

ANÁLISE QUANTITATIVA DE FLAVONOIDES NO EXTRATO DA ESPÉCIE *Punica granatum* L. (ROMÃ) EM EXTRATOS COMERCIAIS

João Paulo Rufino Pereira, Graduado em Licenciatura em Química, IFG/Anápolis,
jpaulorufino2015@hotmail.com

Evande Fernandes Vieira Filho, Graduando em Licenciatura em Química, IFG/Anápolis,
evandevieirafilho@gmail.com

Savio Miguel da Cruz Araújo, Graduando em Licenciatura em Química, IFG/Anápolis,
saviosavio0021@gmail.com

Rejane Dias Pereira Mota, Doutora, IFG/Anápolis, rejane.mota@ifg.edu.br

Resumo

O estudo teve como objetivo quantificar flavonoides no extrato da romã (*Punica granatum* L.) utilizando espectrofotometria UV-Visível, com rotina como padrão. A metodologia baseou-se na extração metanólica e construção de curva de calibração ($R^2=0,9997$). Os resultados indicaram concentrações de $16,25 \pm 1,20$ mg/cápsula mg/cápsula (amostra 1) e $6,25 \pm 0,85$ mg/cápsula (amostra 2), sugerindo variações devido à composição dos extratos. Os dados reforçam o potencial terapêutico da romã, alinhando-se à literatura que destaca seus compostos fenólicos na prevenção de doenças cardiovasculares. O trabalho contribui para orientar o consumo seguro e incentivar pesquisas futuras sobre padronização de extratos.

Palavras-chave:

flavonoides; romã; espectrofotometria; compostos fenólicos; antioxidantes.

INTRODUÇÃO

A romã (*Punica granatum* L.) é uma espécie vegetal amplamente conhecida por suas propriedades medicinais, sendo utilizada tradicionalmente no tratamento de diversas enfermidades, como infecções gastrointestinais, inflamações e doenças cardiovasculares (ARUN; SINGH, 2012). Originária do Oriente Médio, a romãzeira é cultivada em diversas regiões do mundo, incluindo o Brasil, onde seu consumo tem ganhado destaque devido aos benefícios associados à sua composição rica em compostos fenólicos, como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos (LORENZI; SOUZA, 2001).

Os flavonoides constituem um grupo importante de metabólitos secundários presentes em plantas, com reconhecida atividade antioxidante, anti-inflamatória e cardioprotetora (DORNAS et al., 2007). Estudos demonstram que o consumo diário de flavonoides está associado à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, como aterosclerose e câncer (ALVES, 2019). O consumo de flavonoides (especificamente quercetina, kaempferol e miricetina) pode reduzir o risco de doenças coronarianas (HERTOG; FESKENS; KROMHOUT, 1993).

No entanto, a concentração desses compostos em produtos fitoterápicos pode variar significativamente devido a fatores como método de extração, origem botânica e presença de adjuvantes, o que justifica a necessidade de estudos quantitativos para garantir a eficácia terapêutica.

Neste contexto, o presente trabalho teve como problema de pesquisa: *Qual a quantidade de flavonoides presentes no extrato do fruto da romã para uma estimativa de ingestão diária com potencial terapêutico?* Para respondê-lo, objetivou-se quantificar os flavonoides totais em extratos comerciais de romã, utilizando a espectrofotometria UV-Visível, com rotina como padrão. A hipótese testada foi a de que os extratos analisados apresentariam teores significativos de flavonoides, porém com variações devido a diferenças em sua composição.

METODOLOGIA

Para a realização do estudo, procedeu-se inicialmente com a aquisição de duas amostras comerciais de extrato seco de romã (*Punica granatum* L.) em forma de cápsulas, provenientes de distintos fabricantes brasileiros. A Amostra 1 foi obtida da empresa NUTRI STATE PRODUTOS NATURAIS EIRELI, localizada em Campo Grande, São Paulo, enquanto a Amostra 2 foi adquirida da BELEZA SAÚDE, estabelecida em Mirandópolis, São Paulo. Esta seleção de amostras de diferentes origens teve como objetivo avaliar a variabilidade na composição de produtos comercializados como fitoterápicos.

O protocolo analítico teve início com o preparo da solução padrão de rotina, utilizado como referência para a quantificação. Para tal, pesou-se precisamente 250 mg do padrão de rotina, que foram dissolvidos em metanol p.a., completando-se o volume para 100 mL, obtendo-se assim uma solução estoque com concentração de 2,5 mg/mL. A construção da curva de calibração foi realizada através da diluição de alíquotas variando entre 4,0 e 6,0 mL desta solução estoque em balões volumétricos de 25 mL. A cada balão foram adicionados sequencialmente: 0,6 mL de ácido acético glacial para acidificação do meio, 10 mL de solução metanólica de piridina a 20% como agente complexante, e 2,5 mL de solução de cloreto de alumínio (50 mg/mL) para formação do complexo colorido característico dos flavonoides. O volume final foi completado com água destilada purificada, gerando uma série de soluções padrão com concentrações entre 0,4 e 0,6 mg/mL.

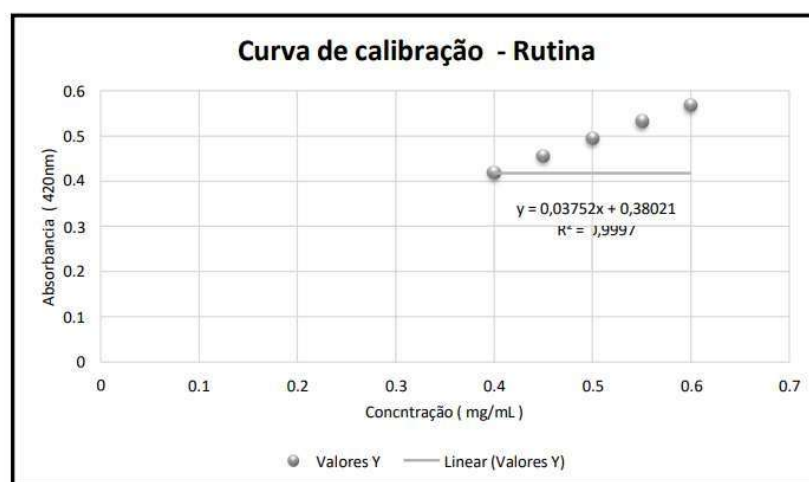
O processo de extração dos flavonoides das amostras comerciais seguiu um protocolo meticuloso. Inicialmente, o conteúdo de 10 cápsulas de cada amostra foi cuidadosamente pesado em balança analítica, obtendo-se massas de 4.515,8 mg para a Amostra 1 e 3.845,7 mg para a Amostra 2. Estas quantidades foram submetidas à extração por refluxo com 25 mL de metanol p.a., mantendo-se a temperatura controlada em 70°C por 30 minutos em chapa aquecedora com agitação moderada. Após o período de extração, as soluções foram filtradas sob vácuo em funil de Büchner com papel de filtro qualitativo, sendo o resíduo lavado com mais 25 mL de metanol para garantir a exaustão do processo extrativo. Os extratos combinados foram transferidos quantitativamente para balões volumétricos de 50 mL, sendo o volume completado com metanol.

Para a análise espectrofotométrica, alíquotas de 1 mL de cada extrato foram submetidas ao mesmo tratamento aplicado aos padrões, com diluição em balões de 25 mL e adição dos mesmos reagentes. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-Visível previamente calibrado, utilizando comprimento de onda de 420 nm, adequado para a detecção do complexo flavonoides-alumínio. Todas as medidas foram efetuadas em cubetas de quartzo com caminho óptico de 10 mm, realizando-se as análises em triplicata para garantia da precisão dos resultados. O branco utilizado consistiu de metanol submetido ao mesmo procedimento, porém sem a presença de amostra ou padrão, permitindo a correta subtração de eventuais interferências.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação de compostos bioativos em matrizes vegetais requer métodos analíticos validados que garantam confiabilidade nos resultados. Neste estudo, o método espectrofotométrico para determinação de flavonoides totais foi devidamente validado mediante construção de curva de calibração com padrão de rotina. A excelente linearidade obtida ($R^2 = 0,9997$) atesta a adequação do método, com a equação de regressão $y = 0,03752x + 0,38021$ demonstrando sensibilidade adequada para a faixa de concentração estudada (0,4-0,6 mg/mL). A precisão do método foi confirmada pelas baixas variações nos valores de absorbância nas leituras em triplicata, com coeficiente de variação CV < 2%.

Gráfico 1: Curva de calibração de Rutina



A análise comparativa dos extratos comerciais revelou diferenças marcantes na composição fenólica. Enquanto a Amostra 1 apresentou teor de 0,036% ($16,25 \pm 1,20$ mg/cápsula), a Amostra 2 mostrou concentração significativamente menor (0,016% ou $6,25 \pm 0,85$ mg/cápsula), respectivamente (valores expressos como média $\pm$ desvio padrão estimado com base na variação das triplicatas analíticas). A baixa dispersão dos dados ($CV < 5\%$) reforça a precisão do método. Essa variabilidade interamostral pode ser explicada por múltiplos fatores intrínsecos e extrínsecos ao processo produtivo.

Fatores intrínsecos incluem variações naturais na composição química da matéria-prima vegetal, que podem decorrer de diferenças edafoclimáticas, estágio de maturação ou partes da planta utilizadas. Já os fatores extrínsecos abrangem aspectos tecnológicos como: (i) método de extração empregado (temperatura, tempo, razão solvente:material vegetal); (ii) processo de secagem e concentração do extrato; e (iii) formulação final do produto (presença de excipientes e aditivos).

Particularmente na Amostra 2, a presença de corantes na formulação pode ter interferido tanto no processo extrativo quanto na análise espectrofotométrica. Corantes orgânicos frequentemente apresentam grupos cromóforos que absorvem na mesma região do espectro (420 nm), podendo levar a superestimação dos valores de absorvância. Além disso, interações físico-químicas entre os corantes e os compostos fenólicos podem reduzir a eficiência de extração.

Os teores de flavonoides na Amostra 1 ($16,25 \pm 1,20$ mg/cápsula) superaram os descritos para sucos comerciais (7,88 mg/g, Vital, 2014), enquanto a Amostra 2 ($6,25 \pm 0,85$ mg/cápsula) apresentou valores inferiores até mesmo a extratos de casca (18,40 mg/g, Silva et al., 2010). Essa discrepância pode refletir diferenças no processamento ou adição de excipientes. Apesar da precisão do método espectrofotométrico ($CV < 5\%$), a presença de corantes na Amostra 2 pode ter interferido na análise, sublinhando a necessidade de técnicas cromatográficas (HPLC-MS) para confirmação específica (Khalil et al., 2020).

Quando comparados a estudos similares, os teores de flavonoides encontrados na Amostra 1 (16,25 mg/cápsula) aproximam-se dos reportados por Silva et al. (2010) para extratos de casca de romã (18,40 mg/g, equivaleriam a $\sim 9,20$ mg/cápsula), enquanto a Amostra 2 (6,25 mg/cápsula) apresentou valores inferiores até mesmo aos descritos para sucos comerciais (7,88 mg/g, Vital, 2014). Essa discrepância pode estar relacionada à diluição por excipientes ou à perda de compostos durante o processamento industrial, como observado em formulações de extratos secos por Freitas et al. (2023).

Do ponto de vista farmacoterapêutico, a disparidade observada tem implicações práticas relevantes. A dose diária recomendada de flavonoides para efeitos cardioprotetores está entre 50–500 mg/dia, com base em estudos clínicos (Hollman, 2011). Um estudo apresenta evidências de que o consumo de >500 mg/dia de flavonoides está associado à redução de mortalidade por doenças crônicas (Grosso, 2017). Outro estudo sugere benefícios com ingestão de ~ 600 mg/dia de flavonoides totais, principalmente de fontes como frutas e chás (Bondonno, 2022).

Considerando essas recomendações, seriam necessárias posologias drasticamente diferentes: 30 cápsulas/dia da Amostra 1 versus 80 cápsulas/dia da Amostra 2. Esta diferença evidencia a importância crítica de:

1. Padronização rigorosa dos processos extrativos
- Controle de qualidade da matéria-prima vegetal
- Especificação clara da composição quantitativa
- Validação de métodos analíticos para controle de lotes

Embora a espectrofotometria UV-Visível seja amplamente utilizada para quantificação de flavonoides totais, é importante destacar suas limitações frente a técnicas cromatográficas. A presença de corantes ou outros interferentes na matriz pode levar a superestimação dos resultados, já que o método não discrimina compostos individuais. Estudos como os de Sobrinho et al. (2008) validaram a espectrofotometria para matrizes vegetais simples, mas em produtos comerciais complexos, a cromatografia de alta eficiência (HPLC) acoplada a espectrometria de massas seriam ideais para confirmar a especificidade dos flavonoides quantificados (Khalil et al., 2020). Futuros trabalhos poderiam combinar ambas as técnicas para maior robustez analítica.

Além disso, destaca-se a necessidade de estudos de biodisponibilidade para determinar a fração realmente absorvida desses compostos, considerando que a forma farmacêutica (cápsulas) e a presença de excipientes podem afetar a liberação e absorção dos princípios ativos.

CONCLUSÃO

Os extratos comerciais analisados apresentaram teores variáveis de flavonoides, com diferenças possivelmente atribuíveis à composição e processamento. A metodologia espectrofotométrica mostrou-se adequada para triagem rotineira, embora recomenda-se o uso de técnicas cromatográficas para análises mais específicas. A padronização de extratos e a avaliação de interferentes são essenciais para garantir a qualidade de produtos à base de romã.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao IFG – Câmpus Anápolis pelo suporte técnico e infraestrutura laboratorial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, B. *Pessoas que consomem antioxidantes diariamente têm risco de morte reduzido em 36%*. Casa e Jardim, 2019. Disponível em: <https://revistacasaejardim.globo.com/casa-e-jardim/bemestar/saude/noticia/2019/08/pessoas-que-consoem-antioxidantes-diariamente-tem-risco-de-morte-reduzido-em-36.html>. Acesso em: 25 abr. 2025.
- ARUN, N.; SINGH, D. P. *Punica granatum*: Uma revisão sobre propriedades farmacológicas e terapêuticas. *Revista Internacional de Ciências Farmacêuticas e Pesquisa*, v. 3, p. 1240-1245, 2012.
- BONDONNO, N. P. et al. Flavonoid intake is associated with lower mortality in the Danish Diet Cancer and Health Cohort. *Nature Communications*, v. 13, n. 1, p. 1-11, 2022.
- DORNAS, W. C. et al. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas*, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007.
- FREITAS, J. V. O. et al. *Comparação entre os teores de fenóis e flavonoides de extratos metanólicos da casca, folha e tronco da romã, Punica granatum L.* In: Congresso Brasileiro de Química, 2023. Disponível em: <https://www.abq.org.br/cbq/2023/trabalhos/7/24755-29776.html>. Acesso em: 25 abr. 2025.
- GROSSO, G. et al. Dietary flavonoid and lignan intake and mortality in prospective cohort studies: Systematic review and dose-response meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*, v. 185, n. 12, p. 1304-1316, 2017.
- HERTOG, M. G. L.; FESKENS, E. J. M.; KROMHOUT, D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, v. 342, n. 8878, p. 1007-1011, 1993.
- HOLLMAN, P. C. H. et al. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is still unclear. *Journal of Nutrition*, v. 141, n. 5, p. 989S-1009S, 2011.
- KHALIL, M. N. A. et al. (2020). "Comparison between UV-Vis and HPLC methods for determination of flavonoids in medicinal plants". *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 10, n. 3, p. 209-215, 2020.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M. *Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras*. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2001.
- PEREIRA, R. J. et al. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, v. 3, n. 4, p. 146-152, 2012.
- SANTOS, L. A. et al. Avaliação da atividade de *Punica granatum* Linnaeus contra *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina e ação anti-inflamatória "in vivo". *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 12, n. 1, p. 775-784, 2014.
- SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
- SOBRINHO, T. J. S. P. et al. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 44, n. 4, 2008.
- VITAL, K. L. *Extração e quantificação de compostos fenólicos na romã*. Assis: FEMA, 2014.