺ + EEFPG was more efficient. Through these tests can be seen that the extracts from the leaves of *P. guajava* L. species and *P. guajava* L. var. *pomifera* showed antioxidant activity, but not related to phenolic substances. The extracts also showed no potential cytoprotective against the iron II.

Keywords: Antioxidant, Cytoprotective, *Psidium*, Heavy Metal, Phenolic Compounds

* Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, Universidade Regional do Cariri, 63105-000, Crato - CE, Brasil. Fone: (88)31021212.
Autor Correspondente: e-mail:hdmcoutinho@gmail.com

Introdução

Os antioxidantes são substâncias químicas que reagem com os radicais livres e, assim, limitam os seus efeitos adversos sobre o corpo (BORGUINI; TORRES, 2009). A avaliação da atividade antioxidante tem sido uma questão importante considerando sua importância sobre a saúde humana. Estudos recentes apontam a utilização de plantas na forma de sucos ou chás como fontes de agentes antioxidantes naturais que apresentam baixo risco podendo ser utilizado no auxílio do tratamento de várias doenças (SILVA et al., 2005).

Plantas que apresentam atividade antioxidante são de grande interesse visto que a presença de radicais livres está associada a diversos fatores como mutação do DNA, oxidação de proteínas e peroxidação lipídica que contribuem para o desenvolvimento de câncer, diabetes, aterosclerose, processos inflamatórios e envelhecimento. Deste modo, nos últimos anos tem crescido o interesse pela descoberta de extratos vegetais com diferentes atividades biológicas (FINKEL; HOLBROOK, 2000).

O malondialdeído (MDA) foi o foco de atenção da peroxidação lipídica durante muitos anos, pelo fato de poder ser medido livre, utilizando-se o ácido tiobarbitúrico (TBA). O MDA reage com TBA (ácido 2-tiobarbitúrico) e forma um cromógeno de cor rosa fluorescente, cuja absorção ocorre em λ de 532 nm e fluorescência em 553 nm (THÉRON et al 2000).

Plantas medicinais possuem diversos compostos químicos com potencial antioxidante. Dentre as classes com essa propriedade, os compostos fenólicos têm recebido muita atenção, sobretudo por apresentarem comprovada atividade de inibição da peroxidação lipídica e da lipoxigenase *in vitro* (SOUSA et al., 2007; SUN et al., 2012).

Psidium guajava L., popularmente conhecida como goiaba, pertence à família Myrtaceae, nativa da América tropical, com grande adaptação e produção em diferentes locais do mundo (YAMAMOTO et al., 2010). O chá das folhas e comumente usado no tratamento de diarreias, inflamações da boca e da garganta ou em lavagens locais de úlceras e na leucorréia (QIAN; NIHORIMBERE, 2004). É uma das espécies mais estudadas da família Myrtaceae. Existem dois tipos mais comuns da fruta, a vermelha (*P. guajava* var. *pomifera*) e a branca (*P. guajava* var. *pyrifera*) (IHA et al, 2008).

Segundo Iha et al. (2008) o extrato etanólico das folhas de *Psidium guajava* apresenta flavonoides e taninos. Esse dado corrobora com o estudo de Silva et al. (2013) que detectaram no extrato hidroetanólico das folhas de *P. guajava* flavonoides e taninos como também saponinas, alcaloides e cumarinas.

Este trabalho teve como objetivo verificar os potenciais antioxidantes, *in vitro*, de extratos de *P. guajava* var. *pomifera* e var. *pyrifera* através dos métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico), e quantificar fenóis e flavonoides presentes nos extratos.

Materiais e Métodos

Material Vegetal

As folhas de *Psidium guajava* L. var. *pyrifera* (goiaba branca) foram coletadas no Sítio Figueiredo, na cidade de Juazeiro do Norte, Ceará. As folhas de *Psidium guajava* L. var. *pomifera* (goiaba vermelha) foram coletadas no horto de plantas medicinais da Universidade Regional do Cariri - URCA, no município de Crato, Ceará.

Preparação do Extrato

O extrato foi preparado por imersão 392g de folhas frescas de *P. guajava* L. var. *pyrifera* em etanol durante 72 horas à temperatura ambiente e 482g de folhas frescas de *P. guajava* L. var. *pomifera* submersas em etanol e água (1:1) durante 72 horas à temperatura ambiente. As soluções foram filtradas e concentradas utilizando um evaporador rotativo de vácuo (modelo Q-344B-Quimis, Brasil) e banho de água quente (modelo Q214M2-Quimis Brasil). Os extratos brutos de *P. guajava* L. var. *pyrifera* (EEFPG) e *P. guajava* L. var. *pomifera* (EHFPG) obtiveram um rendimento de 8,54g e 8 g, respectivamente.

Quantificação de Fenóis Totais

A quantidade de fenóis totais, foi determinada adicionando-se 200 µL da solução dos extratos (300, 100, 50 e 25 µg/mL em etanol 99,6%) a 1 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10% v/v) sendo agitada por 1 minuto. Em seguida acrescentou-se 800 µL de carbonato de sódio 7,5%, sendo a amostra homogeneizada por 30 segundos. Após 1 hora foi medida a absorvância em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 765 nm. O branco foi determinado com todos os reagentes, porém o extrato foi substituído por água destilada. O teste foi realizado em triplicata. A média das três leituras foi usada para determinar os fenóis totais, expressos como miligramas equivalentes de ácido gálico/ grama de extrato, interpolando este valor na curva de calibração construída com os padrões de ácido gálico. A curva de calibração de ácido gálico foi determinada utilizando diferentes concentrações desta substância (300, 100, 75, 25 e 10 µg/mL).

Determinação de Flavonoides

Para determinação da concentração de flavonóides foram preparadas soluções do extrato (300, 200, 100 e 50 µg/mL) e utilizado 1 mL destas adicionando-se 1 mL cloreto de alumínio (AlCl₃) com contração de 2% peso/volume. No tubo que foi determinado como branco, o volume adicionado de cloreto de alumínio foi substituído por água destilada. Após 30 minutos de incubação a temperatura ambiente, a absorvância foi medida no filtro de 415 nm. O teste foi feito em triplicata, resultando assim na utilização da média para determinação da quantidade de flavonóides totais e expresso como miligramas de quercetina equivalentes / grama de extrato. A curva de calibração da quercetina foi determinada utilizando diferentes concentrações desta substância (400, 300, 200, 100, 50, 25 e 10 µg/mL) diluída em etanol 99,6%.

Atividade antioxidante por DPPH

A atividade antioxidante foi avaliada através do método de DPPH. Foram preparadas soluções com diferentes concentrações de cada extrato de *P. guajava* (250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL) em triplicata. Em um tubo foram misturados 100 µL da solução do extrato e 3,9 mL de solução de 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) 0,06 mM e homogeneizado com agitador de tubos, procedimento realizado em ambiente escuro. Para o branco, a amostra foi substituída por 100 µL de metanol. As leituras foram realizadas utilizando um filtro de comprimento de onda de 520 nm e repetidas a cada minuto até que foi observada a estabilização da leitura. A curva padrão foi determinada realizando leituras no mesmo comprimento de onda (515 nm), porém com soluções de DPPH em diferentes concentrações (10 µM, 20 µM, 30 µM, 40 µM, 50 µM e 60 µM), sendo o branco determinado por metanol (SÁNCHEZ-MORENO, 1998).

Atividade antioxidante por TBAR

O efeito do produto sobre a peroxidação lipídica foi avaliada pelo método do TBARS. A produção de TBARS de fosfolípido foi determinada usando o método de Ohkawa et al. (1979), com modificações. Foi preparada uma solução de vitelo da espécie *Gallus gallus* L., misturada com uma solução de hexano-isopropanol (3:2). Essa solução foi filtrada e rotaevaporada até a obtenção de resíduo sólido. Para ensaio TBARS solubilizou-se 0,05g do resíduo em 10 mL de água mili-Q. Para pré-incubação foi utilizado 100µl de fosfolípido, 50µl de extrato nas concentrações de 100, 40, 10 e 4 µg/mL juntamente com um volume adequado de água deionizada. As amostras foram repetidas adicionando 14µL de Fe (60µM) e incubadas a 37°C, durante 1 h. Após a pré incubação foi adicionado 500µL de tampão ácido acético e 500µL de TBA (ácido tiobarbitúrico) 0,6% e incubado por 1h a uma temperatura de 100°C. Os tubos foram adicionados 2 mL de n-butanol e a mistura centrifugada. O sobrenadante foi retirado e a absorvância foi lida a 532 nm num espectrofotômetro. Para a curva de MDA (malonaldeído) foi utilizada 500µL de ácido acético, 500µL de TBA (0,6%), MDA nas concentrações de 50,

100, 150, 200µL e volume adequado de água destilada para completar um volume de 1,5mL. Os testes foram feitos em triplicata e repetido duas vezes.

Avaliação do potencial citoprotetor do produto natural EEFPG L. var. pyriferá e EHFPG L. var. pomífera contra metais pesados.

O potencial citoprotetor do produto natural EEFPG e EHFPG contra metais pesados foi avaliado de acordo com Coutinho et al. (2008), modificado, as concentrações inibitórias mínimas (CIM) do EEFPG e EHFPG, foram determinados pelo ensaio de microdiluição usando suspensões de 10^5 UFC/ml em solução salina e extratos na concentração inicial de 1024µg/mL. A CIM foi definida como a concentração mais baixa à qual não foi observado crescimento. Para a avaliação do efeito protetor de EEFPG e EHFPG ao metal pesado, foi realizada uma modulação utilizando concentrações sub-inibitórias dos extratos, suspensões de 10^5 UFC/ml de *Escherichia coli* ATTC 11105 e *Candida albicans* 62 em meio M9 Tris com 2% de glicose e uma de concentração do sulfato de ferro II variando de 100 mM a 0,0488 Mm. As placas de microdiluição foram incubadas por 48 h a 37 ° C. A concentração bactericida mínima (CBM) e concentração fungicida mínima (CFM) foram determinadas como a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos microrganismos, utilizando placas de petri com HIA para transferência das soluções incubadas em placas de microdiluição.

Análise Estatística

Os resultados dos testes foram feitos em triplicata e expressos como média. Para análise estatística foi aplicada a ANOVA seguida do teste de Tukey. Um $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

Resultados

Fenóis totais e flavonoides

Com a determinação da curva de calibração, realizada com a leitura da absorbância das diversas concentrações de ácido gálico, foi obtida a seguinte equação: $y = 74,11 (\pm 1,900)x + 3,527 (\pm 3,509)$ $R^2 = 0,9974$, a qual pode ser aplicada para a determinação dos fenóis totais em equivalentes mg de ácido gálico/g de extrato.

A curva de calibração para determinação dos flavonóides foi obtida após a leitura das diversas soluções de quercetina com concentração determinada, gerando a seguinte equação $y = 50,17 (\pm 3,433)x - 26,78 (\pm 16,26)$ $R^2 = 0,9771$, aplicadas para determinação dos flavonóides como mg equivalente de quercetina/ g de extrato.

A concentração de fenóis totais e flavonoides para os extratos das folhas de *P. guajava* L. var. *pyriferá* (goiaba branca) apresenta-se com valores maiores em relação a *P. guajava* L. var. *pomífera* (goiaba vermelha). (Tabela 1).

TABELA 1: Valores de Fenóis totais e Flavonoides do EEFPG e EHFPG.

	ÁC.GÁLICO (padrão) (mg/g)	QUERCETINA (padrão) (mg/g)	EEFPG (mg/g)	EHFPG (mg/g)
Fenóis Totais	1079,06	-	265,86	288,56
Flavonóides	-	946,94	29,80	47,93

* EEFPG – Extrato etanólico de *Psidium guajava* L var. *pyriferá*; EHFPG – Extrato hidroalcóolico de *Psidium guajava* L. var. *pomífera*.

Atividade antioxidante por DPPH

A atividade antioxidante foi mensurada com o método do DPPH e o resultado expresso em um valor de CE_{50} 301,61 $\mu\text{g/mL}$ e 268,40 $\mu\text{g/mL}$, para *P. guajava* L. var. *pyrifera* e var. *pomifera*, respectivamente (Tabela 2). Quanto menor o valor CE_{50} , maior é a potência antioxidante. Portanto, o EHFPG var. *pomifera*, mostra-se mais efetivo em relação ao EEFPG var. *pyrifera*, que pode estar relacionada à elevada presença de compostos fenólicos e flavonoides. A CL_{50} foi calculada a partir de dados obtidos com o teste de peroxidação lipídica, TBARS, o EHFPG mostrou um melhor resultado tendo a CL_{50} com um valor de 53,98 mg/mL . Na peroxidação induzida por Fe^{2+} os extratos obtiveram valores aproximados da CL_{50} (Figura 1).

TABELA 2: Atividade antioxidante e valores da CL_{50} e CE_{50} de EEFPG e EHFPG var.

Amostra	CL_{50} (mg/mL)		CE_{50} (mg/mL)
	TBARS – basal	TBARS – Fe^{2+}	DPPH
EEFPG	81,64	65,33	301,61
EHFPG var.	53,98	68,91	268,40

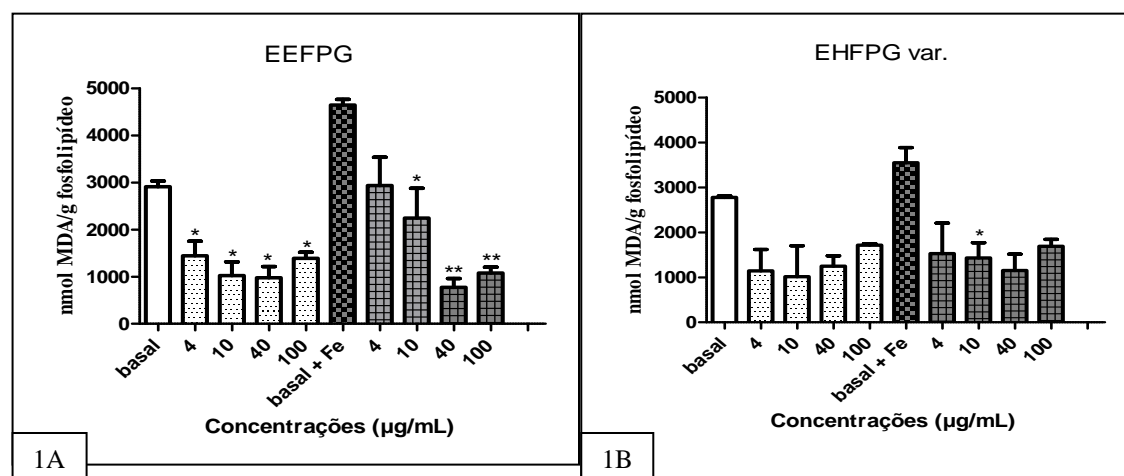
*EEFPG – Extrato etanólico de *Psidium guajava* L var. *pyrifera*; EHFPG – Extrato hidroalcolólico de *Psidium guajava* L. var. *pomifera*. TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico; DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

Atividade antioxidante por TBAR

A inibição do processo de peroxidação lipídica utilizando fosfolipídio de ovo apresentou indício de redução quanto aos níveis basais para os extratos das folhas, esta redução foi considerada significativa para EEFPG, em ambas as induções, e para EHFPG na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ quando induzido estresse oxidativo com auxílio de Fe^{2+} .

Nesse trabalho os resultados mostram que nas duas situações foram observadas reduções significativas da produção de malondialdeído ($p > 0,05$) de extratos etanólico e hidroalcolólico, sendo que os melhores resultados foram observados em relação ao ferro.

FIGURA 1: Propriedade antioxidante de EEFPG E EHFPG. A Peroxidação lipídica (produção de TBARS) em fosfolipídeos de ovo foi determinada quer na ausência ou na presença de Fe^{2+} (10 mM). Os valores são expressos como média \pm SEM de 2 experimentos independentes efetuadas em triplicata. * $p < 0,05$ vs Fe^{2+} induzido; ** $p < 0,01$ vs Fe^{2+} induzido.



EEFPG – Extrato etanólico de folhas de *Psidium guajava* L. var. *pyrifera*; EHFPG Extrato hidroalcolólico de folhas de *Psidium guajava* L. var. *pomifera* TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico.

Avaliação do potencial citoprotetor do produto natural EEFG e EHFG var. pomífera contra metais pesados.

Os resultados obtidos mostraram que os microrganismos conseguiram resistir ao sulfato de ferro II em todas as concentrações utilizadas. O mesmo resultado foi visto no teste de citoproteção onde foram testados as concentrações de sulfato de ferro II em conjunto com os extratos de EEFG e EHFG, mostrando que a presença dos extratos não alterou o perfil de sobrevivência das cepas bacterianas nos ensaios empregados.

Discussão

Sonal et al (2012), relata que a presença de flavonóides e compostos fenólicos podem ser responsáveis pela atividade antioxidante. Os flavonoides e compostos fenólicos atuam como antioxidantes porque eles possuem propriedades redox e podem agir como quelantes de metais.

Existe uma forte correlação entre as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como um marcador de peroxidação lipídica e os produtos que refletem o dano oxidativo ao DNA (CHEN; WU; HUANG, 2005). Aumento do estresse oxidativo induzido por sulfato de ferro (II) na formação de TBARS, em comparação com o normal, sugerem um possível dano de tecidos com uma sobrecarga de ferro (FRAGA; OTEIZA, 2002).

Em Sousa;Vieira; Lima (2011), é demonstrado que o extrato hidroalcólico da polpa de *P. guajava* apresenta a maior atividade antioxidante testada, correlacionando como o resultado obtido neste trabalho.

O que pode corroborar com os resultados obtidos nessa avaliação de citoproteção é um estudo feito por Crichton (1991), o qual afirma que no interior do citoplasma o ferro se distribui para as suas funções através de mecanismos pouco conhecidos. Aproximadamente 40% do ferro intracelular, na forma de Fe^{2+} , está ligado a um carboidrato ácido. O equilíbrio do ferro no interior da célula é conservado pela entrada e saída do elemento das proteínas de estoque, como a ferritina. Esta proteína solúvel pode se unir com mais de 4.500 átomos de ferro, para formar um complexo não tóxico a célula.

Conclusão

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada, juntamente com seu conteúdo de fenóis e flavonoides. Nos testes de avaliação da captura do radical livre DPPH, foi observada uma melhor atividade antioxidante no EHFG que deve está relacionada ao elevado índice de flavonoides e compostos fenólicos. Para o teste de TBARS com fosfolipídio de ovo, os extratos reduziram os níveis basais no processo de peroxidação lipídica, e quando induzidos por Fe^{2+} o EEFG mostrou-se mais eficiente. Portanto, através destes ensaios pode-se verificar que os extratos das folhas das espécies *Psidium guajava* L. var. *pyrifera* e *Psidium guajava* L. var. *pomífera* apresentou uma atividade antioxidante, porém não está relacionada com substâncias fenólicas produzidas a partir do seu metabolismo secundário. Os extratos também não apresentaram potencial citoprotetor contra o sulfato de ferro II.

Referências

BORGUINI, R. G.; TORRES, E. F. S. **Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants.** Food Reviews International, Madison, v. 25, n. 4, p. 313-325, 2009.

CHEN, H. J.; WU, C. F.; HUANG, J. L. **Measurement of urinary excretion of 5-hydroxymethyluracil in human by GC/NICI/MS: Correlation with cigarette smoking, urinary TBARS and etheno DNA adduct.** Toxicology Letters, Würzburg, v. 155, n. 3, p.4103–4102, 2005.

COUTINHO, H.D.M.; COSTA, J.G.M.; LIMA, E.O.; FALCÃO-SILVA, V.S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J.P. **Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine.** Chemotherapy, Basel, v.54, n. 54, p.328–330, 2008.

CRICHTON, R.R. **Inorganic biochemistry of iron metabolism.** New York, NY: Ellis Horwood, 1991.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. **Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing.** Nature, v.480, p.239-47,2000.

FRAGA, C. G.; OTEIZA, P. I. **Iron toxicity and antioxidant nutrients.** Toxicology, Philadelphia, v.80, n. 1, p.23–32, 2002.

IHA, S. M.; MIGLIATO, K. F.; VELLOSA, J. C. R.; SACRAMENTO, L. V. S.; PIETRO, R. C. L. R.; ISAAC, V. L. B.; et al. **Estudo fotoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética.** Revista Brasileira de Farmacognosia, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 387-393, 2008.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. **Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction.** Analytical Biochemistry, Tokio, v. 95, n. 5, p. 351-358, 1979.

QIAN, H.; NIHORIMBERE, V. **Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf.** Journal of Zhejiang University – Science, Beijing, v. 5, n. 6, p. 676-683, 2004.

SANCHEZ-MORENO, J.A.; LARRAURI, F.; SAURA-CALIXTO. **A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols.** Journal of the Science of Food and Agriculture, New York, v.76 , n. 2, p. 270–276,1998.

SILVA, C.G.; HERDEIRO, R.S.; MATHIAS, C.J.; PANEK, A.D.; SILVEIRA, C.S.; RODRIGUES, V.P.; RENNÓ, M.N.; FALCÃO, D.Q.; CERQUEIRA, D.M.; MINTO, A.B.M.; NOGUEIRA, F.L.P.; QUARESMA, C.H.; SILVA, J.F.M.; MENEZES, F.S.; ELEUTHERIO, E.C.A. **Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants.** Pharmacological Research, Philadelphia, v. 52, n. 3, p.229-233, 2005.

SILVA, I.C.A ; ALEIXO, A.A.; ALEIXO, A.M.; FIGUEIREDO, A.P.; LEMUCHI, M.O.; LIMA, L.A.R.S. **Análise fitoquímica e atividade antioxidante do extrato hidroetanólico das folhas de *Psidium guajava* L. (goiabeira).** BBR - Biochemistry and Biotechnology Reports. Edição Especial, v. 2, n. 2, jun., p. 76-78, 2013.

SONAL, A.; PATIL, S. **Evaluation of antioxidant potential of a functional food formulation comprising *Psidium guajava* fruit, *Juglans regia* L. Fruit and whey.** Advances in Research in Pharmaceutical Biology, New Delhi, v. 2, n. 1, 2012.

SOUSA C.M.M.; SILVA H.S.; VIEIRA-JR. G.M.; AYRES M.C.C; COSTA C.L.S.; ARAÚJO D.S.; CAVALCANTE L.C.D.; BARROS E.D.S.; ARAÚJO P.B.M.; BRANDÃO M.S.; CHAVES M.H. **Fenois totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** Química Nova, São Carlos, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, M. S. B.; VIEIRA, L.M.; LIMA, A. **Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de resíduos de polpas de frutas tropicais.** Brazilian Journal of Food Technology, Araraquara, v. 14, n. 3, p. 202-210, 2011

SUN J.; SHAO-FANG L.; CHU-SHU Z.; LI-NA Y.; JIE B.; FENG Z.; QING-LIY. **Chemical composition and antioxidant activities of *Brussonetia papyfera* fruits.** Plos One, London, v.7, n. 2, p.1-8, 2012.

THÉRON, P.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; DAVIT-SPRAUL, A.; CONTI, M.; LEGRAND, A. **Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach.** Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, Amsterdam, v.3, n. 3, p.373-384, 2000.

YAMAMOTO, L. Y. et al. **Enraizamento de estacas de *Psidium guajava* L “Século XXI” tratadas com ácido indolbutírico veiculado em talco e álcool.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 40, p. 1037-1042, 2010.

Recebido: 21/07/2014

Aceito: 25/07/2014