



CÍNTIA ALVARENGA SANTOS FRAGA DE MIRANDA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DE FOLHAS DE DIVERSAS
PLANTAS**

LAVRAS – MG

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CÍNTIA ALVARENGA SANTOS FRAGA DE MIRANDA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE FOLHAS
DE DIVERSAS PLANTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Maria das Graças Cardoso

LAVRAS - MG

2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Miranda, Cíntia Alvarenga Santos Fraga de.

Atividade antioxidante de óleos essenciais de folhas de diversas plantas / Cíntia Alvarenga Santos Fraga de Miranda. – Lavras : UFLA, 2010.

151 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Maria das Graças Cardoso.

Bibliografia.

1. Essências. 2. Óleos voláteis. 3. Atividade antirradical livre. 4. Radicais livres. 5. Oxidação. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 547.71

CÍNTIA ALVARENGA SANTOS FRAGA DE MIRANDA

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE FOLHAS
DE DIVERSAS PLANTAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, área de concentração em Agroquímica e Agrobioquímica, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 19 de agosto de 2010.

Dra. Angelita Duarte Corrêa	UFLA
Dr. Matheus Puggina de Freitas	UFLA
Dr. José Geraldo Chaves	CETEC

Dra. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

LAVRAS – MG

2010

A Deus, por ser meu único e verdadeiro guia, conduzindo-me por caminhos nem sempre tão óbvios, mas certamente abençoados.

Às minhas amadas filhas, Sofia e Susana, minhas reais “professoras” no ensino diário e prático do amor incondicional e imensurável. Vocês são meus verdadeiros anjos da guarda. Amo vocês mais que a mim mesma, para sempre.

Aos meus queridos pais, Janice e Fraga, que são meus maiores exemplos de dignidade, honestidade, superação e por terem me ensinado o real sentido da doação e do amor em família.

Ao Rodrigo, que mesmo após tantos anos de convivência, surpreende-me diariamente com sua dedicação, cumplicidade e lealdade. Você me faz feliz por conviver e aprender com você e por formarmos um verdadeiro lar.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que abençoa, protege e guarda cada um dos meus passos; nada tenho a pedir, só a agradecer.

À minha orientadora, Maria das Graças Cardoso, agradeço pela confiança em e convidar-me para fazer parte deste seletivo grupo de pessoas que trabalham com você e por me incentivar a fazer sempre melhor. À minha amiga, agradeço pela consideração e carinho com que têm lidado com as minhas “limitações” profissionais e pessoais. E à minha vizinha, agradeço por tratar com tanta ternura as minhas filhas. Enfim, como dizer obrigada é muito pouco, só posso pedir a Deus que te recompense por tudo.

Aos meus amigos do Laboratório de Química Orgânica, Marcos, Juliana, Milene, Aline, Maria Luiza, Lucilene, João, Felipe, Wilder, Lidiane, Ana, Gustavo, Raquel, Renata, Isamara e Laize, pela valiosa e imprescindível disponibilidade para me ensinar e auxiliar na parte experimental desta dissertação.

À Profa. Dra. Samísia M. F. Machado, do Departamento de Química da UFS, pela realização das análises cromatográficas dos óleos essenciais.

Aos professores da Pós-Graduação do Departamento de Química, em especial à professora Angelita e ao professor Teodorico, pela disponibilidade, envolvimento e comprometimento não somente com a arte de ensinar conteúdos relacionados à Química, mas muitas vezes a buscar soluções para as mais variadas dificuldades.

Aos funcionários do Departamento de Química, em especial à Shirley, Ana Cristina e Cristina, pela disposição em nos atender e resolver prontamente nossos problemas.

Aos colegas da Pós-Graduação, pela amizade, companheirismo nos estudos e pela confiança ao indicar-me como representante de vocês no Colegiado.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa de estudo.

À minha avó Eunice, que aos 88 anos é um exemplo de disposição e vitalidade, além de apoiar-me e preocupar-se comigo verdadeiramente como minha segunda mãe durante toda a minha vida.

Aos meus tios Beto, Jeane e minha prima Ester, que mesmo de longe, são tão importantes e necessários em todos os momentos de nossa família.

À minha avó Maria, que mesmo com toda sua fragilidade, tenho certeza de que sua torcida é constante e valiosa.

Às companheiras Leninha e Tereza, que têm feito sempre o melhor por minhas filhas e minha casa, agradeço pela amizade e comprometimento, sem os quais não poderia ter chegado até aqui.

E a todos outros familiares e amigos que contribuíram nos mais diversos aspectos para o sucesso desta caminhada.

RESUMO

Os óleos essenciais são metabólitos secundários de plantas e apresentam uma multiplicidade de aplicações, podendo-se destacar principalmente sua aplicação como antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes e inseticidas naturais. Podem, portanto, ser utilizados em substituição ou associação aos aditivos sintéticos, o que agrega valor e aumenta a aceitação pelos consumidores dos produtos aos quais são adicionados. Além disso, possuem aplicabilidade em diversas matérias-primas, como alimentos, cosméticos, medicamentos, entre outros. Diante do exposto, objetivou-se neste experimento analisar a composição química de óleos essenciais extraídos de folhas frescas e secas de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.), suas atividades antioxidantes, bem como as de seus constituintes majoritários timol, citral, eugenol e linalol, respectivamente, comparando-os aos antioxidantes sintéticos BHT, BHA e ácido ascórbico. Os óleos essenciais foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado e suas composições químicas foram determinadas por GC/MS. As atividades antioxidantes foram determinadas qualitativamente pelo ensaio em CCD e quantitativamente pelos ensaios do sequestro dos radicais DPPH e da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico. Os constituintes majoritários presentes nos óleos essenciais das espécies frescas de tomilho, capim-limão, alfavaca e manjerição foram o timol, p-cimeno e γ -terpineno; geranial, neral e mirceno; eugenol, (γ)-muuruleno e (Z)- β -ocimeno; cineol, linalol e cânfora, respectivamente, ao passo que os das folhas secas das referidas plantas foram o borneol, α -terpineol e carvacrol; o geranial, neral e mirceno; eugenol, (γ)-muuruleno e (Z)- β -ocimeno; metil chavicol, linalol e metil eugenol. No ensaio do sequestro de radicais DPPH, as amostras com atividade antioxidante mais expressiva foram o padrão eugenol, seguido do óleo essencial de alfavaca fresca e do óleo essencial de alfavaca seca. Pelo método da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, o óleo essencial de alfavaca seca, seguido do padrão eugenol e do óleo essencial de alfavaca fresca, apresentaram maior eficiência no combate aos radicais livres.

Palavras-chave: Óleos essenciais. Atividade antioxidante. Sistema β -caroteno/ácido linoleico. Radical DPPH. Folhas.

ABSTRACT

Essential oils are secondary metabolites of plants and feature a variety of applications, being able to highlight their potential application as antibiotics, antifungals, antioxidants and natural insecticides. Therefore can be used in place of synthetic additives or association that adds value and increases consumer acceptance of products that are added. They also have applicability in various raw materials such as food, cosmetics, and pharmaceuticals, among others. Given the above, this experiment aimed to analyze the chemical composition of essential oils from fresh and dried leaves of thyme (*Thymus vulgaris* L.), lemon grass (*Cymbopogon citratus*), wild basil (*Ocimum gratissimum* L.) and basil (*Ocimum basilicum* L.), their antioxidant activity, as well as their major constituents thymol, citral, eugenol and linalool, respectively, comparing them to synthetic antioxidant BHT, BHA and ascorbic acid. Essential oils were extracted by hydrodistillation in a modified Clevenger apparatus and their chemical compositions were determined by GC / MS. The antioxidant activities were determined qualitatively by TLC assay and quantitatively by testing the kidnapping of DPPH radicals and the oxidation of β -caroteno/ linoleic acid system. The major compounds present in essential oils of species of fresh thyme, lemon grass, wild basil and basil were thymol, p-cymene and γ -terpinene; the geranial, neral and myrcene; eugenol, (γ)-muuruleno and (Z)- β -ocimene, cineole, linalool and camphor, respectively, while the dry leaves of these plants were borneol, α -terpineol and carvacrol, the geranial, neral and myrcene, eugenol, (γ)-muuruleno and (Z)- β -ocimene, methyl chavicol, linalool and methyl eugenol. In the trial of the kidnapping of DPPH radical, those with antioxidant activity were the most significant pattern of eugenol, followed by the essential oil of basil essential oil and fresh basil dry. By the method of inhibiting the oxidation of β -caroteno/ linoleic acid system, essential oil of dried basil, followed the pattern of eugenol and essential oil of fresh basil, showed the highest efficiency in combating free radicals.

Keywords: Essential oils. Antioxidant activity. β -caroteno/ linoleic acid system. DPPH radical. Leaves.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.....	27
Figura 2	Estrutura química do fenilpropanoide.....	28
Figura 3	Biossíntese de fenilpropanoides.....	28
Figura 4	Estrutura química do isopreno.....	28
Figura 5	Biossíntese de terpenos pela via mevalonato.....	30
Figura 6	Biossíntese de terpenos pela via DXPS.....	31
Figura 7	Reação de autooxidação.....	42
Figura 8	Estruturas químicas do (a) BHA, (b) BHT, (c) GP e (d) TBHQ.....	49
Figura 9	Reação química entre BHT e radical DPPH.....	53
Figura 10	Reação de oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	54
Figura 11	Aspecto geral da espécie <i>Thymus vulgaris</i> L.....	56
Figura 12	Aspecto geral da espécie <i>Cymbopogon citratus</i>	57
Figura 13	Aspecto geral da espécie <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	58
Figura 14	Aspecto geral da espécie <i>Ocimum basilicum</i> L.....	59
Figura 15	Resultado do teste qualitativo de atividade antioxidante de óleos essenciais em Cromatografia de Camada Delgada.....	71
Figura 16	Constituintes majoritários do óleo essencial de folhas frescas de tomilho: (a) timol, (b) p-cimeno, (c) γ -terpineno..	77
Figura 17	Constituintes majoritários do óleo essencial de folhas secas de tomilho: (a) borneol, (b) α -terpineol, (c) carvacrol.....	78
Figura 18	Constituintes majoritários dos óleos essenciais de folhas frescas e secas de capim-limão: (a) mirceno, (b) neral, (c) geranial.....	82

Figura 19	Constituintes majoritários dos óleos essenciais de folhas frescas e secas de alfavaca: (a) eugenol, (b) (Z)- β -ocimeno e (c) (γ)-muuruleno.....	85
Figura 20	Constituintes majoritários do óleo essencial de folhas frescas manjeriço: (a) cineol, (b) linalol, (c) cânfora.....	90
Figura 21	Constituintes majoritários do óleo essencial de folhas secas de manjeriço: (a) metil chavicol, (b) linalol, (c) metil eugenol.....	91
Figura 22	Resultado da atividade antioxidante de óleos essenciais em placas de Cromatografia de Camada Delgada.....	94

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH.....	96
Gráfico 2	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH.....	98
Gráfico 3	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão eugenol, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH.....	100
Gráfico 4	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de manjerição e do padrão linalol, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH.....	102
Gráfico 5	Análise comparativa entre as atividades antioxidante do BHT, BHA e ácido ascórbico, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH.....	104
Gráfico 6	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	107
Gráfico 7	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, em função da concentração, pelo método da	

	oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	109
Gráfico 8	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão eugenol, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	111
Gráfico 9	Análise comparativa entre as atividades antioxidante de óleos essenciais de folhas frescas e secas de manjerição e do padrão linalol, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	113
Gráfico 10	Análise comparativa entre as atividades antioxidante do BHT, BHA e ácido ascórbico, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	115

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Resultados da intensidade da descoloração do radical DPPH pelos óleos essenciais.....	70
Tabela 2	Resultados da determinação da umidade e rendimento das extrações dos óleos essenciais das folhas de plantas.....	72
Tabela 3	Constituição química dos óleos essenciais de folhas frescas de tomilho.....	75
Tabela 4	Constituição química dos óleos essenciais de folhas secas de tomilho.....	76
Tabela 5	Constituição química dos óleos essenciais de folhas frescas de capim-limão.....	80
Tabela 6	Constituição química dos óleos essenciais de folhas secas de capim-limão.....	81
Tabela 7	Constituição química dos óleos essenciais de folhas frescas de alfavaca.....	83
Tabela 8	Constituição química dos óleos essenciais de folhas secas de alfavaca.....	84
Tabela 9	Constituição química dos óleos essenciais de folhas frescas de manjeriço.....	87
Tabela 10	Constituição química dos óleos essenciais de folhas secas de manjeriço.....	89
Tabela 11	Resultados CI_{50} das amostras, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH.....	105

LISTA DE SIGLAS

A [•]	Radical inerte
Acetil-CoA	Acetil-Coenzima A
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
BLU	Base livre de umidade
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
GC	Cromatografia Gasosa
GC/MS	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas
GC/FID	Cromatografia em fase gasosa com detector por ionização de chamas
CI ₅₀	Concentração de 50% de inibição
CO ₂	Dióxido de carbono
COMTRADE	Commodity Trade Statistics Database
DCB	Comissão de Diversidade Biológica
DIC	Delineamento inteiramente casualizado
DMAPP	Dimetilalil difosfato
DNA	Ácido desoxiribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazila
DPPH-H	2,2-defenil-picril-hidrazina
DXPS	1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato
EDTA	Ácido etileno diamino tetra acético
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
FID	Detector por ionização de chamas
FPP	Farnesil difosfato

GGPP	Geranyl-geranyl difosfato
GP	Galato de propila
GPP	Geranyl difosfato
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HNO ₂	Ácido nitroso
IPP	Isopentil-pirofosfato
IR _{cal}	Índice de Retenção Calculado
IR _{lit}	Índice de Retenção da Literatura
MEP	2-C-metil-D-eritrol-4-fosfato
N ₂ O ₃	Óxido nitroso
NO [•]	Radical óxido nítrico
NO ₂	Dióxido de nitrogênio
NO ₂ ⁻	Nitritos
NO ₃ ⁻	Nitratos
O ₂ ^{•-}	Radical superóxido
O ₃	Ozônio
OE	Óleos Essenciais
OH [•]	Radical hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
ONOO ⁻	Peroxinitritos
R [•]	Radical livre
RH	Ácido graxo insaturado
RNA	Ácido ribonucleico
RO [•]	Radical alcóxila
ROO [•]	Radical peróxila
ROO [•]	Radical peróxido
ROOH	Hidroperóxido
RS [•]	Radical derivado dos tióis

SO ₂	Dióxido de enxofre
TBARS	Ensaio de Espécies Reativas do Ácido Tiobarbitúrico
TBHQ	Tert-butil-hidroquinona
TR	Tempo de Retenção

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Unidade de temperatura: Graus Celsius
ppm	Unidade: Parte por milhão
nm	Unidade de medida: Nanômetros
%	Unidade: Porcentagem
mL	Unidade de volume: Mililitros
g	Unidade de massa: Gramas
p/p	Razão: Peso/peso
μL	Unidade de volume: Microlitro
m	Unidade de medida: Metros
mm	Unidade de medida: Milímetros
μm	Unidade de medida: Micrômetros
mL/ min	Razão: Mililitros/minuto
KPa	Unidade de pressão: Quilopascal
eV	Unidade de energia: Elétron-volt
μg/mL	Razão: Micrograma/mililitro
cm	Unidade de medida: Centímetro
mg	Unidade de massa: miligrama

LISTA DE ABREVIATURAS

abr.	abril
ago.	agosto
apr.	april
aug.	august
dez.	dezembro
feb.	february
fev.	fevereiro
jan.	janeiro/january
jul.	julho/july
jun.	junho
mar.	march/ março
n.	número
nov.	novembro
oct.	october
out.	outubro
p.	página
sept.	september
set.	setembro
UV.	ultravioleta
UV-Vis.	ultravioleta-visível
v.	Volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	22
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	24
2.1	Óleos essenciais.....	24
2.1.1	Definição e características.....	25
2.1.2	Composição química.....	25
2.1.3	Biossíntese de óleos essenciais e outros metabólitos secundários.....	26
2.1.4	Fatores que influenciam o conteúdo de metabólitos secundários.....	31
2.1.5	Origem e localização.....	32
2.1.6	Métodos de obtenção.....	32
2.1.7	Funções biológicas.....	33
2.1.8	Atividades farmacológicas e utilização em alimentos..	33
2.1.9	Óleos essenciais empregados como antioxidantes.....	34
2.2	Radicais livres e estresse oxidativo.....	36
2.3	Oxidação lipídica.....	40
2.4	Antioxidantes.....	42
2.4.1	Classificação de antioxidantes.....	44
2.4.2	Mecanismos de ação dos antioxidantes.....	45
2.4.3	Antioxidantes em alimentos.....	46
2.4.3.1	Antioxidantes sintéticos.....	48
2.4.3.2	Antioxidantes naturais.....	50
2.5	Metodologias empregadas na avaliação da atividade antioxidante.....	51
2.5.1	Ensaio do sequestro do radical DPPH.....	52
2.5.2	Ensaio da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	54
2.6	Plantas utilizadas.....	55
2.6.1	Tomilho.....	55
2.6.2	Capim-limão.....	56
2.6.3	Alfavaca.....	57
2.6.4	Manjericão.....	58
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	60
3.1	Triagem da atividade antioxidante de óleos essenciais em CCD.....	60
3.2	Coleta e preparação das espécies vegetais.....	61
3.3	Extração dos óleos essenciais.....	62
3.4	Determinação do teor de umidade das folhas frescas e do rendimento das extrações de óleos essenciais.....	63

3.5	Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais.....	64
3.6	Atividade antioxidante dos óleos essenciais.....	64
3.6.1	Análise qualitativa da atividade antioxidante dos óleos essenciais em CCD.....	65
3.6.2	Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo consumo do radical livre DPPH.....	65
3.6.3	Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico.....	67
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4.1	Triagem da atividade antioxidante de diferentes óleos essenciais em CCD.....	69
4.2	Determinação da umidade e do rendimento das extrações de óleos essenciais.....	70
4.3	Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais.....	73
4.3.1	Óleos essenciais de <i>Thymus vulgaris</i> L.....	73
4.3.2	Óleos essenciais de <i>Cymbopogon citratus</i>	78
4.3.3	Óleos essenciais de <i>Ocimum gratissimum</i> L.....	82
4.3.4	Óleos essenciais de <i>Ocimum basilicum</i> L.....	85
4.4	Atividade antioxidante de óleos essenciais.....	91
4.4.1	Análise qualitativa da atividade antioxidante qualitativa dos óleos essenciais em CCD.....	92
4.4.2	Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo método da captura de radicais DPPH.....	93
4.4.3	Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	104
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	114
6	CONCLUSÕES.....	115
	REFERÊNCIAS.....	116
	APÊNDICE A.....	125
	APÊNDICE B.....	129
	APÊNDICE C.....	135

1 INTRODUÇÃO

A natureza sempre despertou no homem um grande fascínio, motivando-o a buscar incessantemente conhecimentos técnico-científicos baseados nos recursos naturais, que melhorem sua condição de sobrevivência e possam ser utilizados como alimentos e na melhoria da condição de saúde. Assim, atualmente alcançou-se um alto nível de desenvolvimento tecnológico, e substâncias extraídas da natureza podem ser utilizadas como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos ou aplicadas diretamente como medicamentos, defensivos naturais na agricultura, cosméticos ou alimentos.

No início da década de 90, a Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgou que 65-80% da população dos países em desenvolvimento utilizavam plantas medicinais como única forma de acesso aos cuidados básicos de saúde. Esses números aumentaram com o passar dos anos, tendo em vista a evolução dos estudos dos recursos naturais, com conseqüente aumento dos conhecimentos das suas propriedades e aplicabilidades, e ao mesmo tempo mudança do interesse dos consumidores, que atualmente têm buscado alimentos, aditivos e medicamentos de origem natural, agregando e aumentando o valor e o interesse por esses recursos naturais. Mesmo assim, apenas 8% desse potencial biológico foram estudados em busca de compostos bioativos e 1.100 espécies vegetais foram avaliadas em suas propriedades medicinais. Dessas, 590 plantas foram registradas no Ministério da Saúde para comercialização (VEIGA JÚNIOR et al., 2005; VIEGAS JÚNIOR et al., 2006).

Nesse contexto, os óleos essenciais (OE), metabólitos secundários de plantas, vêm ganhando destaque e despertando interesse nas suas várias aplicações como produtos farmacêuticos, cosméticos e como conservantes de alimentos. Entre suas diversas propriedades, podem ser destacadas: antissépticos, antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes, repelentes, entre

outras. Os OE podem ser extraídos de plantas, por diversas técnicas, como hidrodestilação, arraste a vapor e pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, sendo constituídos principalmente de monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides.

Vários estudos com antioxidantes extraídos de plantas têm sido relatados, destacando-se os OE, já que muitos deles têm-se mostrado eficientes em retardar os processos oxidativos, impedindo ou diminuindo a ação dos radicais livres.

Os radicais livres são intermediários de reações, altamente reativos, podendo ter origem endógena, sendo provenientes de processos aeróbicos e do próprio metabolismo celular ou exógena, sendo produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica.

Diante do exposto, objetivou-se neste estudo analisar a composição química de óleos essenciais extraídos de folhas frescas e secas de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus*), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) e manjerição (*Ocimum basilicum* L.), suas atividades antioxidantes, bem como as de seus constituintes majoritários timol, citral (mistura isomérica de geranial e neral), eugenol e linalol, respectivamente, comparando-os aos antioxidantes sintéticos BHT, BHA e ácido ascórbico.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Óleos essenciais

O Brasil é um dos destaques na produção de OE, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os grandes produtores mundiais. A posição do Brasil atualmente deve-se aos OE de cítricos (subprodutos da indústria de sucos); no passado, o país destacava-se como exportador de OE de pau-rosa, sassafrás e menta. Nos dois últimos casos, passou à condição de importador. De acordo com a base de dados americana COMTRADE (Commodity Trade Statistics Database), os maiores consumidores de OE no mundo são os EUA (40%), a União Europeia (30%) e o Japão (7%), ao lado do Reino Unido, Alemanha, Suíça, Irlanda, China, Cingapura e Espanha. O mercado mundial de OE gira em torno de US\$ 15 milhões/ano, apresentando crescimento aproximado de 11% ao ano (BIZZO et al., 2009).

No passado, a maioria dos OE era estudada no aspecto do aroma e da química das fragrâncias somente em alimentos aromáticos, bebidas e outros. Atualmente, os OE e seus constituintes têm ganhado maior destaque devido à sua posição como produto natural, sua grande aceitação pelos consumidores, seu potencial de uso multifuncional e, aos riscos potenciais dos aditivos sintéticos. De fato, em muitos estudos têm sido relatadas propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes e sequestradoras de radicais e, em alguns casos, uma aplicação direta em alimentos tem sido testada (SACCHETTI et al., 2005).

Os OE possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos, sendo empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo

substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (BIZZO et al., 2009).

2.1.1 Definição e características

Os OE são misturas complexas de compostos voláteis, líquidos e geralmente odoríferos. São solúveis em solventes apolares e possuem solubilidade limitada em água, mas suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são conhecidas como hidrolatos; evaporam rapidamente, quando expostos ao ar à temperatura ambiente, por isso, são chamados de essências, óleos voláteis ou etéreos. Geralmente, quando recentemente extraídos, são incolores ou amarelados (alguns apresentam coloração, como o OE de camomila, que é azul, devido aos altos teores de azuleno) (SIMÕES et al., 2007).

Em geral, os OE na presença de oxigênio, luz, calor, umidade e metais são muito instáveis, sofrendo inúmeras reações de degradação, o que dificulta a sua conservação, fazendo com que o seu processo de armazenamento seja fundamental para a manutenção de sua qualidade (GUIMARÃES et al., 2008).

2.1.2 Composição química

A estrutura química dos OE é composta basicamente por carbono, oxigênio e hidrogênio, sendo sua classificação química difícil, visto serem formados por uma mistura de diversas moléculas orgânicas, como hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis, éteres, ésteres, aldeídos, cetonas, fenóis, entre outras. Os OE apresentam-se em misturas de diferentes concentrações de constituintes químicos, tendo, normalmente, um ou dois compostos majoritários.

A composição dos OE é determinada geneticamente, podendo variar de acordo com a origem botânica, quimiotipo, ciclo vegetativo, fatores da natureza e método de obtenção (SIMÕES et al., 2007).

2.1.3 Biossíntese de óleos essenciais e outros metabólitos secundários

As plantas possuem dois tipos de metabolismos, responsáveis pela produção de metabólitos com diferentes funções, conforme citado a seguir:

Metabólitos primários: substâncias que são imprescindíveis ao desenvolvimento e sobrevivência do organismo, realizando suas principais funções vitais, como, por exemplo, as proteínas, lipídios, carboidratos, ácidos nucleicos.

Metabólitos secundários: podem estar presentes ou não nos vegetais, dependendo das variáveis ecológicas e, embora não sejam essenciais para a sobrevivência dos vegetais, conferem vantagens adaptativas a eles. A planta necessita desses compostos para melhorar sua estratégia de sobrevivência e adaptação ao meio ambiente. Como exemplos, citam-se os alcaloides, terpenoides, OE e derivados de fenilpropanoides (FUNARI; FERRO, 2005).

O metabolismo secundário dá origem aos compostos por meio de dois metabólitos intermediários, os fenilpropanoides e o isopreno (2-metil-2,3-butadieno), que são derivados do ácido chiquímico e do ácido acético, respectivamente (Figura 1) (SIMÕES et al., 2007).

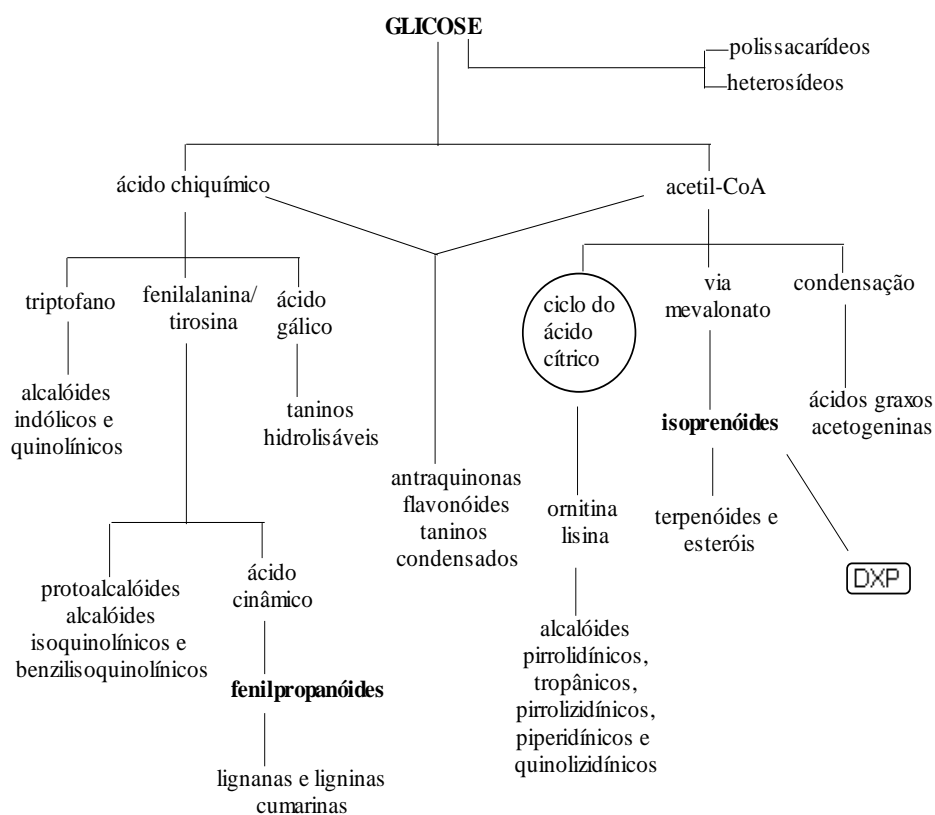


Figura 1 Ciclo biossintético dos metabólitos secundários

Adaptado de SIMÕES et al., 2007

Os fenilpropanóides (Figura 2) formam-se a partir do ácido chiquímico, o qual forma unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico, os quais por meio de reações produzem fenilpropanóides (Figura 3); os terpenóides constituem uma grande variedade de substâncias vegetais, cuja origem biossintética deriva de unidades do isopreno (Figura 4) (SIMÕES et al., 2007).

A unidade isoprênica (estrutura química pentacarbonada), por sua vez, origina-se do ácido mevalônico ou da via DXP. Os esqueletos básicos dos terpenoides são formados pela condensação de um número variável de unidades isoprênicas. Os isoprenos originam terpenoides e estes são constituintes de uma grande variedade de substâncias vegetais. Os compostos terpênicos mais frequentes nos óleos voláteis são os monoterpênicos (90 % dos OE) (SIMÕES et al., 2007).

Os terpenos são classificados pelo número de unidades isoprênicas que possuem: 10 átomos de carbono (monoterpênicos); 15 átomos de carbono (sesquiterpenos) e 20 átomos de carbono (diterpenos). Os maiores terpenos incluem os triterpenos (30 átomos de carbono), tetraterpenos (40 átomos de carbono) e os politerpenoides (com mais de 40 átomos de carbono) (SIMÕES et al., 2007).

Os terpenos são biossintetizados a partir de metabólitos primários, no mínimo, por duas rotas diferentes: pela rota do ácido mevalônico (Figura 5), três moléculas de acetil-CoA são ligadas por uma série de reações para formar o ácido mevalônico; esse intermediário é pirofosforilado e desidratado para produzir isopentenil difosfato (IPP). Esse é a unidade básica de formação dos terpenos. O IPP também pode ser formado por meio de um conjunto de reações denominadas rota do metilritrínol fosfato (MEP); na qual o isopentenil difosfato (IPP) e o dimetilalil difosfato (DMAPP) se unem para formar o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a qual dá origem aos monoterpênicos. O GPP, ligando-se a outra molécula de IPP, forma um composto de 15 carbonos, farnesil difosfato (FPP), precursor da maioria dos sesquiterpenos. A adição de mais uma molécula de IPP forma o geranylgeranyl difosfato (GGPP), com 20 átomos de carbonos, que dá origem aos diterpenos. E a dimerização de FPP e GGPP forma os triterpenos e os tetraterpenos, com 30 e 40 átomos de carbono, respectivamente (DEWICK, 2002).

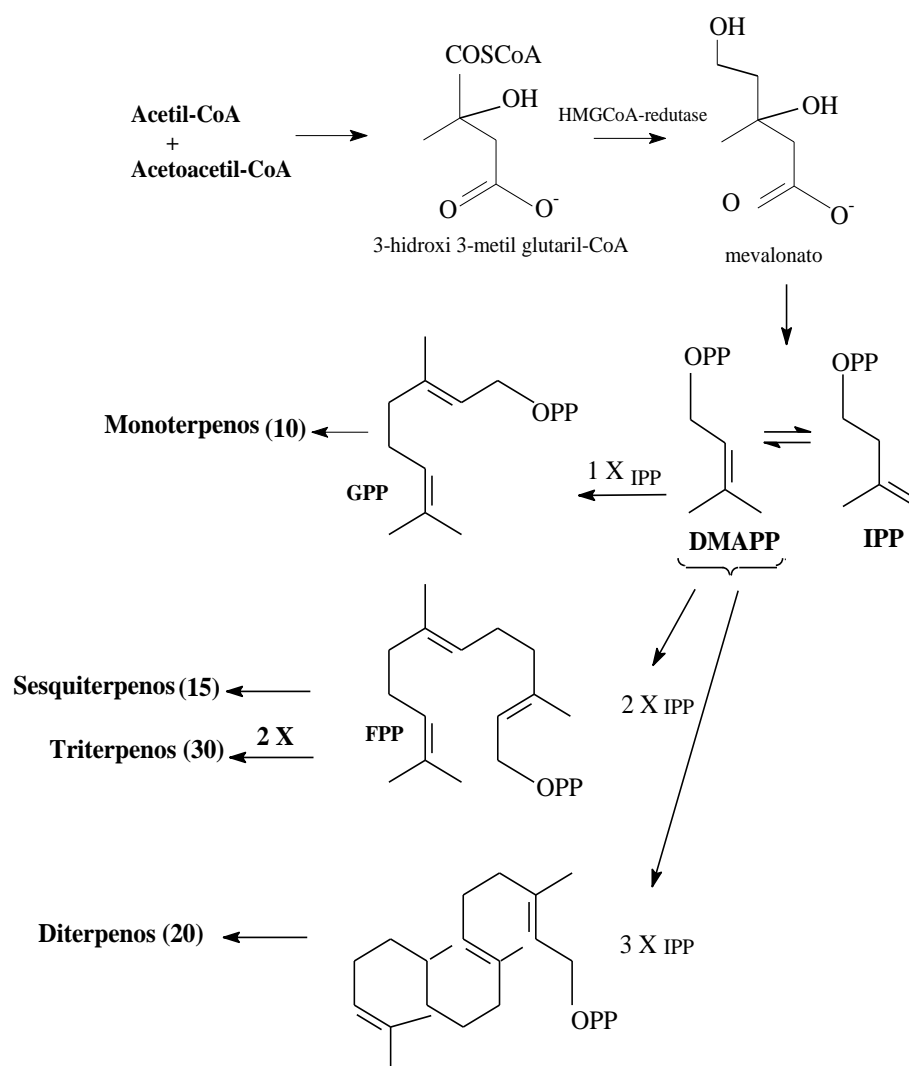


Figura 5 Biossíntese de terpenos via mevalonato

Fonte SIMÕES et al., 2007

Outra rota de biossíntese de terpenos é a 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS) (Figura 6). Por essa via, o piruvato e o gliceraldeído-3-fosfato formam o DXPS que, posteriormente, dá origem ao 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP).

Em seguida, são formados, por sucessivas reações, o IPP e o DMAPP, que darão origem aos terpenos (DEWICK, 2002).

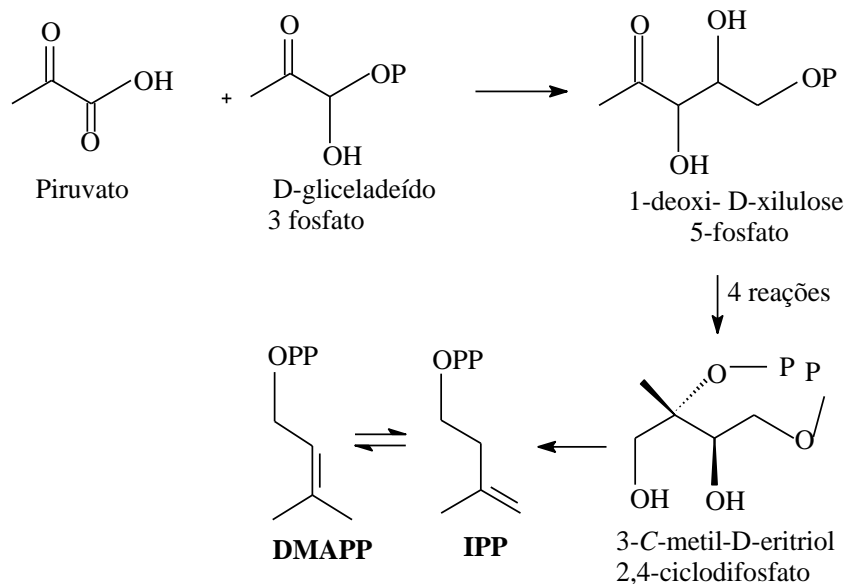


Figura 6 Biossíntese de terpenos via DXPS

Fonte DEWICK, 2002

2.1.4 Fatores que influenciam o conteúdo de metabólitos secundários

A concentração do princípio ativo de uma planta é influenciada por fatores genéticos e ambientais. Os genéticos são específicos para cada espécie e os ambientais podem variar consideravelmente, dependendo de vários fatores, como temperatura, altitude, idade da planta, herbivoria e ataque de patógenos, disponibilidade de água, micronutrientes e macronutrientes, composição atmosférica (CO_2 , SO_2 , NO_2 , O_3), radiação UV, ritmo circadiano, índice

pluviométrico, sazonalidade, altitude. Citam-se ainda a época de plantio, o horário e condições de colheita, estabilização, o tempo de secagem, estocagem, entre outros, sendo a constância de concentrações de metabólitos secundários praticamente uma exceção. A produção desses metabólitos, quando submetida a estímulos ambientais, está sob o controle simultâneo de dois padrões de resposta; um de maior dimensão e mais lento, provocado pelas variações climáticas sazonais, e outro de menor alteração, porém mais rápido, sendo influenciado por flutuações climáticas diárias (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; LUZ; EHLERT; INNECCO, 2009).

2.1.5 Origem e localização

Os OE podem ser encontrados em diferentes órgãos das plantas, como flores (rosas), folhas (eucalipto), cascas (canela), rizomas (gingibre) e frutos (laranja). Podem ser encontrados e armazenados em estruturas específicas, como pêlos glandulares (Lamiaceae), canais oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquisolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) e células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae) (SIMÕES et al., 2007).

2.1.6 Métodos de obtenção

Os OE podem ser obtidos de diversas partes de plantas por meio de destilação, utilizando-se as técnicas de extração por arraste a vapor d'água, hidrodestilação, prensagem de pericarpos (frutos cítricos), extração com solventes orgânicos, enfloração ou extração por CO₂ supercrítico (SIMÕES et al., 2007).

2.1.7 Funções biológicas

A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas; entretanto, o reino vegetal é responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura. A variedade e a complexidade das micromoléculas que constituem os metabólitos secundários de plantas provavelmente seria consequência direta de milhões de anos de evolução, atingindo um refinamento elevado de formas de proteção e resistência às intempéries do clima, poluição e predadores e, ainda é inalcançável por métodos laboratoriais (VIEGAS JÚNIOR et al., 2006).

Atualmente, sabe-se que muitas das substâncias produzidas pelo metabolismo secundário possuem propriedades biológicas importantes e estão diretamente envolvidas nos mecanismos que permitem a adequação da planta ao seu meio. As substâncias pertencentes a essa classe de metabólitos possuem diversas funções biológicas, tais como alelopatias, defesa contra herbívoros e micro-organismos, proteção contra raios UV, atração de polinizadores ou animais dispersores de sementes (FUMAGALI et al., 2008).

2.1.8 Atividades farmacológicas e utilização em alimentos

Os OE apresentam atividades farmacológicas, principalmente como antissépticos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, antioxidante, entre outras, sendo muito utilizados na medicina popular e indústria de medicamentos e em cosmetologia. São utilizados como aditivos em alimentos, sendo usados para preservar e prolongar a validade dos alimentos, evitando deteriorações, oxidações e ataques de micro-organismos, substituindo aditivos sintéticos (SIMÕES et al., 2007).

2.1.9 Óleos essenciais empregados como antioxidantes

Os OE têm sido pesquisados como antioxidantes naturais, e são propostos como potenciais substitutos para antioxidantes sintéticos em setores específicos de preservação de alimentos, onde seu uso não contrasta com seu aroma. Estes são, do ponto de vista químico, misturas complexas constituídas por várias dezenas de constituintes e, essa complexidade torna-os difíceis de terem suas atividades explicadas. Várias pesquisas referentes às atividades dos OE frequentemente referem-se a conceitos, como sinergismo, antagonismo, aditividade, que são raramente comprovados experimentalmente, sendo a maior parte puramente especulativa (RUBERTO; BARATA, 2000).

O uso de OE como antioxidantes naturais pode ser destacado em diversas pesquisas:

Chizzola; Michitsch e Franz (2008) verificaram propriedades antioxidantes de extratos e OE das folhas de tomilho (*Thymus vulgaris*), em que os OE com elevadas proporções dos componentes fenólicos timol e carvacrol apresentaram uma maior atividade antioxidante. No presente experimento, a composição química e a atividade antioxidante dos OE de folhas frescas, secas e do padrão do constituinte majoritário, timol, foram avaliadas e comparadas.

Pereira e Maia (2007) pesquisaram a capacidade antioxidante do extrato e OE obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) e observaram que o eugenol foi o componente principal (53,90%), atribuindo a ele a elevada atividade antioxidante. No atual experimento, objetivou-se analisar e comparar a composição química e a atividade antioxidante de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão de eugenol, seu constituinte majoritário.

Ao pesquisar as características químicas e biológicas dos OE de cominho (*Cuminum cyminum*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*), verificou-se que eles apresentam como constituintes majoritários, respectivamente, α -pineno

(29,1% e 14,9%), 1,8-cineol (17,9% e 7,43%) e linalol (10,4% e 14,9%). Assim, verificou-se também que ambos foram antioxidantes potentes na preservação de alimentos (GACHKAR et al., 2007).

As propriedades antimicrobianas e antioxidantes dos OE de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e sálvia (*Salvia officinalis* L.) foram avaliadas por Bozin et al. (2007), os quais verificaram que o OE de alecrim é um forte inibidor da lipoperoxidação, apresentando, portanto, intensa atividade antioxidante.

Analisando a composição química e propriedades antioxidantes de OE de folhas de cravo (*Eugenia caryophyllus*), Jirovetz et al. (2006) encontraram como componentes majoritários o eugenol (76,8%), β -cariofileno (17,4%) e o α -humuleno (2,1%), e comprovaram que esses OE possuem uma atividade antioxidante maior que BHT sobre radicais hidroxila, como quelante de ferro e na peroxidação lipídica. Em concentrações menores que o eugenol, BHT e BHA, o OE estudado apresentou uma maior atividade sequestradora contra radicais DPPH.

Os OE de orégano (*Origanum vulgare* L.), de tomilho (*Thymus vulgaris*) e de outros condimentos, quando adicionados a óleo de oliva virgem e aquecidos a 180 °C por 10 minutos, evitaram a degradação termoxidativa do α -tocoferol (TOMAINO et al., 2005).

Faleiro et al. (2005) demonstraram as atividades antibacteriana e antioxidante de OE de tomilho andaluz (*Thymbra capitata* L. (Cav.)) e orégano (*Origanum vulgare* L.). O tomilho andaluz apresentou como componente majoritário carvacrol (79%), enquanto no orégano, os majoritários encontrados foram timol (33%), γ -terpinene (26%) e p-cimeno (11%). Em relação à atividade antioxidante, verificou-se que OE de tomilho andaluz apresentou atividade antioxidante mais expressiva que o OE de orégano; os autores atribuíram esse fato à presença do carvacrol.

Nos estudos realizados por Farag; Ali e Taha (1990), os OE de tomilho (*Thymus vulgaris*) e de cominho (*Cuminum cyminum*) demonstraram atividade antioxidante semelhante ao BHT no controle da oxidação da manteiga, durante armazenamento à temperatura ambiente.

Farag; Badel e El-Baroty (1989) verificaram a eficiência do uso de OE de tomilho (*Thymus vulgaris*) e de cravo como antioxidantes naturais em óleo refinado de algodão, quando adicionados em níveis de 50 a 1.200 ppm, sendo ambos capazes de suprimir a oxidação lipídica, sem afetar o odor do substrato.

2.2 Radicais livres e estresse oxidativo

Radicaís livres são produzidos pela energia recebida por um átomo extremamente reativo que, de alguma forma, perdeu um elétron de sua camada mais externa, e devido à essa configuração, são intermediários altamente instáveis, com meia vida curtíssima e quimicamente muito reativos. A maioria dos radicaís livres age rapidamente, podendo ser produzidos com a mesma velocidade com que desaparecem; ao atacarem outras moléculas, podem transformar a molécula atacada em outro radical livre, gerando reações em cadeia bastante nocivas. Em termos gerais, o dano provocado pelos radicaís livres representa o resultado de uma reação química conhecida como oxidação, e os ataques deles sobre o tecido resultam em uma condição biológica conhecida como estresse oxidativo (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do metabolismo; assim, os radicaís livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica e estão envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes. O excesso de radicaís promove efeitos prejudiciais ao organismo,

como a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA (ácido desoxirribonucleico). Conseqüentemente, o equilíbrio entre a formação e a remoção de espécies radicalares no organismo deve ser regulado de forma que as reações e processos metabólicos dependentes delas possam ocorrer em um nível adequado para a manutenção da fisiologia das células. Pode-se citar o exemplo do metabolismo de oxigênio, no qual uma fração de aproximadamente 95% do oxigênio é metabolizada até água via cadeia eletrônica; os outros 5% formam radicais livres, que também podem ser aproveitáveis em alguns processos fisiológicos, especialmente na fagocitose (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007; ROVER JÚNIOR et al., 2001).

As principais fontes endógenas geradoras de ERO (espécies reativas de oxigênio) incluem as mitocôndrias e a atividade de algumas enzimas, como xantina oxidase, citocromo P-450-oxidase, monoaminoxidases, as enzimas envolvidas na via de produção de prostaglandinas e tromboxanos e a NADPH-oxidase da membrana plasmática de macrófagos, que produzem uma grande quantidade de ERO em resposta ao estímulo fagocitário. As espécies radicalares estão envolvidas nos mecanismos de reações inflamatórias ou atuam como segundos mensageiros, para manter diversas funções celulares (ROVER JÚNIOR et al., 2001).

Os radicais livres promovem reações com substratos biológicos, gerando danos às biomoléculas e, conseqüentemente, afetando a saúde humana, sendo os mais graves aqueles causados ao DNA e RNA (ácido ribonucleico). Se as cadeias do DNA são separadas, elas podem ser reconectadas em outra posição, alterando, assim, a ordem de suas bases, sendo esse um dos processos básicos da mutação, podendo resultar em danos no DNA passíveis de desencadear a oncogênese. No caso de uma enzima que tenha seus

aminoácidos alterados, essa pode perder sua atividade ou, ainda, assumir atividade diferente. Já as membranas celulares e intracelulares possuem grandes quantidades de ácidos graxos poliinsaturados, e a oxidação deles, interfere no transporte ativo e passivo normal através da membrana, ou ocasiona a sua ruptura, levando à morte celular. No caso da oxidação de lipídios no sangue, ocorre a agressão das paredes das artérias e veias, facilitando o acúmulo desses lipídios, com conseqüente aterosclerose, podendo causar trombose, infarto ou acidente vascular cerebral. Os radicais livres podem atacar também as células na parte superficial da epiderme, degradando os fibroblastos da derme, podendo lesar a cadeia de DNA, proteínas, carboidratos, lipídios e as membranas celulares na parte mais profunda da epiderme, podendo induzir até mesmo a formação de câncer nos casos mais graves. As proteções conhecidas do organismo contra as ERO e ERN (espécies reativas de nitrogênio) abrangem a proteção enzimática ou por micromoléculas, que podem ter origem no próprio organismo ou serem adquiridas por meio de dieta (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007; ROVER JÚNIOR et al., 2001).

O organismo humano sofre constantemente ação de radicais livres provenientes de disfunção biológica, alimentos ou processos inflamatórios. Além disso, há fatores de diversas ordens associados ao estresse redox, como hábitos de vida inapropriados (consumo de bebida alcoólica, tabagismo, dieta inadequada, consumo de aditivos químicos, exercícios físicos intensos e exposição à radiação não ionizante ultravioleta e outras ondas curtas), condições ambientais impróprias, como temperatura elevada e poluição ambiental, domiciliar e ocupacional, utilização de defensivos agrícolas, envelhecimento e estados psicológicos que provoquem estresse emocional, além de patologias crônicas, como: *diabetes mellitus*, hipertensão arterial, alguns tipos de câncer, entre outras e patologias degenerativas, como: mal de Alzheimer e mal de

Parkinson (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007; OLIVEIRA et al., 2009).

O estresse oxidativo ocorre como um desequilíbrio entre o balanço pró-oxidante e antioxidante, em favor da situação pró-oxidante, promovendo um dano potencial. Pode ser definido como o desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre, entre outras, e a remoção delas pelos sistemas químicos e enzimáticos de defesa antioxidante e, também, pelo reparo enzimático das biomoléculas lesadas. As espécies reativas mais estudadas nos sistemas biológicos incluem as ERO, as ERN, os radicais derivados de tióis (RS^{\bullet}), as espécies reativas de cloro, aquelas reativas de carbono e complexos de metais de transição, principalmente ferro, cobre, manganês e cromo. Outros íons metálicos, sem atividade redox direta, também podem afetar o balanço oxidativo, como os íons de metais pesados (chumbo e cádmio) e trivalentes (bismuto, alumínio), que são capazes de se ligar fortemente aos grupos fosfatos dos fosfolípidios de membranas celulares, diminuindo sua fluidez e, conseqüentemente, aumentando sua permeabilidade. Na medida em que íons divalentes (magnésio, cálcio, zinco) são cofatores de proteínas e enzimas envolvidas no processo redox celular, eles também podem afetar o balanço oxidativo (MORAIS et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2009).

As principais ERO são hidroxila (HO^{\bullet}), superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peroxila (ROO^{\bullet}) e alcoxila (RO^{\bullet}); oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso. Entre as ERN, destacam-se o óxido nítrico (NO^{\bullet}), óxido nítrico (N_2O_3), ácido nítrico (HNO_2), nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-) e peroxinitritos ($ONOO^-$). O radical HO^{\bullet} é o mais deletério ao organismo, pois possui meia vida muito curta, dificilmente sendo sequestrado *in vivo*, e, esses, geralmente, atacam as moléculas por abstração de hidrogênio e por adição a insaturações (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

As ERO causam danos ao DNA ou podem oxidar lipídios e proteínas, atacando as cadeias de ácidos graxos poliinsaturados dos fosfolipídios e do colesterol, abstraindo um hidrogênio do grupo metileno *bis*-alílico, iniciando, assim, o processo de peroxidação lipídica nas membranas celulares. Os radicais de carbono formados podem reagir com oxigênio, originando radicais peroxila que, por sua vez, podem atacar novas cadeias de ácidos graxos poliinsaturados, propagando a reação e, como resultado, ocorre oxidação de várias moléculas de ácidos graxos. Os hidroperóxidos formados na peroxidação lipídica têm vida curta e, quando reagem com metais, formam aldeídos, como o malonaldeído, acroleína, crotonaldeído e epóxidos, que são reativos e causam novamente danos ao DNA (SOUSA et al., 2007).

2.3 Oxidação lipídica

O tipo de oxidação mais comum é a lipídica, podendo ocorrer em óleos e gorduras, a qual não pode ser completamente evitada ou paralisada, podendo ser reduzida de modo que se obtenha aumento significativo de sua estabilidade e da vida útil do produto final. Assim, no processo de oxidação lipídica, óleos e gorduras sob efeito de catalisadores são transformados em radicais livres que, por ação do oxigênio, são convertidos em peróxidos e hidroperóxidos, gerando produtos decompostos, com conseqüente rancidez (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

A oxidação de lipídios ocorre em armazenamento de materiais *in natura*, processados, tratados com calor e, em produtos finais, é um dos processos básicos causadores da deterioração de produtos alimentícios, cosméticos, preparações farmacêuticas, combustíveis, entre outros. Nos alimentos, a oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, tornando os alimentos impróprios para consumo, além de

provocar outras alterações que afetam não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, pela formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos. A aplicação de antioxidantes sintéticos e naturais é um dos modos mais simples de reduzir a oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006; TOMAINO et al., 2005; TEPE et al., 2005).

Os lipídios são constituídos por uma mistura de tri, di e monoacilgliceróis, ácidos graxos livres, glicolipídios, fosfolipídios, esteróis, entre outras. A maioria deles é oxidável em diferentes graus, sendo os ácidos graxos insaturados as estruturas mais susceptíveis à oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os fenômenos de oxidação dos lipídios são dependentes de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, que estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio onde ele se encontra. O número e a natureza das insaturações presentes, o tipo de interface entre os lipídios e o oxigênio, como fase lipídica contínua, dispersa ou em emulsão, a exposição à luz e ao calor, a presença de substâncias pró-oxidantes, como íons metálicos de transição e, sobretudo, a presença de antioxidantes, são fatores que influenciam a estabilidade oxidativa dos lipídios (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

Óleos e gorduras podem ser oxidados principalmente por autooxidação. Segundo Ramalho e Jorge (2006), óleos e gorduras podem ser oxidados por diferentes reações, como hidrólise, oxidação enzimática, fotooxidação e, principalmente, por autooxidação. Essa última está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em etapas de acordo com a Figura 7.

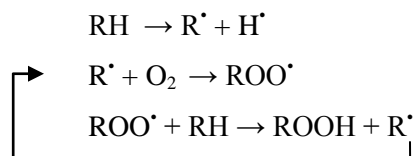


Figura 7 Reação de Autoxidação

RH – Ácido graxo insaturado; R[•] - Radical livre; ROO[•] - Radical peróxido e ROOH – Hidroperóxido

Para evitar a autoxidação de óleos e gorduras, há necessidade de diminuir a incidência de todos os fatores que a favorecem, como manter ao abrigo de luz e calor, evitar presença de traços de metais no óleo e contato com oxigênio e adicionar antioxidantes, para impedir a formação de radicais livres. A eficiência relativa de antioxidantes lipofílicos ou hidrofílicos depende do substrato lipídico, estado físico, concentração do antioxidante, tempo de oxidação e temperatura, método analítico usado para determinar a extensão do ponto final de oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006; TOMAINO et al., 2005).

2.4 Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato e, após a reação, transformam em radicais não reativos para propagação das reações em cadeia, impedindo danos severos. São compostos que minimizam a oxidação dos componentes lipídicos em células de membrana ou inibem os compostos orgânicos voláteis e hidroperóxidos de dienos conjugados, decorrentes da oxidação do ácido linoleico, que são conhecidos por serem carcinogênicos (CHORILLI LEONARDI; SALGADO, 2007; SOUSA et al., 2007; TEPE et al., 2005).

Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células. Isoladamente, nenhum antioxidante reúne todas as características de um bom antioxidante, como ser um composto biológico naturalmente presente em tecidos animais; ser ativo na proteção de moléculas de proteínas e lipídios; ter boa biodisponibilidade, após administração oral e parenteral; ter meia vida longa; ser ativo no espaço intra e extracelular e ser capaz de cruzar a membrana celular intacto (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; OLIVEIRA et al., 2009; SOUSA et al., 2007).

A concentração de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena ou exógena, como os que provêm de dieta e outras fontes. Entre os antioxidantes enzimáticos, destacam-se as superóxido dismutases, consideradas como a linha de frente de defesa antioxidante, embora possam exibir atividade peroxidásica, na presença de excesso de H_2O_2 (peróxido de hidrogênio); destacam-se também a catalase e as glutionas peroxidases, encarregadas de reduzir peróxidos geradores de radicais $\cdot OH$ e $\cdot OR$, respectivamente. Quanto aos antioxidantes de baixo peso molecular, devem-se incluir algumas vitaminas (C, E e A), produtos naturais (OE, carotenoides, flavonoides, outros polifenóis, furanoides e tióis) e produtos sintéticos (Ebselen, *N*-acetilcisteína, Trolox, BHA, BHT e ácido ascórbico). Outro interesse ligado aos antioxidantes é a sua aplicação na indústria, para a proteção de cosméticos, fármacos e alimentos, prevenindo a sua decomposição oxidativa pela ação da luz, temperatura e umidade (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; OLIVEIRA et al., 2009; SOUSA et al., 2007).

2.4.1 Classificação de antioxidantes

Para Ramalho e Jorge (2006), os antioxidantes podem ser classificados como:

a) antioxidantes primários: compostos fenólicos que doam átomos de hidrogênio aos radicais livres formados durante a iniciação ou propagação da reação, removendo-os ou inativando-os, interrompendo a reação em cadeia. Assim, os radicais livres $R\cdot$ e $ROO\cdot$ removem o átomo de hidrogênio ativo do antioxidante com mais facilidade que os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas, com conseqüente formação de espécies inativas para propagar reações em cadeia e um radical inerte ($A\cdot$), proveniente do antioxidante, que é estabilizado por ressonância, não tendo capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas. Como exemplos desse grupo, destacam-se os polifenóis, como BHA, BHT, TBHQ (*tert*-butil-hidroquinona) e GP (galato de propila), que são sintéticos, e tocoferóis, que são naturais;

b) antioxidantes sinergistas: têm pouca ou nenhuma atividade antioxidante, podendo aumentar a atividade dos antioxidantes primários quando usados em associação com eles, podendo atuar sinergisticamente;

c) antioxidantes removedores de oxigênio: atuam capturando o oxigênio presente no meio, por meio de reações químicas estáveis, tornando-os indisponíveis para atuarem como propagadores da autoxidação. Como exemplos, citam-se o ácido ascórbico, seus isômeros e seus derivados; o ácido ascórbico pode atuar também como sinergista na regeneração de antioxidantes primários;

d) antioxidantes biológicos: podem remover oxigênio ou compostos altamente reativos de um sistema alimentício, no qual podem ser incluídas várias enzimas, como glicose oxidase, superóxido dismutase e catalases;

e) antioxidantes quelantes/sequestrantes: complexam íons metálicos, (principalmente cobre e ferro), que catalisam a oxidação lipídica, em que um par

de elétrons não compartilhado na sua estrutura molecular promove essa ação de complexação. Nessa classe, destacam-se o ácido cítrico e seus sais, fosfatos e sais de EDTA (ácido etileno diamino tetra acético);

f) antioxidantes mistos: incluem compostos provenientes de plantas e animais, como proteínas hidrolisadas, flavonoides e derivados dos terpenoides e dos fenilpropanoides, que têm sido amplamente pesquisados como antioxidantes em alimentos.

Os antioxidantes podem ser ainda classificados quanto à afinidade química, em lipofílicos e hidrofílicos. Os lipofílicos são os que apresentam maior afinidade pela fase oleosa (tocoferóis, BHA, BHT, GP e ácido ascórbico), enquanto os hidrofílicos apresentam maior afinidade pela fase aquosa (combinações inorgânicas contendo enxofre, combinações orgânicas sulfuradas e ácido ascórbico (CHORILLI LEONARDI; SALGADO 2007).

2.4.2 Mecanismos de ação dos antioxidantes

Segundo Bianchi et al. (1999), os antioxidantes atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos, impedindo a formação de radicais livres, como ocorre principalmente pela inibição das reações em cadeia com o ferro e o cobre; na interceptação dos radicais livres, impedindo o ataque sobre lipídios, aminoácidos das proteínas, as duplas ligações dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e a perda da integridade celular (vitaminas C, E e A, flavonoides e carotenoides). Podem também influenciar na reparação das lesões causadas pelos radicais (removendo danos da molécula de DNA e reconstituindo as membranas celulares danificadas); e ainda aumentar a síntese de enzimas antioxidantes (em virtude de uma adaptação do organismo em resposta à geração desses radicais).

2.4.3 Antioxidantes em alimentos

A prevenção da oxidação de alimentos pode ser realizada pela adoção de algumas medidas, como aplicação de boas práticas de manipulação e técnicas corretas de preparação de alimentos, utilização de materiais apropriados e a seleção e aplicação correta de antioxidantes efetivos, que são adicionados aos alimentos com o objetivo de inibir ou retardar os processos oxidativos, responsáveis por alterações na cor, sabor, textura e valor nutricional de alimentos (CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007).

Como processo oxidativo em alimentos, destaca-se a deterioração de óleos e gorduras e alimentos gordurosos, responsável por alterações químicas, muitas delas relacionadas à oxidação lipídica, com consequentes perdas nutricionais e de qualidade, e também geração de compostos indesejáveis, que podem ser potencialmente prejudiciais à saúde humana, com decréscimo da qualidade e segurança nutricionais. Os óleos, gorduras e alimentos gordurosos normalmente são acrescidos de antioxidantes capazes de retardar ou inibir a oxidação do substrato quando submetidos a altas temperaturas e, eventualmente, prolongar a vida de prateleira de alimentos fritos, além de outros fatores que induzem às alterações químicas geradas pela temperatura e o tempo necessários para produção de alimentos processados, além das condições de transporte e de armazenamento (ANDREO; JORGE, 2006; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Para minimizar os problemas decorrentes da oxidação de alimentos, a indústria vem utilizando principalmente antioxidantes sintéticos que, em sua maioria, apresentam problemas de solubilidade, alguns provocam sabores estranhos e outros são altamente tóxicos, o que limita seu emprego em alimentos ou material de embalagem, conforme legislação em vigor. Assim, das centenas de compostos que têm sido propostos como possíveis antioxidantes para

alimentos destinados ao consumo humano, somente alguns podem ser utilizados, e, além disso, na escolha de um antioxidante, devem ser considerados também outros fatores, como a legislação, custo e preferência do consumidor por antioxidantes naturais. Por esses motivos, atualmente, tem-se enfatizado a pesquisa de possíveis antioxidantes presentes em produtos naturais, com destaque para as especiarias, mundialmente utilizadas para fins culinários (GUERRA; LAJOLO, 2005; RAMALHO; JORGE, 2006).

Pesquisas em relação às propriedades dos antioxidantes demonstram ser desejável que eles sejam eficientes em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); possuam ausência reconhecida de toxicidade; apresentem neutralidade organoléptica, não provocando efeitos indesejáveis na cor, odor, sabor e outras características do alimento; sejam compatíveis com o alimento e com fácil aplicação; apresentem estabilidade nas condições de processo, sendo resistentes aos tratamentos e armazenamento; possuam termo-resistência (o composto antioxidante e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento); além de serem lipossolúveis, ativos em baixas temperaturas e economicamente viáveis (ANDREO; JORGE, 2006; CHORILLI; LEONARDI; SALGADO, 2007; RAMALHO; JORGE, 2006).

2.4.3.1 Antioxidantes sintéticos

Na indústria alimentícia, a oxidação lipídica é inibida por sequestradores de radicais livres e, entre os compostos mais utilizados com essa finalidade, estão o BHA, BHT, GP e TBHQ (SOUSA et al., 2007).

A estrutura fenólica desses compostos antioxidantes permite a doação de um próton a um radical livre, regenerando, assim, o radical e interrompendo o mecanismo de oxidação por radicais livres. Dessa maneira, os derivados

fenólicos transformam-se em radicais livres; entretanto, esses radicais não são reativos e podem se estabilizar por ressonância, sem promover ou propagar reações de oxidação em cadeia (RAMALHO; JORGE, 2006).

Ramalho e Jorge (2006) destacaram características e aplicações de alguns antioxidantes sintéticos, como:

a) BHA (Figura 8a): é um antioxidante efetivo na supressão da oxidação em gorduras animais e sua eficiência é limitada em óleos insaturados de vegetais ou sementes. Apresenta pouca estabilidade diante de elevadas temperaturas, mas é particularmente efetivo no controle de oxidação de ácidos graxos de cadeia curta.

b) BHT (Figura 8b): apresenta propriedades semelhantes ao BHA, podendo conferir odor em alimentos, quando aplicados em altas temperaturas em condição de fritura, por longo período. Quanto ao sinergismo, o BHA é um sinergista para galato de propila, e o BHT não é, enquanto o BHA e o BHT são sinergistas entre si. O BHA age como sequestrante de radicais peróxidos, enquanto o BHT age como sinergista ou regenerador de radicais BHA.

c) GP (Figura 8c): é um éster do 3,4,5-ácido triidroxibenzoico, que se complexa com íons de cobre e ferro e possui uma concentração ótima de atividade como antioxidante. Quando usado em níveis elevados, pode atuar como pró-oxidante, mas sua habilidade para estabilizar alimentos fritos, massas assadas e biscoitos preparados com gorduras é baixa.

d) TBHQ (Figura 8d): é um pó cristalino branco e brilhoso, moderadamente solúvel em óleos e gorduras, sendo considerado, em geral, mais eficaz em óleos vegetais que BHA ou BH; é tão efetivo quanto o BHA e mais efetivo que o BHT ou o GP em relação à gordura animal. É resistente ao calor e proporciona uma excelente estabilidade para os produtos acabados, sendo considerado como o melhor antioxidante para óleos de fritura. Por meio desses

estudos, infere-se que o ácido cítrico e TBHQ apresentam excelente sinergia em óleos vegetais (RAMALHO; JORGE, 2006).

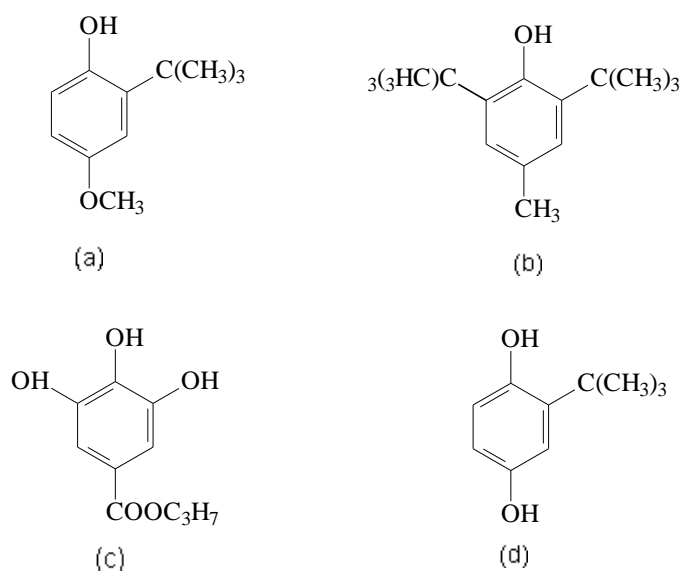


Figura 8 Estruturas químicas do (a) BHA, (b) BHT, (c) GP e (d) TBHQ

Em razão dos indícios dos riscos potenciais dos antioxidantes sintéticos sobre a saúde, autoridades governamentais e consumidores estão voltados para questões relacionadas à segurança alimentar e aos efeitos nocivos potenciais dos antioxidantes sintéticos na saúde. Assim, pesquisas estão voltadas para a procura de compostos naturais que exibam essa propriedade funcional de antioxidação, atuando sozinhos ou sinergisticamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e reduzir o uso dos antioxidantes sintéticos (LUZIA; JORGE, 2009; RAMALHO; JORGE, 2006; WANG et al., 2008).

2.4.3.2 Antioxidantes naturais

A utilização de antioxidantes provenientes de fontes naturais pode apresentar vantagens devido a implicações na área de saúde, pois os consumidores estão buscando cada vez mais alimentos ou aditivos considerados naturais, e na funcionalidade, como, por exemplo, a maior solubilidade dos antioxidantes naturais tanto em água como em óleo, é importante na preparação de emulsões e outras formulações, como os hidrogéis. Há também vantagem em nível preservacionista, decorrente do aproveitamento dos resíduos das indústrias alimentícias, com destinação adequada desse resíduo gerado, o que favorece o homem e o meio ambiente. Como exemplo, destaca-se a indústria de sucos e doces de frutas, que geram grande quantidade de sementes, cascas e bagaços, que poderiam ser reaproveitadas como possíveis fontes de antioxidantes naturais, em vez de serem desperdiçadas (OLIVEIRA et al., 2009; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Há grande interesse em ervas e especiarias como fontes naturais de antioxidantes, destacando-se aquelas que são usadas há muitos anos para realçar as características sensoriais dos alimentos, aumentando e/ou acrescentando sabor ao alimento, e, secundariamente, com finalidade de conservação, devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (MORAIS et al., 2009; TOMAINO et al., 2005).

Nos últimos anos, numerosos pesquisadores têm descrito antioxidantes e compostos com atividade sequestradora de radicais presentes em frutas, vegetais, ervas e extratos de cereais. Entre os antioxidantes naturais mais utilizados, podem ser citados tocoferóis, compostos fenólicos, extratos de plantas e OE (RAMALHO; JORGE, 2006; WANG et al., 2008).

O tocoferol apresenta intensa atividade antioxidante, sendo amplamente aplicado em óleos e gorduras comestíveis, prevenindo a oxidação dos ácidos

graxos insaturados. A legislação brasileira permite a adição de 300 mg/kg de tocoferóis em óleos e gorduras, com o objetivo de prevenir a oxidação (RAMALHO; JORGE, 2006).

Os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante apreciável devido às suas propriedades de oxirredução, já que eles agem como agentes redutores, doadores de hidrogênio. O efeito antioxidante das folhas aromáticas é atribuído à presença de grupamentos hidroxilas em seus compostos fenólicos e, entre as classes de compostos químicos com essa atividade, podem-se destacar os polifenóis, flavonoides, taninos e OE (MORAIS et al., 2009).

2.5 Metodologias empregadas na avaliação da atividade antioxidante

A eficiência antioxidante de compostos depende de sua estrutura e concentração, além de ser influenciada pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração utilizada, bem como pelo binômio tempo-temperatura. Além disso, a quantidade desses compostos nos vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos. Além da diversidade de métodos para avaliar a capacidade antioxidante, não existe um procedimento metodológico universal; assim, as metodologias utilizadas devem ser validadas e padronizadas. Esse fato impõe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por diferentes ensaios, com fundamentos e mecanismos de ação diferentes (OLIVEIRA et al., 2009).

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, permitindo uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente eficientes na atividade antioxidante, e entre esses métodos, destacam-se o sistema de cooxidação do β -caroteno/ácido linoleico e o

método de sequestro de radicais livres, tais como DPPH[•] (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

2.5.1 Ensaio do sequestro do radical DPPH

O método consiste em avaliar a atividade sequestradora do DPPH[•], que é um radical estável, de coloração púrpura e absorve em um comprimento de onda de 517 nm, que em presença de antioxidantes doadores de hidrogênio, é reduzido, formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela, com consequente desaparecimento da banda de absorção, sendo essa monitorada pelo decréscimo da absorbância. O desaparecimento da coloração e resultante descoloração é estequiometricamente proporcional ao grau de redução, e o DPPH restante, medido depois de certo tempo, é inversamente proporcional à atividade de captura do radical pelo antioxidante (OLIVEIRA et al., 2009; KULISIC et al., 2004; SOUSA et al., 2007).

Ao adicionar substâncias com atividade antioxidante, estas reduzem o DPPH e a solução torna-se amarelada. Os antioxidantes doam H radical para o radical DPPH, estabilizando-o e, em seguida, tornam-se radicais, que são facilmente estabilizados por ressonância (exemplo de reação na Figura 9). Na ausência de atividade antioxidante, não há descoloramento ou redução da solução com radical DPPH. Assim, quanto maior atividade antioxidante, maior descoloramento da solução.

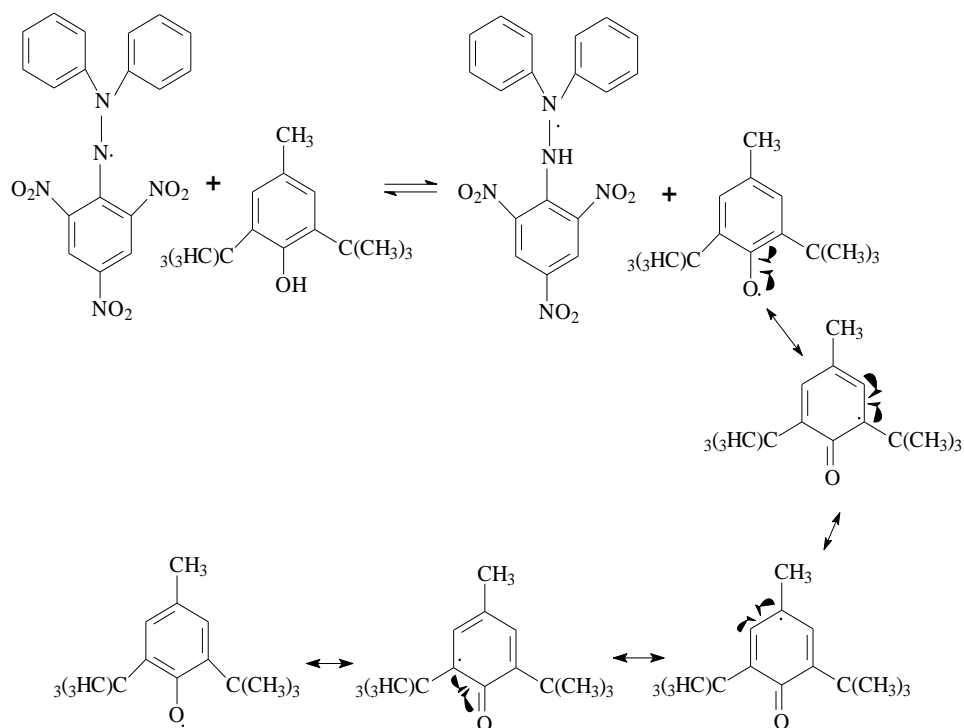


Figura 9 Reação química entre BHT e radical DPPH

Como vantagens, o método do DPPH é mais rápido que o método do β -caroteno, pode ser útil na investigação de vários antioxidantes para rápida estimativa, gera informação preliminar da habilidade de captura de radicais, tem boa sensibilidade, requer pequenas quantidades de amostra e permite testar substâncias lipofílicas e hidrofílicas (KULISIC et al., 2004).

2.5.2 Ensaio da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Este ensaio avalia a capacidade de antioxidantes em inibir os radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico, protegendo um substrato da oxidação. É baseado na descoloração (oxidação) do β -caroteno,

devido à sua reação com radicais formados pela oxidação do ácido linoleico na emulsão (Figura 10). Em presença de antioxidantes, a proporção do branqueamento do β -caroteno pode diminuir; esse fato é usado na avaliação da atividade antioxidante dos OE, em comparação com antioxidantes naturais e sintéticos bem conhecidos, como BHT, BHA e ácido ascórbico (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006; KULISIC et al., 2004).

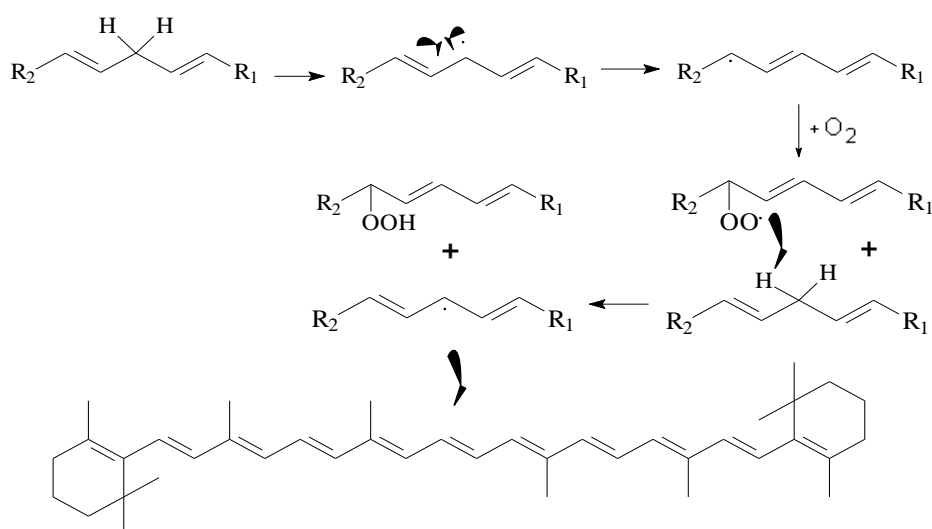


Figura 10 Reação de oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

O método do branqueamento do β -caroteno pode ser útil, especialmente para investigações de antioxidantes lipofílicos e apropriados para a investigação das propriedades antioxidantes de OE (KULISIC et al., 2004).

Ao adicionar à emulsão (contendo ácido linoleico, clorofórmio, β -caroteno e Tween) água previamente oxigenada, ocorre formação de radicais pela peroxidação do ácido linoleico. Esses radicais atacam o β -caroteno (inicialmente laranja), descolorando-o. Com a adição de OE, que possuem

constituintes com atividade antioxidante, estes impedem a formação de radicais livres do ácido linoleico, diminuindo o ataque ao β -caroteno, mantendo a coloração amarelada da solução. Na ausência da atividade antioxidante, esses radicais atacam o β -caroteno, branqueando-o, e a solução torna-se transparente. Assim, quanto maior atividade antioxidante, menor descolorimento e mais amarela se mantém a solução.

2.6 Plantas utilizadas

2.6.1 Tomilho

O tomilho, *Thymus vulgaris* L. (Figura 11), pertencente à família Lamiaceae, é um subarbusto nativo da região Mediterrânea Ocidental da Europa, com grande tradição de várias utilizações, dentre as quais se destacam aplicações em preparações fitofarmacêuticas, como expectorante e espasmolítico para os brônquios; na medicina popular, é usado em chás de ervas e infusões, podendo ser utilizado também como conservante em alimentos e como ingrediente de vários pratos como condimentos. Vários compostos com propriedades antioxidantes têm sido encontrados no tomilho, entre os quais se incluem componentes dos OE, ácidos fenólicos e flavonoides. A respeito dos OE do tomilho, vários quimiotipos têm sido descritos, baseados nos componentes majoritários do óleo e sua biossíntese. Entre os componentes, incluem-se geraniol, linalol, α -terpineol, hidrato de sabineno, 1,8-cineol, carvacrol e timol (CHIZZOLA; MICHITSCH; FRANZ, 2008).



Figura 11 Aspecto geral da espécie *Thymus vulgaris* L.

2.6.2 Capim-limão

Cymbopogon citratus (Figura 12), conhecido popularmente como capim-limão, capim-cidreira e erva-cidreira, é uma planta pertencente à família Poaceae, cultivada para produção comercial de OE, conhecido internacionalmente como óleo de *Lemongrass*. Ele possui forte odor de limão e é largamente empregado como aromatizante em perfumaria e cosmética; entretanto, seu maior emprego tem sido na indústria farmacêutica. Em sua composição química, pode-se destacar o citral e o mirceno como seus compostos majoritários, em que o citral é constituído pela mistura isomérica de geranial e neral; além desses, outros aldeídos, como o citronelal, isovaleraldeído e decilaldeído, também podem ser encontrados, além de cetonas e álcoois, como geraniol, nerol, metil heptenol e farnesol (GUIMARÃES et al, 2008).



Figura 12 Aspecto geral da espécie *Cymbopogon citratus*

2.6.3 Alfavaca

A alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) (Figura 13) pertence ao gênero *Ocimum* e à família Lamiaceae. É uma planta robusta que cresce naturalmente em muitas regiões tropicais do mundo. Existem dois tipos importantes de *Ocimum gratissimum* L.: um que se caracteriza pelo alto teor de timol, sendo encontrado em plantas no oeste da África e na África Central e o outro quimiotipo de alfavaca, que é rico em eugenol e pode ser encontrado em vegetais provenientes do Brasil, Taiti e Indonésia (PEREIRA; MAIA, 2007).

No Brasil, alguns experimentos com cultivares seletivas têm resultado em bons rendimentos de OE das folhas de alfavaca com aproximadamente 80% de eugenol. Esse óleo possui coloração que vai de amarelo-amarronzado a o amarelo-pálido, possuindo cheiro forte e aromático, com reminiscência de cheiro de óleo de cravo. O eugenol é reconhecido pela Food and Drug Administration

(FDA) como seguro quando usado em alimentos em concentrações de até 1.500 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Em alimentos, é utilizado basicamente como flavorizante, mas aplica-se também como repelente de insetos e em preparações farmacêuticas (PEREIRA; MAIA, 2007).



Figura 13 Aspecto geral da espécie *Ocimum gratissimum* L.

2.6.4 Manjerição

As plantas do *Ocimum basilicum* L. (Figura 14) são conhecidas popularmente como manjerição e pertencem à família Lamiaceae. Apresentam atividades farmacológicas, como estimulante digestivo, antiespasmódico, antisséptico e béquico. São amplamente empregadas no preparo de fitoterápicos e pela indústria alimentícia. Entre seus constituintes químicos, destacam-se os OE, taninos, saponinas, flavonoides, ácido cafeico e esculosídeo (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007; SOARES et al., 2007).

No Brasil, são cultivados principalmente por pequenos produtores rurais para a comercialização da planta como condimento. Além do uso *in natura*, as folhas de manjeriço são empregadas na obtenção de OE, que é muito utilizado na perfumaria e na aromatização de alimentos e bebidas. As espécies mais conhecidas apresentam como constituintes majoritários de seu óleo essencial o metil chavicol, eugenol, linalol, 1,8-cineol, cinamato de metila, geraniol e timol. Os OE de manjeriço também apresentam propriedades inseticidas, repelentes, antioxidantes e antibacterianas (FERNANDES et al., 2004; SOARES et al., 2007).



Figura 14 Aspecto geral da espécie *Ocimum basilicum* L.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Química Orgânica, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Lavras e foi realizada nas etapas descritas a seguir:

3.1 Triagem da atividade antioxidante de óleos essenciais em CCD

Para a escolha das plantas fornecedoras dos OE a serem estudadas, realizou-se a triagem da atividade antioxidante com vários OE extraídos e armazenados no Laboratório de Química Orgânica (DQI/UFLA). Esses OE foram obtidos das plantas variadas, partes diversas de mesma planta, ou mesmo de plantas submetidas a diferentes condições de secagem. A extração dos OE foi feita pela metodologia da hidrodestilação, com utilização de aparelho de Clevenger modificado.

A atividade antioxidante dos OE foi determinada pelo teste com radical DPPH em CCD, de acordo com metodologia descrita por Tepe et al. (2005). As plantas utilizadas para os testes foram: folhas de capim-limão (*Cymbopogon citratus*, Família: Poaceae), folhas de manjeriço fresco (*Ocimum basilicum* L., Família: Lamiaceae), folhas de manjeriço seco (*Ocimum basilicum* L., Família: Lamiaceae), folhas de limão (*Citrus aurantifolia*, Swingle var. taiti, Família: Rutaceae), casca de limão (*Citrus aurantifolia*, Swingle var. taiti, Família: Rutaceae), folhas de tomilho (*Thymus vulgaris* L., Família: Lamiaceae), folhas de pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C., Família: Piperaceae), cascas de canela-da-índia fresca (*Cinnamomum zeylanicum*, Família: Lauraceae), cascas de canela-da-índia seca (*Cinnamomum zeylanicum*, Família: Lauraceae), folhas de capim-citronela (*Cymbopogon nardus*, Família: Poaceae), casca de laranja seca (*Citrus sinensis* L. Osbeck, Família: Rutaceae), casca de laranja fresca

(*Citrus sinensis* L. Osbeck, Família: Rutaceae), folhas de sálvia (*Salvia officinalis* L., Família: Lamiaceae) e folhas de orégano (*Origanum vulgare*, Família: Lamiaceae).

Os OE foram diluídos em metanol (1:10), em que 5 µL de cada OE foi aplicado em placas de CCD, utilizando-se como fase móvel a mistura binária de metanol-acetato de etila (1:1). Após a corrida cromatográfica, as placas foram borrifadas com solução de DPPH a 0,2% em metanol e deixadas em temperatura ambiente por 30 minutos, para posterior análise qualitativa de sua atividade antioxidante.

Após o período de 30 minutos, os OE com possível atividade antioxidante geraram manchas amarelas sob fundo de coloração púrpura, ao passo que os OE sem atividade antioxidante expressiva mantiveram a coloração arroxeada da solução de DPPH.

Assim, foram selecionados como possíveis fontes de OE com atividade antioxidante, para as etapas posteriores deste estudo, folhas de tomilho (*Thymus vulgaris* L., Família: Lamiaceae), manjericão (*Ocimum basilicum* L., Família: Lamiaceae), alfavaca (*Ocimum gratissimum* L., Família: Lamiaceae) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*, Família: Poaceae).

A inclusão dos OE de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão do eugenol, seu constituinte majoritário, nas etapas posteriores deste estudo, deveu-se à apreciável atividade antioxidante apresentada por OE e extratos de folhas frescas de alfavaca nos estudos realizados por Pereira e Maia (2007).

3.2 Coleta e preparação das espécies vegetais

As espécies vegetais selecionadas foram coletadas no município de Lavras/MG, no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras.

A cidade de Lavras localiza-se no sul do estado de Minas Gerais (Brasil), 21°14'S, longitude 45°00'W Gr. e 918 metros de altitude.

Os vegetais foram coletados no período da manhã (entre 7h30 e 9 horas), de dias quentes, típicos de verão, nas respectivas datas: 2, 3, 4 e 9 de fevereiro de 2010. Foram coletadas folhas saudias, homogêneas e aparentemente perfeitas das referidas plantas.

As folhas coletadas foram limpas delicadamente com papel-toalha e, posteriormente, picadas e pesadas, sendo uma parte imediatamente utilizada para extração de OE e a outra levada à estufa ventilada a 35°C por sete dias, para obtenção de material seco, para posterior extração de OE. Essa secagem em estufa foi realizada em folhas de capim-limão e alfavaca, ao passo que para manjerição e tomilho, as folhas secas foram adquiridas no comércio do Mercado Municipal de Belo Horizonte, em razão da pouca quantidade de plantas disponíveis no Horto.

3.3 Extração dos óleos essenciais

O método empregado para a extração do OE das folhas frescas e secas foi a hidrodestilação, conforme metodologia descrita por Guimarães et al. (2008), utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado adaptado a um balão de fundo redondo com capacidade de 4 litros.

Individualmente, as folhas frescas e secas de *Thymus vulgaris* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum gratissimum* L. e *Cymbopogon citratus* foram recobertas com água dentro do balão, o qual foi colocado sobre uma manta aquecedora. A extração do OE foi realizada por um período de 2 horas, mantendo a solução em ebulição. Em seguida, o hidrolato obtido foi centrifugado em centrífuga de cruzeta horizontal (Fanem Baby®I Modelo 206 BL) a 965,36 G por 10 minutos. Após centrifugação, o OE foi retirado com o

auxílio de uma micropipeta de Pasteur e acondicionado em frasco de vidro âmbar. Para eliminar qualquer resquício de água, o frasco foi levado a uma pistola de secagem por 10 minutos.

Posteriormente, o OE foi armazenado sob refrigeração em frasco totalmente vedado, em ambiente escuro, com o objetivo de evitar degradações, com conseqüente perda de qualidade e alteração da composição química.

Foram realizadas três extrações de OE para cada espécie vegetal analisada (material vegetal fresco e seco).

O rendimento da extração de OE (%) de folhas frescas foi calculado em p/p em base livre de umidade (BLU).

3.4 Determinação do teor de umidade das plantas frescas e do rendimento das extrações de óleos essenciais

O teste para determinação do teor de umidade das folhas frescas foi realizado paralelamente à extração dos OE, de acordo com método descrito por Pimentel et al. (2006). Em um balão volumétrico com capacidade de 250 mL, acoplado a um condensador com coletor volumetricamente graduado, foram colocados 5 g de folhas frescas picadas dos referidos vegetais em 70 mL de ciclohexano. Aqueceu-se em manta aquecedora por 2 horas, medindo-se o volume de água, após esse período.

O teor de umidade, em triplicata, foi realizado a partir da medida do volume de água presente em 100 g de amostra.

3.5 Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais

A análise qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos dos OE foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC/MS), na Universidade Federal de Sergipe, utilizando-se o aparelho Shimadzu GC-17 A, com detector seletivo de massa modelo QP 5000, sob as seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5 (0,25 µm de espessura de filme); temperatura do injetor: 220°C; programação da coluna com temperatura inicial: 40°C, sendo acrescidos 3°C a cada minuto, até atingir 240°C; gás carreador hélio (1 mL/min); taxa de split 1:10; volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão inicial na coluna de 100,2 KPa. As condições do espectrômetro de massas foram: energia de impacto 70 eV; velocidade de decomposição: 1000; intervalo de decomposição: condições das amostras, uma mistura de hidrocarbonetos (C₉H₂₀; C₁₀H₂₂; C₁₁H₂₄;... C₂₄H₅₀; C₂₅H₅₂; C₂₆H₅₄).

A identificação dos constituintes foi realizada comparando-se os espectros de massas obtidos com os espectros existentes no banco de dados da biblioteca Wiley 229 e pelo índice de Kovats calculado para cada constituinte de acordo com Adams (2007). A quantificação de cada constituinte foi obtida por meio de normalização de áreas (%).

3.6 Atividade antioxidante dos óleos essenciais

Realizou-se a atividade antioxidante em CCD dos OE das folhas frescas e secas das quatro espécies vegetais selecionadas, de seus respectivos constituintes majoritários (timol, linalol, eugenol e citral) e dos antioxidantes sintéticos (BHT, BHA e ácido ascórbico), sendo determinadas quantitativamente

por dois sistemas de testes complementares: o ensaio com radical DPPH e o teste de branqueamento do β -caroteno.

3.6.1 Análise qualitativa da atividade antioxidante dos óleos essenciais em CCD

A metodologia empregada para análise qualitativa da atividade antioxidante dos referidos OE em CCD foi realizada de acordo com Tepe et al. (2005), conforme descrito no item 3.1. Os testes foram realizados em triplicata em diferentes placas e corridas cromatográficas.

3.6.2 Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo consumo do radical livre DPPH

A avaliação quantitativa da atividade antioxidante pelo sequestro dos radicais DPPH foi realizada de acordo com metodologia descrita por Sousa et al. (2007). Essa verificação do monitoramento do consumo do radical livre DPPH pelas amostras foi realizada pela medida do decréscimo da absorbância de soluções de diferentes concentrações, em que as leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis, no comprimento de onda 515 nm.

Foram preparados 50 mL de solução estoque de DPPH em metanol na concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$, mantendo-se essa sob refrigeração e protegida da luz, a partir da qual foram feitas diluições de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e 1 $\mu\text{g/mL}$. A curva analítica foi construída a partir dos valores da absorbância a 515 nm de todas as soluções (1 a 40 $\mu\text{g/mL}$), medidas em cubetas de vidro com percurso óptico de 1 cm e tendo como branco o metanol.

As medidas de absorbância foram efetuadas em triplicata e em intervalos de 1 minuto entre cada leitura. A equação da curva analítica obtida para o ensaio

com DPPH foi $y = 0,026x - 0,0069$, em que x corresponde à concentração de radicais DPPH no meio; y é a absorbância medida no comprimento de onda de 515 nm. O coeficiente de correlação foi de 0,9975. Os antioxidantes BHT, BHA e ácido ascórbico foram utilizados como controles positivos.

Os OE das folhas secas e frescas, padrões dos seus respectivos constituintes majoritários e os controles positivos foram diluídos nas concentrações de 250, 200, 150, 100, 50 e 25 $\mu\text{g/mL}$. As medidas das absorbâncias das misturas reacionais (0,3 mL da solução da amostras e 2,7 mL da solução estoque de DPPH na concentração de 40 $\mu\text{g/mL}$) foram feitas a 515 nm, no 1º, 5º e 10º minutos, a cada 10 minutos, até completar 1 hora. Como branco, utilizaram 2,7 mL de metanol e 0,3 mL da solução metanólica mais concentrada de cada amostra e, como controle, empregaram-se 2,7 mL de solução estoque de DPPH e 0,3 mL de metanol. As análises para cada mistura reacional foram realizadas em triplicata.

A partir da equação da curva analítica e dos valores de absorbância no tempo de 30 minutos para cada concentração testada, foram determinados os percentuais de DPPH remanescentes (% DPPH_{REM}), conforme a equação (1):

$$\% \text{DPPH}_{\text{REM}} = [\text{DPPH}]_{\text{T=t}} / [\text{DPPH}]_{\text{T=0}} \times 100 \quad (1)$$

em que $[\text{DPPH}]_{\text{T=t}}$ corresponde à concentração de DPPH no meio, após a reação com as misturas reacionais, e $[\text{DPPH}]_{\text{T=0}}$ é a concentração inicial de DPPH, ou seja, 40 $\mu\text{g/mL}$).

Os valores de absorbância em todas as concentrações testadas, no tempo de 30 minutos, foram também convertidos em porcentagem de atividade antioxidante (%AA), determinada pela equação (2):

$$\%AA = \{ [Abs_{controle} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})] \times 100 \} / Abs_{controle} \quad (2)$$

em que $Abs_{controle}$ é a absorbância inicial da solução metanólica de DPPH e $Abs_{amostra}$ é a absorbância da mistura reacional (DPPH+amostra).

Para determinação da CI_{50} (concentração de 50% de inibição), isto é, a quantidade de antioxidante necessária para inibir concentração inicial de DPPH em 50%, construiu-se uma curva exponencial de primeira ordem, plotando-se na abscissa as concentrações das amostras ($\mu\text{g/mL}$) ou do controle positivo e, na ordenada, a porcentagem de DPPH remanescente.

3.6.3 Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico

Neste ensaio, a medida da atividade antioxidante foi determinada pela habilidade de compostos orgânicos voláteis de inibir a formação de hidroperóxido de dieno conjugado proveniente da oxidação combinada do ácido linoleico e β -caroteno, num sistema de emulsão aquosa, que perde a coloração laranja, quando reage com radicais (LOPEZ-LUTZ et al., 2008).

A determinação da atividade antioxidante em sistema ácido linoleico/ β -caroteno foi realizada conforme metodologia descrita por Lopez-Lutz et al. (2008). Os antioxidantes sintéticos (BHT, BHA e ácido ascórbico) foram utilizados como controles positivos.

Quantidades de ácido linoleico (20 mg) e Tween 20 (200 mg) foram colocadas em um balão volumétrico, adicionando-se a essa uma solução de 2 mg de β -caroteno em 10 mL de clorofórmio. Este último foi totalmente evaporado com a utilização de um evaporador rotatório. Depois da remoção total, 50 mL de água destilada previamente saturada com oxigênio por borbulhamento por 30 minutos foi adicionada. Aliquotas (200 μL) de cada amostra de OE de folhas

frescas e secas e dos seus respectivos padrões dos componentes majoritários e dos controles positivos foram dissolvidas em metanol, e em seguida, foram adicionadas a 2,5 mL de emulsão de ácido linoleico/ β -caroteno. As amostras foram submetidas à oxidação, incubando-as a 50°C por 3 horas. A absorbância foi lida a 470 nm, e a atividade antioxidante relativa foi determinada pela equação (3):

$$AA\% = 100 \times [1 - (A_0 - A_t / A_{00} - A_{0t})] \quad (3)$$

onde, A_0 é a absorbância no início da incubação, com a amostra; A_t é a absorbância depois das 3 horas, com a amostra; A_{00} é a absorbância no início da incubação, sem a amostra (200 μ L de MeOH e 2,5 mL de emulsão de β -caroteno) e A_{0t} é a absorbância depois de 3 horas, sem a amostra.

As amostras foram lidas contra um branco composto da emulsão sem o β -caroteno e, como controle, utilizou-se uma mistura de emulsão de β -caroteno e metanol. As análises para cada mistura reacional foram realizadas em triplicata.

3.7 Análise estatística

Para as medidas da atividade antioxidante, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizados (DIC), com o esquema fatorial de (6 X 15), sendo seis dosagens e quinze materiais, com três repetições. O programa estatístico utilizado foi o SISVAR, no qual os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2003).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Triagem da atividade antioxidante de diferentes óleos essenciais em CCD

A intensidade da descoloração indicativa da atividade antioxidante apresentou-se variada, e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 Resultados da intensidade da descoloração do radical DPPH pelos OE

Amostras	Óleos essenciais	Descoloração DPPH*
1	Folhas capim-limão	I
2	Folhas manjeriçã fresco	I
3	Folhas manjeriçã seco	I
4	Folhas limão	A
5	Casca limão	F
6	Folhas tomilho	I
7	Folhas pimenta-longa	F
8	Cascas canela fresca	A
9	Cascas canela seca	A
10	Folhas capim-citronela	F
11	Casca laranja seca	A
12	Casca laranja fresca	A
13	Folhas sálvia	A
14	Folhas orégano	I

*descoloração da solução de DPPH: intensa (I), fraca (F), ausente (A)

As manchas que apresentaram descoloração intensa apareceram imediatamente após borrifar solução de DPPH, ao passo que as que apresentaram descoloração fraca apareceram lentamente durante o intervalo de tempo proposto pela metodologia. Os OE com atividade antioxidante destacada

produziram manchas amarelas, resultantes da redução do radical DPPH que foi borrifado, enquanto os OE sem atividade antioxidante expressiva mantiveram a coloração púrpura, sem descolorimento, pois não houve redução do radical DPPH (conforme resultados apresentados na Figura 15).

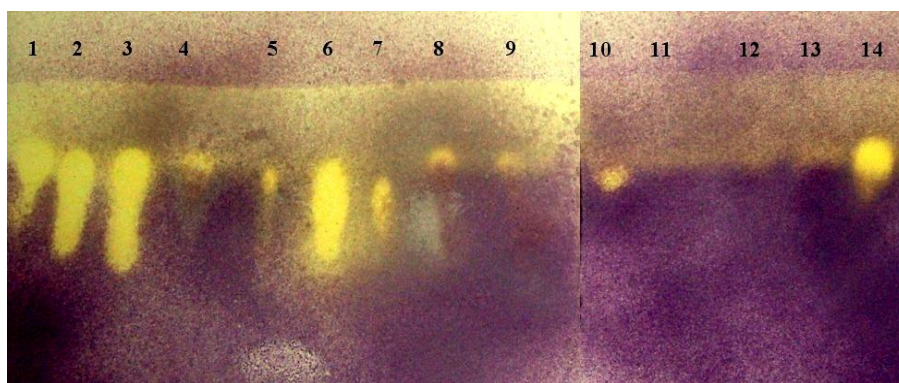


Figura 15 Resultado do teste de atividade antioxidante de OE em CCD

4.2 Determinação da umidade e do rendimento das extrações de óleos essenciais

Os resultados obtidos nos ensaios de determinação do teor de umidade das folhas frescas e os rendimentos das extrações dos OE de todas as folhas referidos estão apresentados na Tabela 2:

Tabela 2 Resultados do teor de umidade e rendimento das extrações dos OE das folhas frescas e secas das plantas selecionadas

Folhas	Teor de umidade (%) médio	Rendimento médio extrações *(% OE em p/p em BLU)
Tomilho fresco	63	0,3
Tomilho seco	-	0,8
Capim-limão fresco	72	0,7
Capim-limão seco	-	1,3
Alfavaca fresca	78	2,1
Alfavaca seca	-	2,0
Manjericão fresco	78	1,4
Manjericão seco	-	0,8

* % de OE em p/p em Base Livre de Umidade

Balladin e Headley (1999), em estudos com folhas frescas de tomilho, observaram que essas apresentaram teor de umidade inicial de 75%, valor superior aos obtidos nesta pesquisa.

A secagem artificial de tomilho resultou no maior rendimento em OE, em estudos realizados por Venskutonis; Poll e Larsen (1996), o que corrobora com os resultados encontrados neste experimento.

Em concordância com os dados verificados neste estudo, o teor de OE de capim-limão, encontrado por Costa et al. (2005), aumentou com a secagem do material vegetal.

A umidade média das folhas frescas de alfavaca constatada em estudos realizados por Luz, Ehlert e Innecco (2009) foi de 76,5%. Para esses autores, o rendimento da extração de OE decresce com a secagem, o que foi comprovado em suas pesquisas, encontrando um teor médio de OE de 4,42%, superior ao averiguado neste experimento. Informações semelhantes foram obtidas por

Conte et al. (2001), em que o rendimento das extrações de OE foi reduzido com a secagem do material vegetal.

Segundo pesquisas realizadas por Nakamura et al. (1999), o rendimento da extração de OE de folhas frescas de alfavaca foi de 0,21%. Já o rendimento médio das extrações de OE de alfavaca, quimiotipo eugenol, verificado por Biasi et al. (2009), foi de 1 a 1,72% em diferentes épocas de colheita. Em ambos os estudos, os rendimentos encontrados para as extrações de OE de alfavaca encontram-se abaixo dos verificados neste trabalho.

Soares et al. (2007) verificaram a diminuição do rendimento das extrações de OE de manjeriço com o aumento da temperatura do ar da secagem, o que corrobora com os resultados obtidos nesta pesquisa, uma vez que o processo de secagem diminuiu os teores de OE de manjeriço.

Ao analisar diferentes génotipos de folhas de manjeriço, Blank et al. (2004) verificaram que os teores de OE dos génotipos que apresentaram maior produtividade variavam entre 1,957 a 2,536%. Os resultados da presente pesquisa são inferiores ao do estudo citado, porém superiores aos obtidos por Suchorska e Osinsk (2001), citados por Blank et al. (2004), no qual foi verificada uma variação de 0,1 a 0,55% de rendimento de OE de manjeriço.

A secagem das folhas aromáticas tem por objetivo diminuir a deterioração do material colhido, pois pela redução da quantidade de água, muitas reações enzimáticas são reduzidas, permitindo a sua conservação por mais tempo. Além disso, a eliminação da água aumenta o percentual de princípios ativos em relação ao peso da planta. Entretanto, o processo de secagem inadequado pode gerar perdas no conteúdo de constituintes químicos, pois os compostos voláteis, principalmente os aromáticos, são muito sensíveis à elevação da temperatura. Assim, é importante conhecer as características da planta e as propriedades dos constituintes químicos de interesse, pois a redução dos compostos voláteis durante a secagem depende da volatilidade e da estrutura

química dos constituintes da planta. Com base nessas análises, pode-se determinar se a planta deve ser utilizada fresca ou seca (COSTA et al., 2005; LUZ; EHLERT; INNECCO, 2009).

4.3 Identificação e quantificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais

Os OE de diferentes folhas apresentam grande variedade em suas composições químicas. Alguns componentes são comuns em diferentes OE, e outros são encontrados em grande quantidade apenas em um OE, como o eugenol, na alfavaca e cravo-da-índia.

A comparação entre as composições químicas dos OE provenientes de folhas frescas e secas é importante, visto que a secagem do material vegetal pode alterar a composição química e o rendimento da extração desses óleos voláteis.

A análise qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos dos OE de folhas frescas e secas de *Thymus vulgaris* L., *Ocimum basilicum* L., *Ocimum gratissimum* L. e *Cymbopogon citratus* foram realizadas por GC/MS (APÊNDICE A).

4.3.1 Óleos essenciais de *Thymus vulgaris* L.

A identificação e quantificação dos constituintes químicos presentes nos OE extraídos de folhas frescas e secas de tomilho estão descritos nas Tabelas 3 e 4, respectivamente.

Tabela 3 Constituição química dos OE de folhas frescas de tomilho

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
1	6,568	(α)-tujeno	924	930	0,67
2	6,788	(α)-pineno	931	939	0,60
3	7,301	canfeno	947	954	0,56
4	8,283	1-octen-3-ol	978	979	1,40
5	8,595	mirceno	988	990	1,01
6	9,538	(α)- terpieno	1016	1017	0,38
7	9,813	p-cimeno	1023	1024	15,08
8	9,970	limoneno	1028	1029	0,30
9	10,081	1,8-cineol	1031	1031	1,54
10	11,018	(γ)-terpineno	1057	1059	4,07
11	11,464	sabineno hidratado (cis) (IPP vs. OH)	1069	1070	1,30
12	12,565	linalol	1100	1096	3,36
13	15,226	borneol	1171	1169	2,59
14	15,544	terpinen-4-ol	1180	1177	1,00
15	17,663	metil éter timol	1238	1235	2,43
16	19,330	isobornil acetato	1283	1285	0,38
17	19,563	timol	1290	1290	50,51
18	19,827	carvacrol	1297	1299	2,64
19	23,996	(E)-cariofileno	1418	1419	2,30
20	25,649	propanoato de geranila	1468	1477	0,43

Tabela 3, continua

Pico	¹TR	Composto	²IR cal	³IR lit	⁴Área %
21	29,229	óxido de cariofileno	1581	1583	3,50
Total compostos identificados					96,05%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Tabela 4 Constituição química dos OE de folhas secas de tomilho

Pico	¹TR	Composto	²IR cal	³IR lit	⁴Área %
1	6,450	tricycleno	920	926	0,19
2	6,556	thujeno	924	930	0,13
3	6,779	(α)-pineno	931	939	2,19
4	7,293	canfeno	947	954	4,49
5	8,184	(β)-pineno	975	979	0,45
6	8,585	mirreno	988	990	0,15
7	9,524	α -terpineno	1015	1017	0,17
8	9,798	p-cimeno	1023	1024	1,18
9	9,959	limoneno	1027	1029	0,27
10	11,005	(γ)-terpineno	1056	1059	1,24
11	12,557	linalol	1099	1096	7,09
12	14,282	cânfora	1146	1146	0,27
13	15,276	borneol	1172	1169	40,55
14	15,539	terpinen-4-ol	1180	1177	2,33
15	16,105	(α)-terpineol	1195	1188	15,08
16	17,292	formiato de isobornila	1227	1239	0,44

Tabela 4, continua

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
17	19,316	acetato de isobornila	1282	1285	2,54
18	19,379	anetol	1284	1284	0,70
19	19,531	timol	1289	1290	0,44
20	19,829	carvacrol	1297	1299	11,37
21	21,661	eugenol	1350	1359	0,24
22	23,990	(E)-cariofileno	1418	1418	3,89
23	25,176	(α)-humuleno	1454	1454	0,15
24	27,055	(γ)-cadineno	1511	1513	0,30
25	27,213	δ -cadineno	1516	1523	0,44
26	29,053	espatulenol	1575	1578	0,50
27	29,221	óxido de cariofileno	1580	1583	1,27
28	30,905	caryophylla-4(12),8(13)- dien-5 α -ol	1636	1640	0,21
Total compostos identificados					98,27%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Os componentes majoritários encontrados nos OE de folhas frescas de tomilho foram o timol (50,51%), p-cimeno (15,08%) e γ -terpineno (4,07%) (Figura 16), ao passo que os das folhas secas foram o borneol (40,55%), α -terpineol (15,08%) e carvacrol (11,37%) (Figura 17). Considerando-se que as folhas frescas e secas foram adquiridas em localidades diferentes, há uma diferença de composição entre seus respectivos OE. Esses dados são concordantes com as considerações feitas por Luz, Ehlert e Innecco (2009), que relatam a ocorrência de variações dos constituintes químicos de OE em função

de fatores genéticos, que são específicos para cada espécie, e ambientais, que envolvem a época de plantio, o horário de colheita, o tempo de secagem, entre outros.

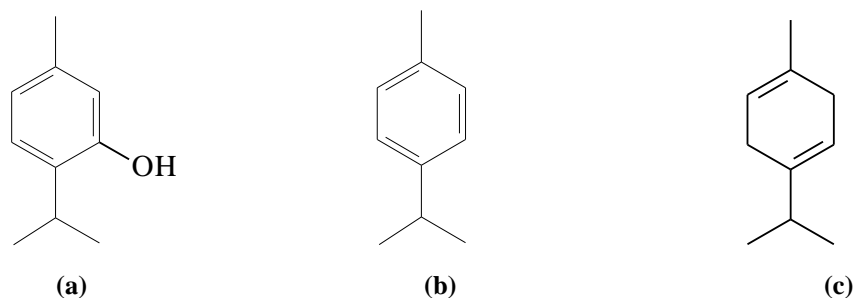


Figura 16 Constituintes majoritários do OE de folhas frescas de tomilho:

(a) timol, (b) p-cimeno, (c) γ -terpineno

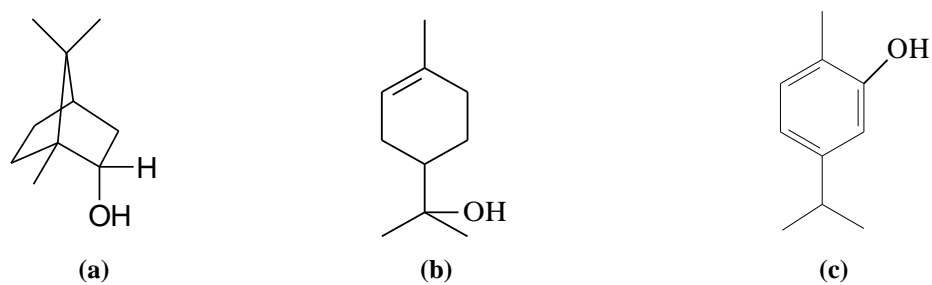


Figura 17 Constituintes majoritários do OE de folhas secas de tomilho:

(a) borneol, (b) α -terpineol, (c) carvacrol

Stoilova et al. (2008) encontraram como resultados da composição do OE de tomilho proveniente da Alemanha resultados semelhantes aos do OE de

tomilho fresco do presente trabalho. No referido estudo, os OE foram analisados por GC/FID e GC/MS, identificando-se trinta componentes, sendo o timol (49,6%), p-cimeno (16,4%), γ -terpineno (8,0%), linalol (4,6%) e carvacrol (4,0%) os principais componentes encontrados. No entanto, esses resultados não são compatíveis com os obtidos para OE de tomilho seco, uma vez que, embora tenham sido encontrados os constituintes majoritários do tomilho cultivado na Alemanha, estes não estão entre os componentes majoritários do OE de tomilho seco.

A composição do OE de tomilho originário da Albânia foi analisada por Asllani e Toska (2003), que detectaram mais de 86 compostos, dos quais 40 foram identificados. Os principais componentes foram p-cimeno, γ -terpineno, timol, carvacrol e β -carofileno, dados que corroboram com os encontrados neste estudo para os OE de folhas frescas, uma vez que os constituintes majoritários encontrados são coincidentes e, parcialmente, com os obtidos para os OE do vegetal seco, uma vez que somente o constituinte majoritário carvacrol foi comum.

4.3.2 Óleos essenciais de *Cymbopogon citratus*

As análises qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos dos OE de folhas frescas e secas de capim-limão encontram-se descritos nas Tabelas 5 e 6, respectivamente.

Tabela 5 Constituição química dos OE de folhas frescas de capim-limão

Pico	¹TR	Composto	²IR cal	³IR lit	⁴Área %
1	8,421	(6-metil-5) hepten-2-ona	983	985	0,99
2	8,577	mirreno	988	990	2,07
3	12,212	(6,7)-epoxymirreno	1090	1092	0,42
4	17,685	neral	1238	1238	29,78
5	18,105	geraniol	1250	1252	0,43
6	18,780	geranial	1268	1267	41,61
7	19,631	(2)-undecanona	1292	1294	1,16
8	21,822	etil nerolato	1355	1354	0,77
9	22,601	acetato de geranila	1377	1381	0,37
10	26,495	(2)-tridecanona	1494	1496	1,00
Total compostos identificados					78,6%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Tabela 6 Constituição química dos OE de folhas secas de capim-limão

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
1	8,425	(6-metil-5) hepten-2-ona	983	985	0,58
2	8,582	mirreno	988	990	2,81
3	12,214	(6,7)-epoxymirreno	1090	1092	0,63
4	12,549	linalol	1099	1096	0,64
5	14,157	(exo)-isocitral	1142	1144	0,29
6	14,831	(Z)-isocitral	1160	1164	0,2
7	17,704	neral	1239	1238	28,87
8	18,106	geraniol	1250	1252	0,7
9	18,225	piperitona	1253	1252	0,29
10	18,8	geranial	1269	1267	39,54
11	19,632	(2)-undecanona	1292	1294	1,07
12	26,495	(2)-tridecanona	1494	1496	1,03
Total compostos identificados					76,65%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Os constituintes encontrados em maior quantidade nos OE de folhas frescas e secas de capim-limão foram o geranial, neral e mirreno (Figura 18), sendo o citral (mistura isomérica de neral e geranial) o principal constituinte do OE de *C. citratus*.

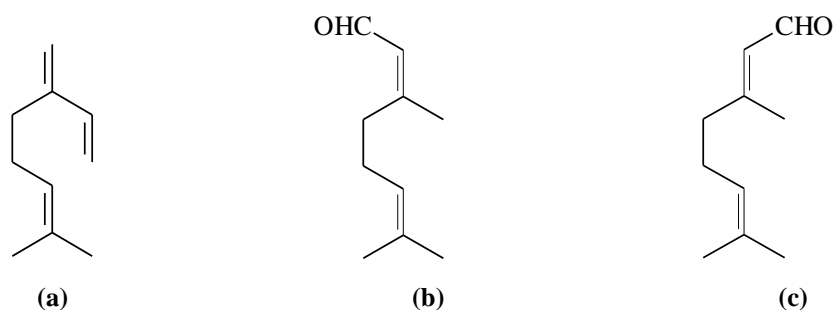


Figura 18 Constituintes majoritários do OE de folhas frescas e secas de capim-limão: (a) mirceno, (b) neral, (c) geranial

Foram constatadas variações nas proporções dos constituintes majoritários nos materiais vegetais analisados, em que se verificaram respectivamente, no OE de folhas frescas e secas do capim-limão, o geranial (41,61 e 39,54%), neral (29,78 e 28,87%) e mirceno (2,07 e 2,81%). Tendo em vista que as folhas foram coletadas no mesmo dia e nas mesmas condições, essas pequenas variações nos teores dos constituintes provavelmente se devem ao processo de secagem em estufa a que as folhas foram submetidas, coincidindo com observações feitas por Venskutonis (1997), citadas por Costa et al. (2005), os quais afirmam que alterações na concentração de compostos voláteis durante a secagem podem ser afetadas por vários fatores, como o método de secagem e as características do produto submetido à secagem.

Os resultados encontrados são concordantes com aqueles encontrados nos trabalhos de Guimarães et al. (2008), em que os autores citaram como componentes majoritários encontrados do OE de *C. citratus* o neral (31,89%) e o geranial (37,42%), seguidos pelo mirceno (23,77%).

Menut et al. (2000), estudando o OE de capim-limão extraído por hidrodestilação, encontraram como componentes principais o geranial (44,6%),

neral (33,0%) e mirceno (10,7%), corroborando com os encontrados neste estudo.

4.3.3 Óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* L.

Os resultados das análises qualitativa e quantitativa dos constituintes químicos encontrados com OE de folhas frescas e secas de alfavaca estão descritos nas Tabelas 7 e 8, respectivamente.

Tabela 7 Constituição química dos OE de folhas frescas de alfavaca

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	Área %
1	6,556	tujeno	924	930	0,11
2	8,024	sabineno	970	975	0,16
3	10,214	(Z)- β -ocimeno	1034	1037	7,99
4	10,592	(E)- β -ocimeno	1045	1050	0,36
5	15,533	terpinen-4-ol	1179	1177	0,31
6	21,750	eugenol	1353	1359	77,97
7	23,988	(E)-cariofileno	1418	1419	1,26
8	26,019	(γ)-muuruleno	1479	1479	6,03
Total compostos identificados					94,19%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Tabela 8 Constituição química dos OE de folhas secas de alfavaca

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
1	6,553	(α)-tujeno	924	930	0,21
2	8,023	sabineno	970	975	0,25
3	8,580	mirceno	988	990	0,2
4	10,223	(Z)- β -ocimeno	1035	1037	8,12
5	10,589	(E)- β -ocimeno	1045	1050	0,36
6	11,447	sabineno hidratado (cis) (IPP vs. OH)	1069	1070	0,67
7	15,527	terpinen-4-ol	1179	1177	0,37
8	21,830	eugenol	1355	1359	70,97
9	22,511	(α)-copaeno	1374	1376	0,85
10	22,785	(β)-bourboneno	1382	1388	0,53
11	22,926	(β)-cubeneno	1386	1388	0,40
12	22,983	(β)-elemeno	1388	1390	0,17
13	23,991	(E)-cariofileno	1418	1419	3,19
14	24,326	(β)-copaeno	1428	1432	0,16
15	25,181	(α)-humuleno	1454	1454	0,23
16	26,035	(γ)-muuruleno	1480	1479	10,52
17	27,027	δ -cadineno	1516	1523	0,43
18	29,215	óxido de cariofileno	1580	1583	0,37
19	31,432	(α)-cadinol	1654	1654	0,22
Total compostos identificados					98,22%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Os constituintes majoritários presentes nos OE extraídos de folhas frescas e secas de alfavaca e seus respectivos teores foram o eugenol (77,97 e

70,97%), (γ)-muuruleno (6,03 e 10,52%) e (Z)- β -ocimeno (7,99 e 8,12%) (Figura 19).

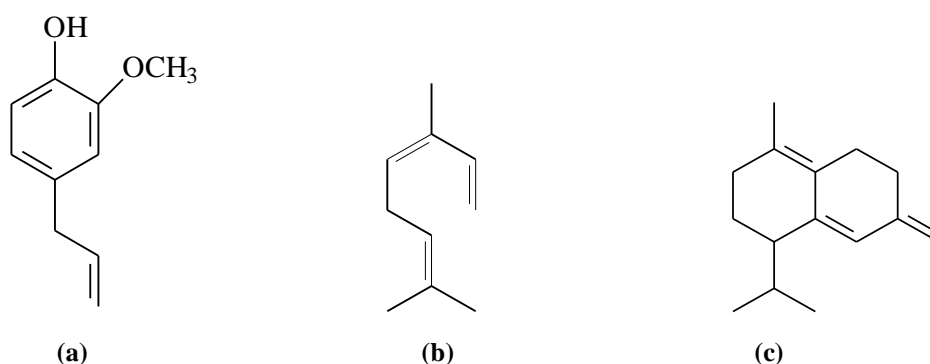


Figura 19 Constituintes majoritários do OE de folhas frescas e secas de alfavaca: (a) eugenol, (b) (Z)- β -ocimeno e (c) (γ)-muuruleno

Luz, Ehlert e Innecco (2009), trabalhando com alfavaca, observaram que à medida que se aumentou o período de secagem, o teor de eugenol, seu constituinte majoritário, diminuiu, pois provavelmente esse apresenta uma fração de volatilização inicial rápida. Esses dados são pertinentes aos encontrados neste estudo, visto que o teor de eugenol dos OE diminuiu com a secagem do material vegetal.

Zoghbi et al. (2007) mostraram que os OE de alfavaca cultivadas no estado do Pará, obtidos por hidrodestilação e analisados pela GC e GC/MS, apresentaram como componentes mais abundantes dos OE o timol (13,1% a 36,2%), γ -terpineno (0,2% a 28,1%), 1,8-cineol (0,0 a 25, 2%) e p-cimeno (4,4% a 19,9%), resultados não coincidentes com os verificados no presente experimento.

De acordo com Vieira e Simon (2000), óleos voláteis de espécies de *O. gratissimum* do Brasil, extraídos por hidrodestilação e posteriormente analisados quimicamente por GC/MS, apresentaram altos teores de eugenol (40-66%) e timol (31%), concordando parcialmente com os dados obtidos nesta pesquisa, na qual foram encontrados altos teores de eugenol, porém não de timol.

O teor de eugenol no OE de alfavaca varia muito, dependendo de uma série de fatores, como a região geográfica onde a planta foi colhida. Lawrence (1997) e Haiki (1970), citados por Pereira e Maia (2007), verificaram variações de 21,1 a 90,5% e 67 a 73%, respectivamente, nos teores de eugenol; os valores encontrados neste experimento estão dentro dos intervalos referidos nesses estudos.

4.3.4 Óleos essenciais de *Ocimum basilicum* L.

Os constituintes químicos encontrados nos OE extraídos de folhas frescas e secas de manjeriço e suas respectivas porcentagens estão apresentados nas Tabelas 9 e 10, respectivamente.

Tabela 9 Constituição química dos OE de folhas frescas de manjeriço

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
1	6,785	(α)-pineno	931	926	0,64
2	7,298	canfeno	947	954	0,53
3	8,034	sabineno	970	975	0,63
4	8,192	(β)-pineno	975	979	1,28
5	8,590	mirreno	988	990	0,81
6	9,972	limoneno	1028	1029	1,13
7	10,091	cineol	1031	1031	20,86
8	10,597	(E)- β -ocimeno	1045	1050	0,14
9	11,012	(γ)-terpineno	1057	1059	0,08
10	11,4475	sabineno hidratado(cis) (IPP vs. OH)	1069	1070	1,03
11	11,997	terpinoleno	1084	1088	0,28
12	12,127	fenchona	1087	1086	0,82
13	12,588	linalol	1100	1096	16,58
14	14,314	cânfora	1147	1146	14,72
15	15,161	(γ)-terpineol	1169	1166	0,66
16	15,535	terpinen-4-ol	1179	1177	0,6
17	16,089	(α)-terpineol	1194	1188	4,24
18	19,315	acetato de isobornil	1282	1285	0,22
19	20,687	acetato de mirtenil	1322	1326	0,11
20	21,690	eugenol	1351	1359	10,50
21	22,503	(α)-copaeno	1374	1376	0,13
22	22,783	(β)-bourburneno	1382	1388	0,19
23	22,978	(β)-elemeno	1388	1390	0,29
24	23,992	(E)-cariofileno	1418	1419	1,37

Tabela 9, continua

Pico	¹TR	Composto	²IR cal	³IR lit	⁴Área %
25	24,445	(α)-trans-bergamoteno	1432	1434	1,98
26	25,184	(α)-humuleno	1454	1454	0,34
27	25,396	candina-1(6),4-dieno (cis)	1460	1463	0,19
28	26,493	biciclogermacreno	1494	1500	0,58
29	26,693	(α)-bulneseno	1500	1509	0,31
30	27,058	(γ)-cadineno	1511	1513	1,24
31	27,215	δ -cadineno	1516	1523	0,08
32	30,244	cubebol(1,10-di-epi-)	1614	1619	1,09
33	31,057	cadinol (epi- α -)	1641	1640	8,67
Total compostos identificados					92,32%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Tabela 10 Constituição química dos OE de folhas secas de manjeriço

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
1	6,771	triciclano	930	926	0,16
2	8,020	sabineno	970	975	0,08
3	8,176	(β)-pineno	975	979	0,29
4	8,577	mirceno	988	990	0,10
5	9,953	limoneno	1027	1029	0,13
6	10,063	cineol	1030	1031	5,52
7	10,583	(E)- β -ocimeno	1045	1050	0,12
8	12,113	fenchona	1087	1086	0,11
9	12,578	linalol	1100	1096	15,69
10	13,247	fenchol-(exo)	1118	1121	0,22
11	14,277	cânfora	1146	1146	0,34
12	15,202	borneol	1170	1169	0,23
13	15,526	terpinen-4-ol	1179	1177	0,32
14	16,092	α -terpineol	1194	1188	0,56
15	16,279	metil chavicol	1199	1196	59,15
16	17,844	carvona	1243	1243	0,15
17	19,302	acetato de isobornil	1283	1285	0,23
18	19,378	E-anetol	1285	1284	0,18
19	21,647	eugenol	1350	1359	0,58
20	22,787	cinamato de metila	1382	1378	1,12
21	22,962	β -elemeno	1387	1390	0,23
22	23,341	metil eugenol	1398	1403	7,28
23	23,981	(E)-cariofileno	1418	1419	0,98
24	24,434	α -trans-bergamoteno	1431	1434	1,61

Tabela 10, continua

Pico	¹ TR	Composto	² IR cal	³ IR lit	⁴ Área %
25	25,092	farneseno (E)- β	1451	1456	0,17
26	26,679	α-bulneseno	1499	1509	0,12
27	27,045	(γ)-cadineno	1511	1513	0,55
28	29,043	espatuleno	1575	1578	0,13
29	29,209	óxido de cariofileno	1580	1583	0,26
30	30,231	cubebol (1,10-di-epi)	1613	1619	0,17
31	31,030	(epi-α) cadinol	1640	1640	1,12
Total compostos identificados					97,9%

¹TR = tempo de retenção (minutos) fornecido pelo GC/MS, ²IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats (ADAMS, 2007), ³IR lit = índice de retenção da literatura, ⁴Área % = porcentagens fornecidas pelo GC/MS

Os constituintes majoritários presentes no OE de manjeriço fresco foram o cineol (20,86%), linalol (16,58%) e cânfora (14,72%) (Figura 20).

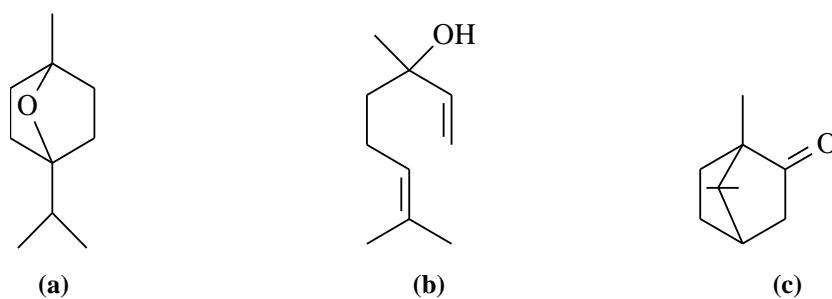


Figura 20 Constituintes majoritários do OE de folhas frescas de manjeriço:

(a) cineol, (b) linalol, (c) cânfora

Nos OE de folhas secas de manjeriço, foram encontrados: metil chavicol (59,15%), linalol (15,69%) e metil eugenol (7,28%) (Figura 21).

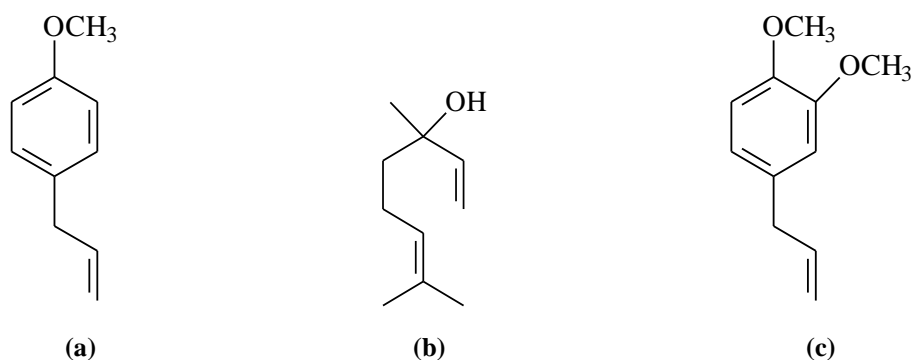


Figura 21 Constituintes majoritários do OE de folhas secas de manjeriço:

(a) metil chavicol, (b) linalol, (c) metil eugenol

A grande variabilidade na composição química dos OE de folhas frescas e secas de manjeriço, possivelmente, foi consequência de suas diferentes procedências, pois, de acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), o conteúdo final de metabólitos secundários em folhas medicinais é influenciado por diversos fatores, como o local e o horário de coleta, processos de estabilização e condições de estocagem, entre outros.

Vieira e Simon (2000), em estudos com OE de espécies de *O. basilicum*, extraídos por hidrodestilação e analisados por GC/MS, observaram que esses mostraram-se ricos em 1,8-cineol (22%), linalol (49,7%), metil chavicol (47%) ou metil-(E)- cinamato (65,5%), concordando com os resultados obtidos neste estudo, visto que, dos compostos citados, 1,8-cineol e linalol estão entre os compostos majoritários dos OE de manjeriço fresco, e linalol e metil chavicol estão entre os majoritários do manjeriço seco.

Chalchat e Oezcan (2008) analisaram as composições químicas dos OE das flores, folhas e caules de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) por GC e GC/MS. Os principais constituintes dos OE das folhas foram o metil chavicol (52,60%), limoneno (13,64%) e p-cimeno (2,32%). O metil chavicol foi o constituinte majoritário comum à pesquisa mencionada e aos OE de folhas secas de manjeriço do presente experimento.

A variação na constituição química dos OE de manjeriço em função das diferentes estações do ano foram estudadas por Hussain et al.(2008), em que os OE apresentaram linalol como o componente mais abundante (56,7 - 60,6%), seguido por epi- α -cadinol (8,6 - 11,4%), α -bergamoteno (7,4 - 9,2%) e γ -cadineno (3,2 - 5,4%). As amostras coletadas no inverno apresentaram-se ricas em monoterpenos oxigenados (68,9%), enquanto as de verão foram mais ricas em hidrocarbonetos sesquiterpênicos (24,3%). Em relação aos constituintes majoritários encontrados, o linalol é comum entre os componentes majoritários do referido estudo e dos OE de manjeriço fresco e seco do presente experimento.

4.4 Atividade antioxidante de óleos essenciais

Ao avaliar a atividade antioxidante dos OE, uma abordagem com múltiplos testes é altamente aconselhável, pois cada um é baseado em uma característica da atividade antioxidante, como a capacidade de sequestrar radicais livres, a inibição da peroxidação lipídica, etc. Os OE possuem frequentemente constituintes com diferentes grupos funcionais, polaridades e comportamentos químicos; assim, o uso de uma única metodologia de análise pode conduzir a resultados incorretos, dependendo do teste empregado. Infere-se, portanto, que efeitos antioxidantes dos OE devem ser avaliados combinando

dois ou mais testes de atividade *in vitro*, para se obterem resultados relevantes (BOZIN et al., 2006; SACCHETTI et al., 2005; TOMAINO et al., 2005).

As diferentes atividades antioxidantes dos OE podem ser atribuídas aos seus diferentes perfis químicos qualitativos ou quantitativos. Porém, devido à complexidade de suas composições químicas, torna-se difícil fazer correlação entre atividade antioxidante e os componentes presentes nos óleos. Para tentar explicar essa atividade antioxidante, muitas pesquisas referem-se frequentemente a conceitos, como sinergismo, antagonismo e aditividade, sendo a maior parte deles especulativa, sendo poucas vezes experimentalmente suportados (TOMAINO et al., 2005).

4.4.1 Análise qualitativa da atividade antioxidante qualitativa dos óleos essenciais em CCD

A avaliação preliminar qualitativa da atividade antioxidante dos OE de manjerição, capim-limão, alfavaca e tomilho foi realizada por CCD em gel de sílica e revelada com solução metanólica a 0,2% do radical DPPH. A existência de substâncias com atividade antioxidante nos OE foram evidenciadas nas cromatoplacas pela presença de manchas amarelas sobre fundo púrpuro, resultantes da redução do radical DPPH.

As manchas correspondentes aos OE de folhas frescas e secas de alfavaca, tomilho e manjerição apareceram imediatamente e com forte intensidade, no entanto as manchas correspondentes aos OE de folhas frescas e secas de capim-limão apareceram no decorrer do período mencionado e com menor intensidade (Figura 22).

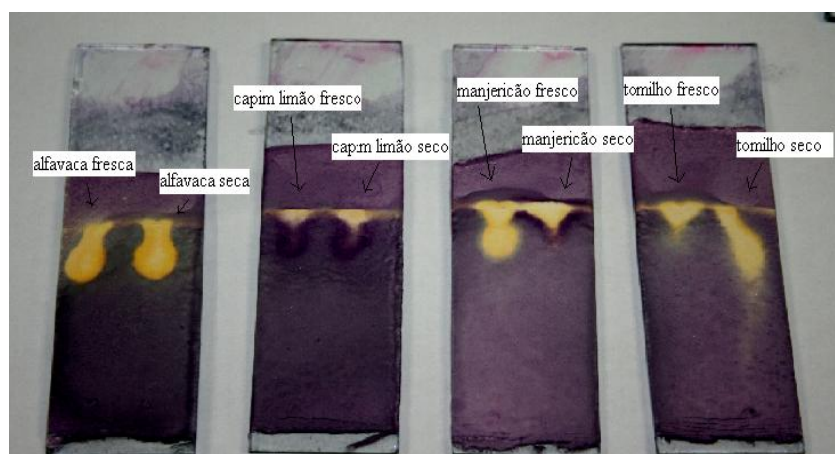


Figura 22 Resultados da atividade antioxidante de OE em CCD

4.4.2 Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo método da captura de radicais DPPH

O método foi usado para avaliar a capacidade antioxidante dos OE de folhas frescas e secas de tomilho, alfavaca, manjeriçao e capim-limão, comparando-as com aquelas de seus respectivos componentes majoritários timol, eugenol, linalol e citral, e aos controles positivos: BHT, BHA e ácido ascórbico.

Pelos resultados obtidos, foi determinada a porcentagem de atividade sequestradora de radicais (quantidade de DPPH' consumida pelo antioxidante) e/ou a porcentagem de DPPH' remanescente no meio reacional (APÊNDICES B e C).

Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante (%AA) dos OE de folhas frescas e secas de *Thymus vulgaris* L., *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* L., *Ocimum basilicum* L., dos padrões dos componentes majoritários e dos antioxidantes sintéticos, nas concentrações 250, 200, 150, 100, 50 e 25 µg/mL, determinadas pelo ensaio do DPPH e suas equações de

regressão, estão apresentadas respectivamente nos gráficos 1, 2, 3, 4 e 5 (APÊNDICE C).

A capacidade de reduzir os radicais DPPH pelos OE de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol foram avaliadas e, na maior concentração de cada amostra, a atividade antioxidante média foi de 33,1% para OE de tomilho fresco, 15,8% para OE de tomilho seco e 36,0% para o padrão timol (Gráfico1).

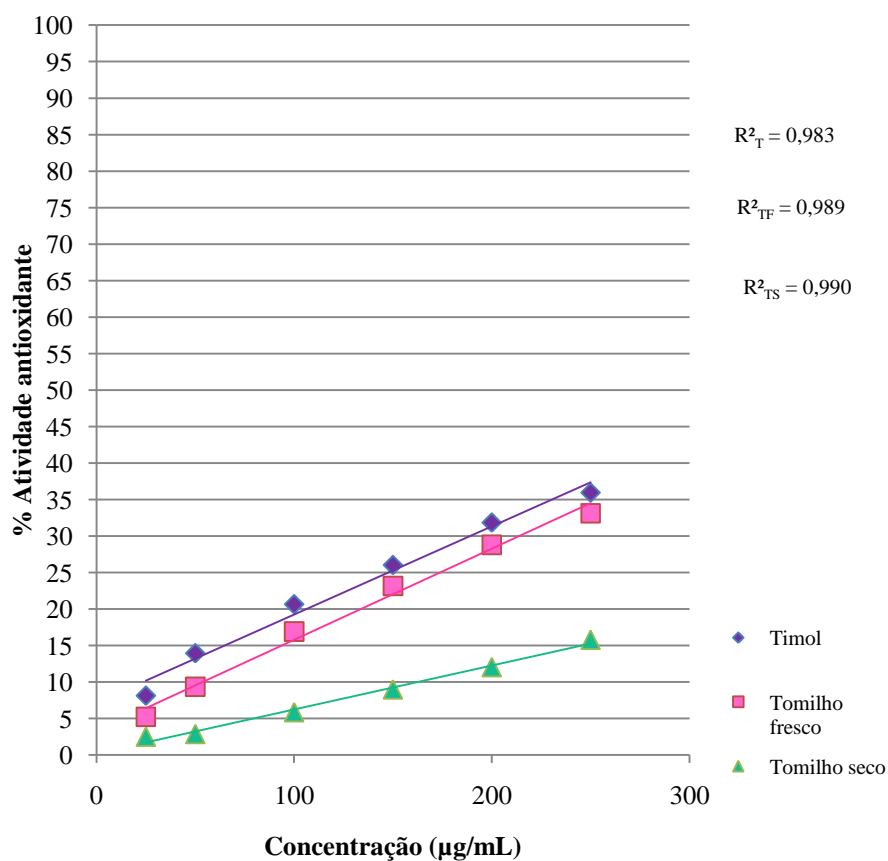


Gráfico 1 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

Stoilova et al. (2008) demonstraram que o óleo de tomilho (coletado na Alemanha) apresentou uma maior atividade antioxidante no ensaio de sequestro do radical DPPH do que seus componentes fenólicos majoritários

individualmente, carvacrol e timol, discordando dos resultados apresentados no presente estudo, em que o timol apresentou maior habilidade antioxidante .

Amostras de OE de folhas do tomilho (coletadas na França), bem como tomilho comercial rico em timol, foram pesquisadas por Chizzola, Michitsch e Franz (2008) e estudadas quanto à sua capacidade antioxidante. Os autores relataram que OE com altas proporções de componentes fenólicos timol e/ou carvacrol mostraram a maior atividade antioxidante, corroborando com os dados encontrados neste trabalho, pois os OE das folhas frescas e secas de tomilho apresentam respectivamente: 50,5 e 0,4% de timol, e 2,6 e 11,4% de carvacrol, concluindo que OE extraídos de folhas frescas de tomilho apresentam maior atividade antioxidante que os obtidos das folhas secas.

Os OE extraídos de material vegetal fresco e seco de capim-limão e o padrão citral demonstraram baixa atividade antioxidante pelo método do sequestro de radicais DPPH, até mesmo na maior concentração analisada, na qual todas essas amostras alcançaram atividade antioxidante média menor que 5% (Gráfico 2).

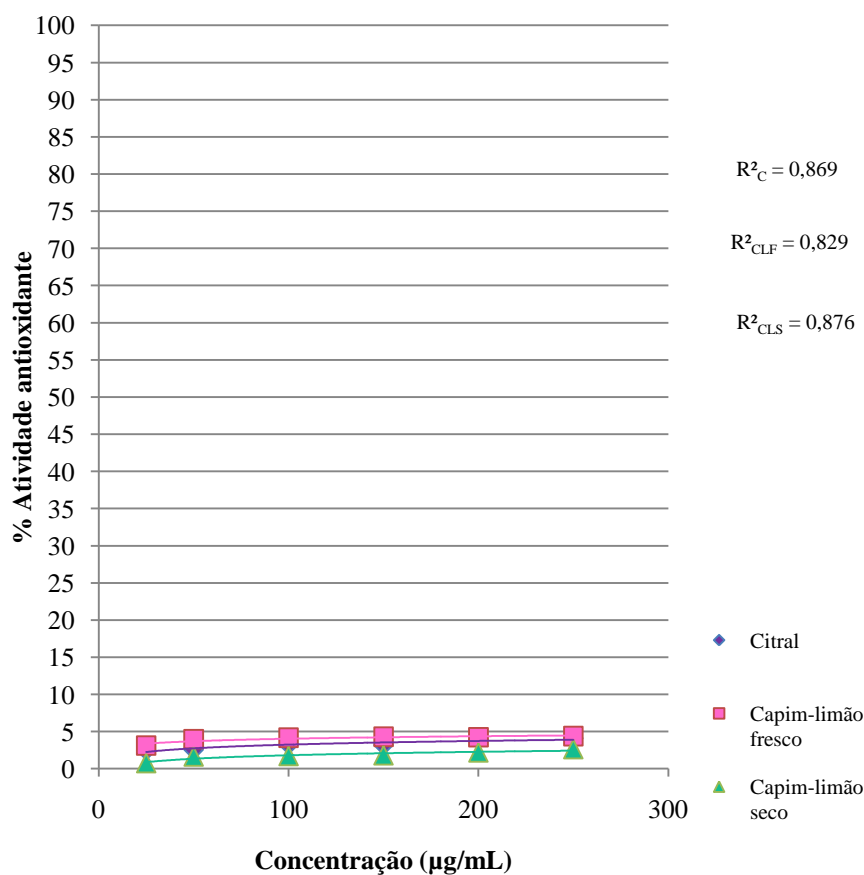


Gráfico 2 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

Resultados discordantes foram obtidos por Sacchetti et al. (2005), analisando a composição química e propriedades antioxidantes de onze OE. No ensaio com DPPH, os OE de *Cananga odorata*, *Cymbopogon citratus*,

Rosmarinus officinalis e *Curcuma longa* revelaram grande eficácia, com uma inibição do radical que variam de $59,6 \pm 0,42$ a $64,3 \pm 0,45\%$.

Menut et al. (2000) obtiveram resultados que corroboram com os encontrados no presente estudo. Esses pesquisadores avaliaram a constituição e a atividade antioxidante de OE de espécies diferentes de *Cymbopogon* (*C. giganteus*, *C. proximus* e *C. citratus*), verificando que suas propriedades foram muito baixas, em comparação com os dois antioxidantes comercialmente utilizados (BHT e delta-tocoferol). No presente estudo, a capacidade antioxidante média do BHT, em sua maior concentração, alcançou 91,2%.

Os OE extraídos de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão eugenol apresentaram relevante atividade sequestradora de radicais livres DPPH, reduzindo-o, e, conseqüentemente, provocando intensa descoloração da mistura reacional. Nas maiores concentrações testadas para as amostras, foram verificadas atividades antioxidantes médias de 92,2% para o padrão eugenol, 89,1% para OE de folhas frescas e 85,7% para OE provenientes de folhas secas (Gráfico 3). Esses dados podem ser considerados relevantes, uma vez que os antioxidantes sintéticos, como BHT, BHA e ácido ascórbico, no presente experimento, apresentaram atividade média sequestradora de radicais DPPH de 91,2, 93,0 e 94,0% respectivamente, em suas maiores concentrações testadas.

A intensa atividade antioxidante apresentada pelos OE provenientes de folhas frescas e secas de alfavaca possivelmente deveu-se aos elevados teores de eugenol apresentados por esses OE (77,97 e 70,97%, respectivamente). A estrutura fenólica da molécula de eugenol permite a doação de um H radicalar para o radical DPPH, reduzindo-o. Simultaneamente ocorre a formação de radicais estáveis do eugenol, que são amplamente estabilizados por estruturas de ressonância. Assim, pode-se inferir que a atividade antioxidante foi proporcional ao conteúdo de eugenol nos OE de folhas de alfavaca.

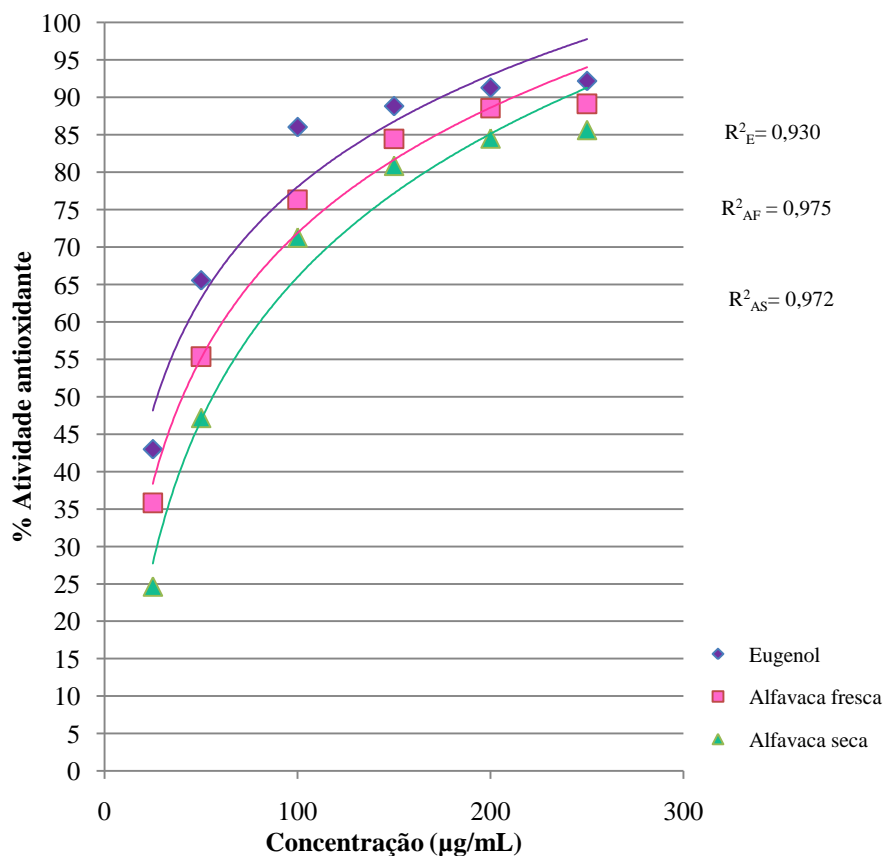


Gráfico 3 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão eugenol, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

O eugenol foi encontrado como principal componente nos OE de folhas frescas e secas de alfavaca, assim como nos estudos realizados por Tomaino et al. (2005). Para esses, os OE mais efetivos na prevenção ao ataque de radicais livres parecem ser aqueles que, contêm altos teores de eugenol (alfavaca fresca e seca, no presente estudo, cravo-da-índia e canela, em estudos anteriores do

referido autor). Esse fato pode ser explicado pela característica estrutural requerida para uma forte atividade sequestradora de radicais livres, que é um grupo fenólico contendo um grupo que repele elétrons na posição orto em relação à hidroxila do grupo.

Trevisan et al. (2006) avaliaram a habilidade antioxidante dos OE obtidos por hidrodestilação de cinco espécies do gênero *Ocimum*, por meio de testes como xantina oxidase e os ensaios de DPPH. A capacidade antioxidante foi correlacionada positivamente, com uma alta proporção de compostos que possuem um anel fenólico, como eugenol, enquanto uma forte correlação negativa foi observada quando outros compostos majoritários foram observados. O mesmo pode ser observado no presente estudo, visto que amostras obtidas de folhas frescas apresentaram maiores teores de eugenol que as folhas secas (teores de eugenol foram de 77,97 e 70,97%, respectivamente).

Ao analisar a habilidade antioxidante do OE de folhas frescas e secas de manjerição e do padrão linalol pelo método do sequestro dos radicais DPPH, verificou-se uma baixa eficiência para OE de manjerição seco e padrão linalol, com atividade antioxidante média de 9,3 e 1,8%, respectivamente, ao passo que para o OE de manjerição fresco, foi de 32,0%, sendo esses valores verificados nas maiores concentrações estudadas das amostras (Gráfico 4).

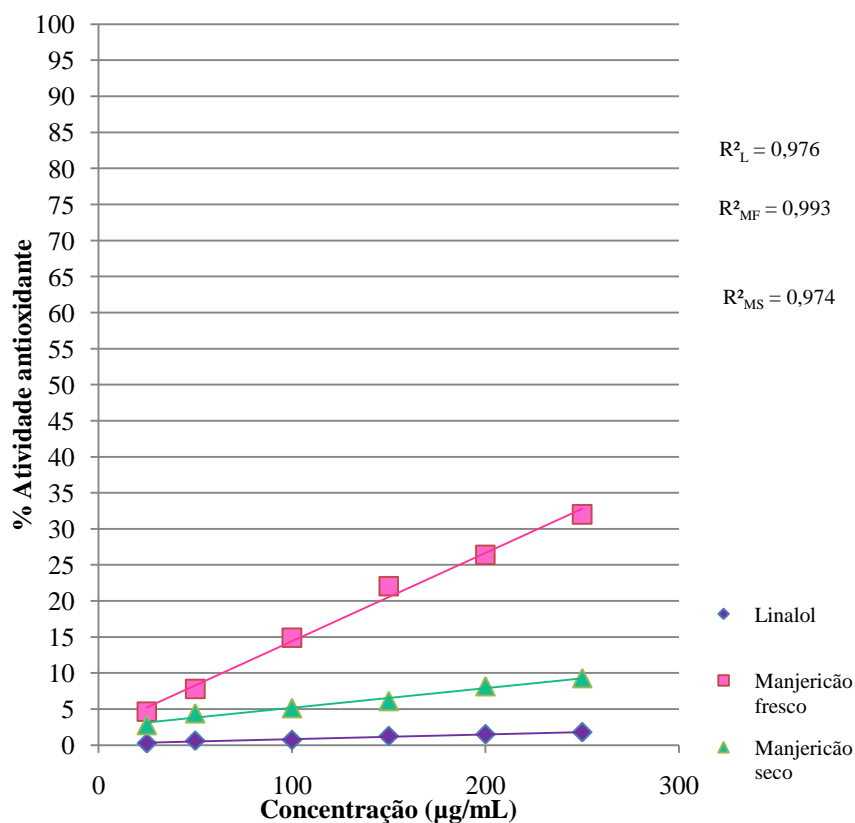


Gráfico 4 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de manjericão e do padrão linalol, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

Resultados divergentes foram encontrados por Bozin et al. (2006), que avaliaram a capacidade de capturar radicais DPPH de OE de folhas da família Lamiaceae (orégano, tomilho e manjericão). Forte atividade antioxidante foi verificada em todas as amostras analisadas, e como constituintes responsáveis pela neutralização dos radicais DPPH, foram citados os monoterpenos

oxigenados fenólicos (carvacrol, timol e metil chavicol) e da mistura de hidrocarbonetos mono e sesquiterpenos. Pode-se ainda destacar maior habilidade antioxidante do carvacrol em relação ao timol.

Hussain et al. (2008) avaliaram as alterações na atividade antioxidante de OE de manjeriço em função das diferentes estações do ano. O componente majoritário encontrado nos OE foi o linalol e com a utilização da metodologia do sequestro dos radicais DPPH, verificou-se que esses, obtidos durante o inverno e a primavera, mostraram maior atividade de eliminação do radical, em relação às amostras de OE coletadas durante o outono e verão, com atividade comparável ao BHT. Os dados encontrados pelos autores não coincidem com os deste estudo, em que as espécies vegetais foram coletadas no verão, apresentando elevada eficiência antioxidante, que pode ser comparada à do BHT (91,2% de atividade média em sua maior concentração), ao contrário do encontrado.

Em relação aos compostos sintéticos, BHT, BHA e ácido ascórbico, os valores médios obtidos para as maiores concentrações dos compostos testadas foram 91,2%, 93,0% e 94,0%, respectivamente (Gráfico 5).

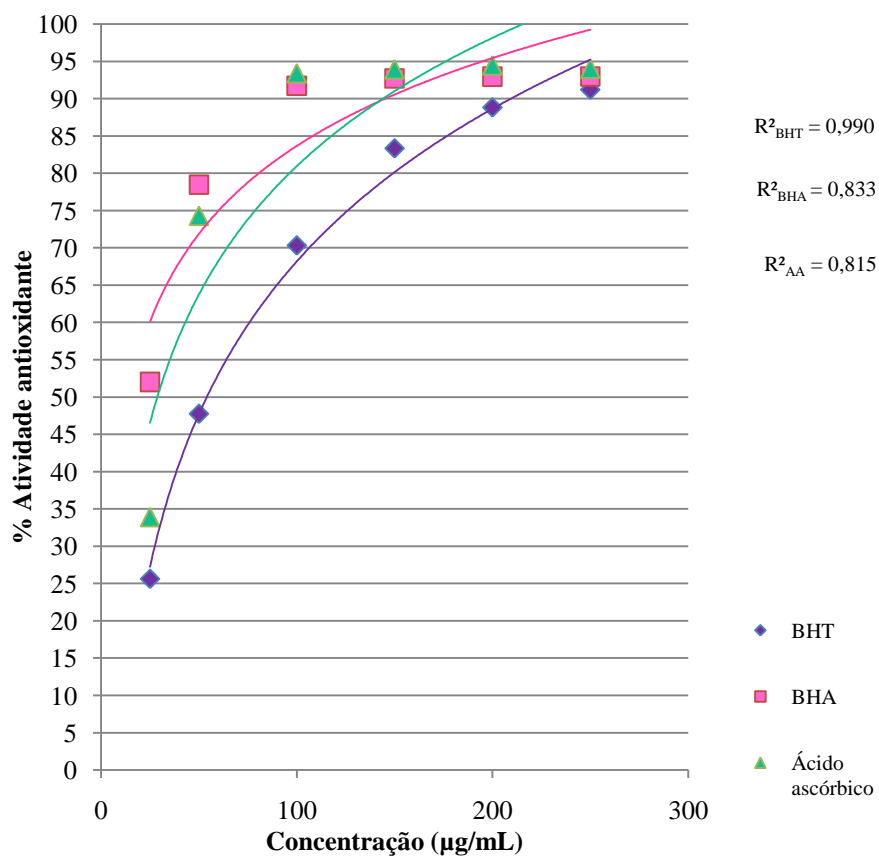


Gráfico 5 Análise comparativa entre as atividades antioxidante do BHT, BHA e ácido ascórbico, em função da concentração, pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

A quantidade de antioxidante necessária para decrescer ou inibir a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE_{50}) ou concentração inibitória (CI_{50}); quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CI_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

As concentrações inibitórias (CI₅₀) dos OE analisados, seus respectivos padrões dos componentes majoritários de cada OE e dos antioxidantes sintéticos estão apresentadas na Tabela 11.

Tabela 11 Resultados CI₅₀ das amostras

Amostras	CI₅₀ (µg/mL)
OE folhas frescas tomilho	1.379,54
OE folhas secas tomilho	N
Padrão timol	557,54
OE folhas frescas capim-limão	N
OE folhas secas capim-limão	N
Padrão citral	N
OE folhas frescas alfavaca	49,04
OE folhas secas alfavaca	52,97
Padrão eugenol	19,34
OE folhas frescas manjeriço	885,73
OE folhas secas manjeriço	N
Padrão linalol	N
BHT	43,95
BHA	10,51
Ácido Ascórbico	17,77

CI₅₀= concentração inibitória (valores médios obtidos da triplicata); N= OE que apresentaram CI₅₀ superiores a 5.000 µg/mL

Pelos dados apresentados, pode-se observar a alta eficiência antioxidante do padrão eugenol, seguido do OE de alfavaca fresca e do OE de alfavaca seca, sendo que o primeiro superou o BHT, aproximando-se do BHA e ácido

ascórbico. Os OE de alfavaca fresca e seca apresentaram valores de CI_{50} próximos ao BHT.

4.4.3 Análise quantitativa da atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoleico

A avaliação da atividade antioxidante (%AA) dos OE de folhas frescas e secas de *Thymus vulgaris* L., *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* L., *Ocimum basilicum* L., dos padrões dos componentes majoritários e dos antioxidantes sintéticos, nas concentrações 250, 200, 150, 100, 50 e 25 $\mu\text{g/mL}$, verificadas pelo ensaio do β -caroteno/ácido linoleico e suas equações de regressão estão descritas, respectivamente, nos gráficos 6, 7, 8, 9 e 10 (APÊNDICE C).

A habilidade em combater a oxidação casada no sistema β -caroteno/ácido linoleico dos OE de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol foram analisadas, obtendo-se os resultados de atividades antioxidantes médias, em suas maiores concentrações avaliadas, muito semelhantes para tomilho fresco (9,1%) e seco (9,6%), e maiores para o timol (19,4%) (Gráfico 6).

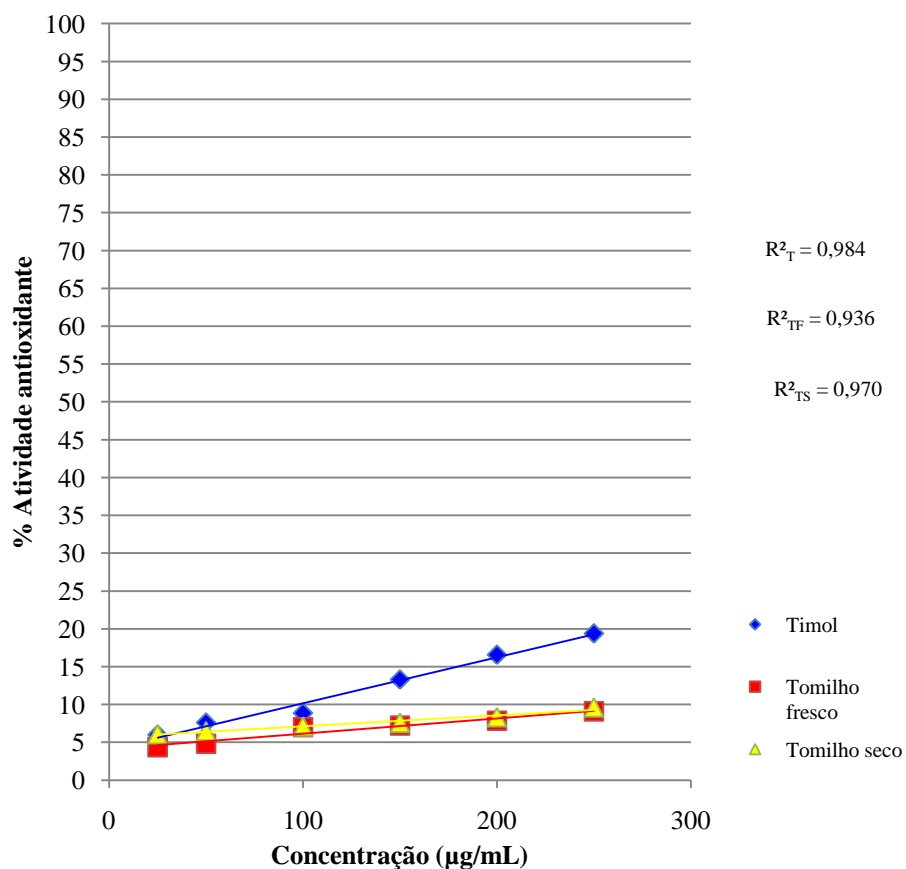


Gráfico 6 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Farag; Badel e El-Baroty (1989) avaliaram a atividade antioxidante de OE de cravo, cominho, alecrim, salsa e tomilho pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico e verificaram que a atividade antioxidante dos OE foi proporcional à concentração, o que é concordante com os dados deste experimento. Segundo os autores, para que o OE apresente atividade antioxidante, o componente principal deve possuir um anel fenólico com um grupo doador de elétrons na posição orto

à hidroxila; assim, os compostos fenólicos agem como doadores de hidrogênio e, dessa forma, a produção de hidroperóxidos é diminuída. Neste trabalho, foi observado que a formação de dienos conjugados é lenta, indicando que os óleos de cravo e o de tomilho agem como doadores de hidrogênio para radicais peróxil, retardando a autoxidação do ácido linoleico, por terminarem com a reação em cadeia.

Nos estudos de Kulisic et al. (2005), a composição dos compostos voláteis e a atividade antioxidante do OE de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e serpão (*Thymus serpyllum* L.) foram investigadas utilizando três métodos diferentes: sequestro do radical DPPH, espécies reativas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) e o método de branqueamento de β -caroteno, comparadas com α -tocoferol, ácido ascórbico, BHT e BHA. Como resultados, os OE de tomilho e de serpão apresentaram significativa atividade antioxidante *in vitro*, ao contrário do apresentado no presente experimento, em que as amostras de OE de tomilho fresco e seco apresentaram baixa atividade antioxidante, inferindo que mesmas espécies vegetais submetidas a diferentes condições de plantio, cultivo, armazenamento e secagem podem apresentar significativas diferenças em relação às suas propriedades antioxidantes

Em trabalhos realizados por Stoilova et al. (2008) com tomilho originário da Alemanha, verificou-se que o OE dessa planta apresentou atividade antioxidante em um sistema composto de uma emulsão de β -caroteno /ácido linoleico. Esses pesquisadores observaram que a uma concentração de 0,05%, o OE causou inibição de 59,5% de formação de dienos conjugados e 72,4% de inibição da geração de produtos oxidados secundários de ácido linoleico, resultados muito superiores aos encontrados nesta pesquisa.

A análise comparativa da atividade antirradical de OE extraídos de folhas frescas e secas de capim-limão e do padrão citral demonstraram perfil de atividade muito semelhante para o padrão e folhas frescas, com atividades

antioxidantes médias, em sua maior concentração analisada de 11,7 e 9,0%, respectivamente. Já para a folha seca, esses valores alcançaram 19,8% (Gráfico 7).

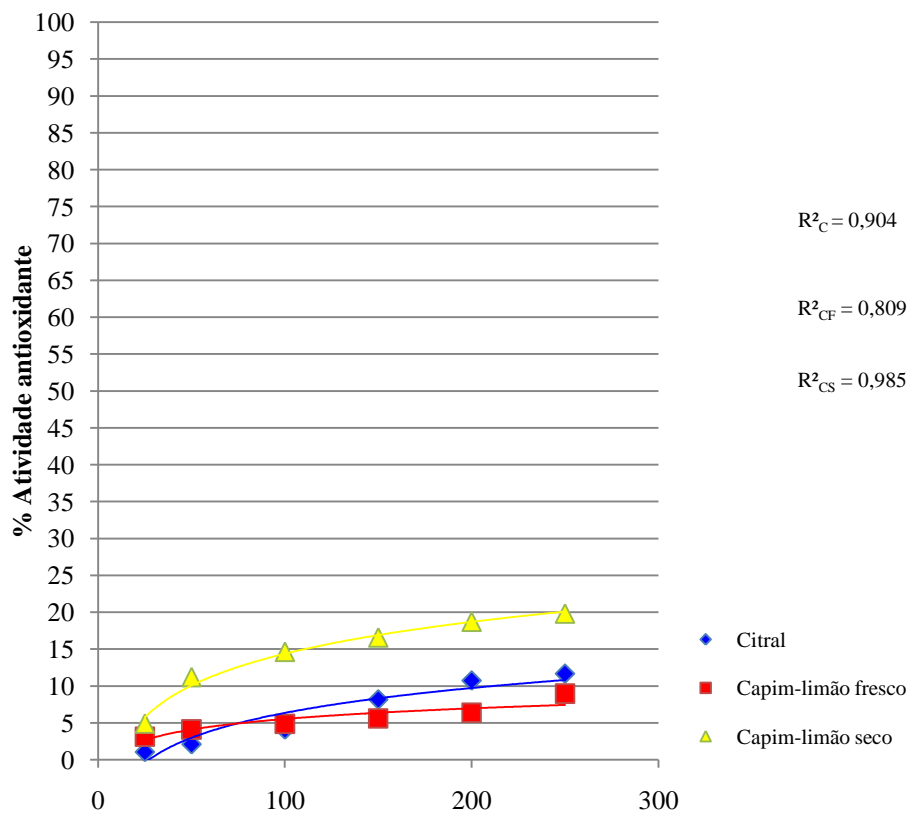


Gráfico 7 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Baratta et al. (1998) analisaram a composição química e a atividade antimicrobiana e antioxidante dos OE de *Cananga odorata*, *Boswellia thurifera*, *Cymbopogon citratus*, *Marjorana hortensis*, *Ocimum basilicum*, *Rosmarinus officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Citrus limon* e verificaram que os OE demonstraram capacidade antioxidante, comparáveis com α -tocoferol e BHT, empregando-se o método TBARS. Esses resultados diferem dos encontrados no presente experimento, em que se empregou a metodologia da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, obtendo-se como resultado uma eficiência antioxidante média do BHT, em sua maior concentração, de 76,2%, sendo esse valor muito superior às atividades antioxidantes médias apresentadas pelas amostras de OE de capim-limão em suas maiores concentrações analisadas.

No sistema do ácido linoleico, a oxidação do ácido linoleico foi efetivamente inibida pelos OE de folhas frescas e secas de alfavaca e pelo eugenol. As amostras obtidas de folhas secas apresentaram os maiores percentuais de atividade antioxidante, sendo acompanhadas posteriormente pelas folhas frescas e, uma atividade um pouco inferior foi encontrada para o padrão eugenol. Os materiais analisados mostraram atividade média superiores a 50% em suas maiores concentrações analisadas, o que demonstra grande relevância dos OE de alfavaca no potencial combate aos radicais livres (Gráfico 8).

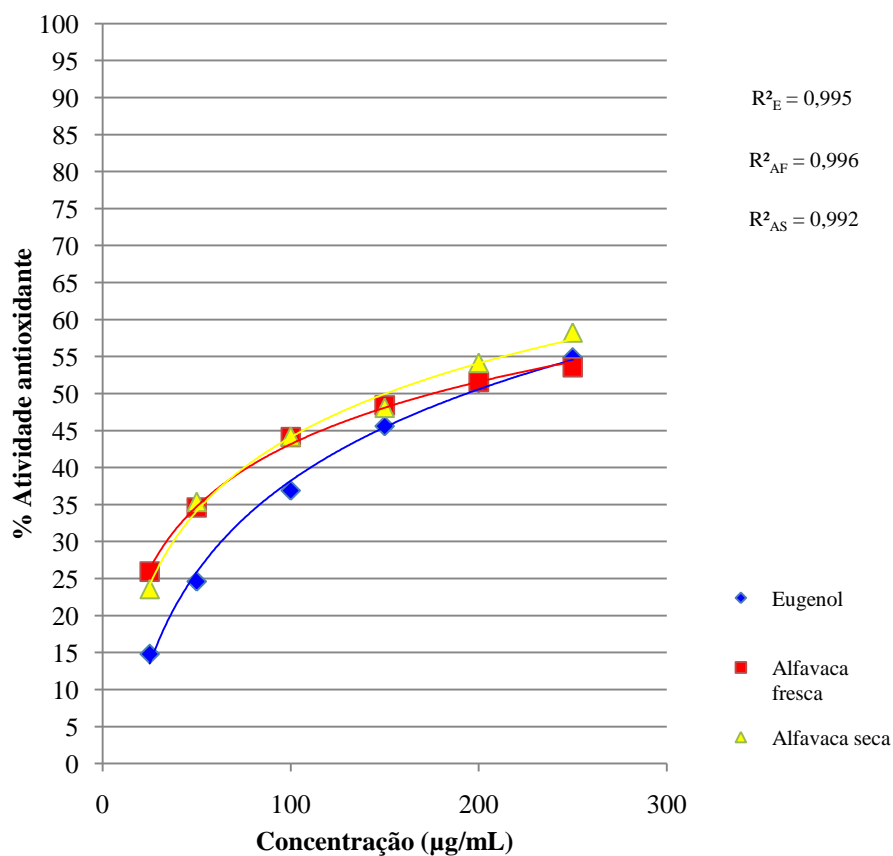


Gráfico 8 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e do padrão eugenol, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Os resultados encontrados corroboram com aqueles verificados por Pereira e Maia (2007), sobre atividade antioxidante de extratos e OE extraídos de alfavaca. Nesta pesquisa, o extrato bruto e o OE foram capazes de inibir a oxidação do ácido linoleico, quando avaliados pelo método do tiocianato férrico, comprovando o potencial da alfavaca como fonte de antioxidantes naturais.

Além disso, a substância ativa do extrato bruto, responsável pela atividade antioxidante, foi isolada, identificada e caracterizada como eugenol, que também foi identificado como principal componente (53,90%) do OE dessa planta.

Esses dados são concordantes com aqueles obtidos por Oya; Osawa e Kawakishi (1997), que estudaram alguns componentes de temperos quanto à sua propriedade de sequestrar radicais livres. Entre os muitos componentes estudados, o eugenol mostrou ser o de maior capacidade para sequestrar radicais livres, devido ao grupo hidroxil fenólico.

Os OE provenientes de folhas frescas e secas de manjeriço e o padrão linalol apresentaram pouca eficiência no combate à oxidação casada do sistema β -caroteno/ácido linoleico, uma vez que suas atividades antioxidantes médias não ultrapassaram 5,5%, em sua maior concentração (Gráfico 9).

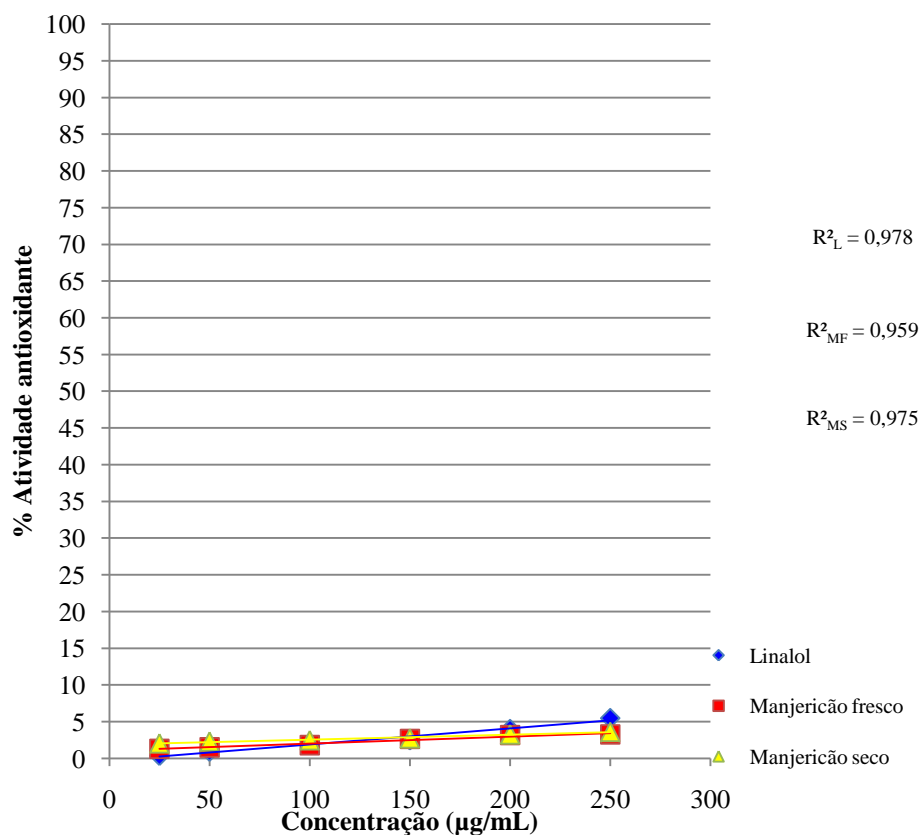


Gráfico 9 Análise comparativa entre as atividades antioxidante de OE de folhas frescas e secas de manjericão e do padrão linalol, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Lee et al. (2005), analisando a constituição química dos OE de tomilho e manjericão e suas propriedades antioxidantes, verificaram uma variedade de compostos com essa função. Em particular o eugenol, timol, carvacrol e 4-alilfenol, encontrados em manjericão e tomilho, apresentaram potente atividade antioxidante, em comparação aos antioxidantes BHT e α -tocoferol. Os

resultados encontrados por Lee et al. (2005) são discordantes com os encontrados neste experimento, visto que as capacidades antioxidantes das amostras testadas foram inferiores à capacidade antioxidante do BHT avaliada (76,2% de atividade média em sua maior concentração)

Resultados diferentes também foram obtidos por Hussain et al. (2008). Esses, estudando a alteração da atividade antioxidante de OE de manjerição em virtude das diferentes estações, utilizando o método do clareamento do β -caroteno, verificaram que amostras de OE extraídas no inverno mostraram-se mais eficientes que BHT. Baseando-se nessa metodologia, a ordem de eficiência antioxidante dos OE foi: inverno > BHT > primavera > outono > verão > linalol. Apesar de as espécies vegetais do presente experimento terem sido colhidas no verão, apresentam baixa habilidade de combater aos radicais livres, em comparação ao estudo apresentado.

Os dados sobre a eficiência demonstrada pelos antioxidantes sintéticos em combater os radicais livres seguiram a seguinte ordem crescente de atividade média, em suas maiores concentrações avaliadas: ácido ascórbico (64,0%), BHT (76,2%) e BHA (81,1%) (Gráfico 10).

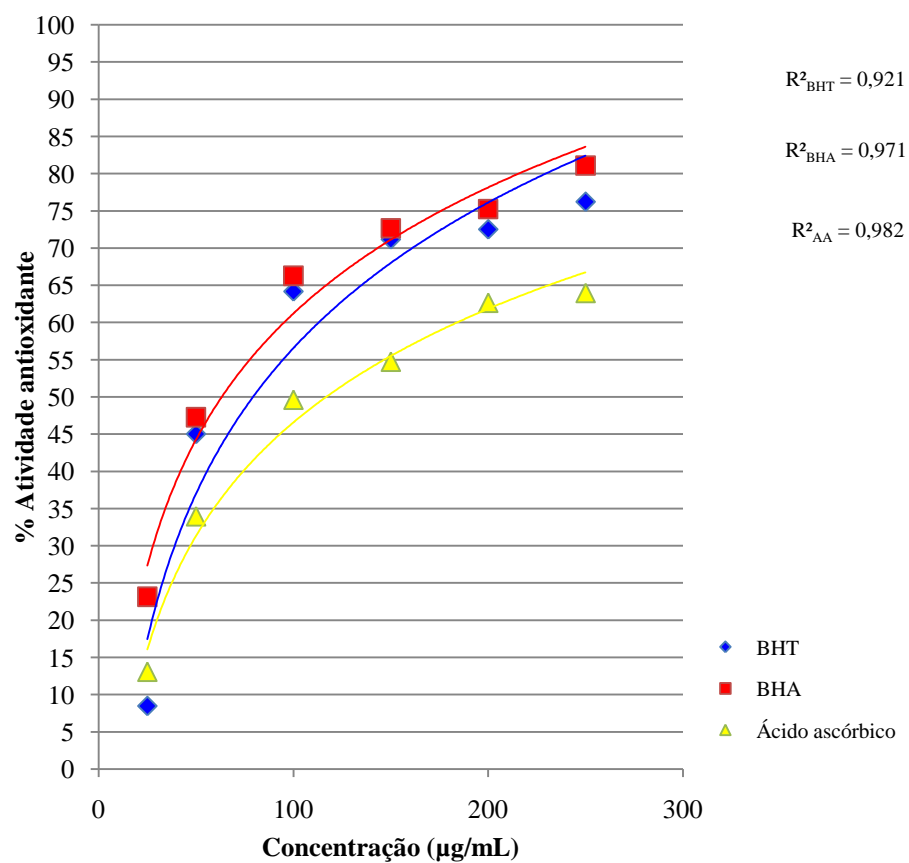


Gráfico 10 Análise comparativa entre as atividades antioxidante do BHT, BHA e ácido ascórbico, em função da concentração, pelo método da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Brasil segundo estimativas da CDB (Comissão de Diversidade Biológica), agrega entre 15 e 20% de toda a biodiversidade mundial, é considerado o maior do planeta em número de espécies endêmicas, possuindo 55 mil espécies de folhas. Assim como o Brasil, países com grande biodiversidade têm oportunidade de participar de mercados bilionários, como o farmacêutico, que movimenta cerca de 320 bilhões de dólares/ano (BARREIRO; BOLZANI, 2009; FUNARI; FERRO, 2005).

O genótipo, o modo de plantio, fatores edafoclimáticos, condições de colheita e pós-colheita, e, os diferentes modos de processamento, podem afetar a biossíntese dos antioxidantes e suas respectivas composição e constituição química. Portanto, faz-se necessária uma colaboração multidisciplinar, com a realização de estudos genéticos, para obter uma maior produção de agentes antioxidantes e o desenvolvimento de tecnologias como o nanoencapsulamento, que controlaria a incorporação ou a perda de antioxidantes e vitaminas, perspectivas de grande interesse na área. Os antioxidantes naturais, na maioria das vezes, apresentam capacidades antioxidantes menores do que as dos sintéticos, porém apresentam legislação mais flexível. Além disso, possuem toxicidade potencial, sendo necessária realização de estudos detalhados antes da possível aplicação em escala (OLIVEIRA et al., 2009).

Deste modo, esta linha de investigação desponta como área de interesse imediato para os mais diversos setores do conhecimento, pois envolve aspectos da química, nutrição, agronomia, biologia, estatística e medicina, entre outras, com objetivo de encontrar respostas para promoção da saúde das pessoas e melhoria da qualidade de vida (OLIVEIRA et al., 2009).

6 CONCLUSÕES

Os constituintes majoritários presentes nos OE das folhas frescas de *Thymus vulgaris* L., *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* L. e *Ocimum basilicum* L. foram o timol, p-cimeno e γ -terpineno; o geranial, neral e mirceno; eugenol, (γ)-muuruleno e (Z)- β -ocimeno; cineol, linalol e cânfora, respectivamente, ao passo que os das folhas secas foram o borneol, α -terpineol e carvacrol; o geranial, neral e mirceno; eugenol, (γ)-muuruleno e (Z)- β -ocimeno; metil chavicol, linalol e metil eugenol.

As diferentes metodologias utilizadas produziram diferentes intensidades de atividade antioxidante para uma mesma amostra, o que comprova a necessidade de se utilizarem diferentes metodologias para avaliar o potencial antioxidante de OE.

As amostras que apresentaram atividade antioxidante mais expressiva pela metodologia do sequestro de radicais DPPH, em ordem decrescente, foram: o padrão eugenol, OE de folhas frescas de alfavaca e OE de folhas secas de alfavaca. A eficiência antioxidante do eugenol é comparável à dos antioxidantes sintéticos BHA e ácido ascórbico, ao passo que as habilidades dos OE de folhas frescas e secas assemelham-se à do BHT.

Pelo método da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, as amostras que apresentaram maior atividade antioxidante foram OE de folhas secas de alfavaca, seguido do padrão eugenol e do OE de folhas frescas de alfavaca. Em comparação ao potencial antioxidante dos antioxidantes sintéticos, essas amostras apresentaram capacidades próximas ao ácido ascórbico e inferiores ao BHT e BHA.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy**. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2007. 804 p.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, jul./dez. 2006.

ASLLANI, U.; TOSKA, V. Chemical composition of Albanian thyme oil (*Thymus vulgaris* L.). **Journal of Essential Oil Research**, Winston-Salem, v. 15, n. 3, p. 165-167, May/June 2003.

BALLADIN, D. A; HEADLEY, O. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* L.) herbs. **Renewable Energy**, Brighton, v. 17, n. 3, p. 523-531, Mar. 1999.

BARATTA, M. T. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, United Kingdom, v. 13, n. 4, p. 235-244, Jul./Aug. 1998.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. D. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 679-688, maio/jun. 2009.

BARREIROS, A.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, jan./fev. 2006.

BIANCHI, M. de L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, ago. 1999.

BIASI, L. A. et al. Adubação orgânica na produção, rendimento e composição do óleo essencial da alfavaca quimiotipo eugenol. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 35-39, jan./mar. 2009.

BIZZO, H. R. et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, maio/jun. 2009.

BLANK, A. F. et al. Caracterização morfológica e agronômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 113-116, jan./mar. 2004.

BOZIN, B. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, n. 19, p. 7879-7885, Sept. 2007.

BOZIN, B. et al. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 5, p. 1822-1828, Mar. 2006.

CARVALHO FILHO, J. L. S. et al. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 1, p. 24-30, jan./mar. 2006.

CHALCHAT, J. C.; OZCAN, M. M. Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. **Food Chemistry**, Oxford, v. 110, n. 2, p. 501-503, Sept. 2008.

CHIZZOLA, R.; MICHITSCH, H.; FRANZ, C. Antioxidative properties of *Thymus vulgaris* leaves: comparison of different extracts and essential oil chemotypes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 56, n. 16, p. 6897-6904, Aug. 2008.

CHORILLI, M.; LEONARDI, G. R.; SALGADO, H. R. N. Radicais livres e antioxidantes: conceitos fundamentais para aplicação em formulações farmacêuticas e cosméticas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 88, n. 3, p. 113-118, jul./set. 2007.

CONTE, C. O. et al. Rendimento de óleo essencial de alfavaca por arraste à vapor em Clevenger, em diferentes formas de processamento das folhas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 4, p. 923-928, out./dez. 2001.

COSTA, L. C. do B. et al. Secagem e fragmentação da matéria seca no rendimento e composição do óleo essencial de capim-limão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 956-959, out./dez. 2005.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 2. ed. Ottawa: J. Wiley, 2002. 507 p.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema beta-caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, abr./jun. 2006.

FALEIRO, L. et al. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 21, p. 8162-8168, Oct. 2005.

FARAG, R. S.; ALI, M. N.; TAHA, S. H. Use of some essential oils as natural preservatives for butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 68, n. 3, p. 188-191, Mar. 1990.

FARAG, R. S.; BADEL, A. Z. M. A.; EL BAROTY, G. S. A. Influence of thyme and clove essential oils on cottonseed oil oxidation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v. 66, n. 6, p. 800-804, Jun. 1989.

FERNANDES, P. C. et al. Cultivo de manjeriço em hidroponia e em diferentes substratos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 260-264, abr./jun. 2004.

FERRARI, R. A.; SOUZA, W. L. de. Avaliação da estabilidade oxidativa de biodiesel de óleo de girassol com antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 106-111, jan./fev. 2009.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 4.2. Lavras: DEX/UFLA, 2003. 79 p.

FUMAGALI, E. et al. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 4, p. 627-641, out./dez. 2008.

FUNARI, C. S.; FERRO, V. O. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 15, n. 2, p.178-182, abr./jun. 2005.

GACHKAR, L. et al. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry**, Oxford, v. 102, n. 3, p. 898-904, Jun. 2007.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 374-381, mar./abr. 2007.

GUERRA, N. B.; LAJOLO, F. M. Ação antioxidante de especiarias face diferentes atividades de água. **Ciência e Tecnologia Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 1, p. 45-50, jan./mar. 2005.

GUIMARAES, L. G. de L. et al. Influência de luz e temperatura na oxidação de óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf). **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 6, p. 1476-1480, nov./dez. 2008.

HUSSAIN, A. I. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, Oxford, v. 108, n. 3, p. 986-995, June 2008.

JIROVETZ, L. et al. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 17, p. 6303-6307, Aug. 2006.

KULISIC, T. et al. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, Oxford, v. 85, n. 4, p. 633-640, May 2004.

KULISIC, T.; RADONIC, A.; MILOS, M. Antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) essential oils. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 17, n. 3, p. 315-324, Mar. 2005.

LEE, S. J. et al. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Oxford, v. 91, n. 1, p. 131-137, June 2005.

LOPES-LUTZ, D. et al. Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. **Phytochemistry**, Egham, v. 69, n. 8, p. 1732-1738, May 2008.

LUZ, J. M. Q.; EHLERT, P. A. D.; INNECCO, R. Horário de colheita e tempo de secagem da alfavaca-cravo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 4, p. 539-542, out./dez. 2009.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Atividade antioxidante de extratos de semente de limão (*Citrus limon*) adicionadas ao óleo de soja em teste de estocagem acelerada. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 946-949, jul./ago. 2009.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: antioxidantes naturais da família Lamiaceae. Aplicação em produtos alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 2, p. 96-103, abr./jun. 2007.

MENUT, C. et al. Aromatic plants of tropical West Africa. XI. Chemical composition, antioxidant and antiradical properties of the essential oils of three *Cymbopogon* species from Burkina Faso. **Journal of Essential Oil Research**, Washington, v. 12, n. 2, p. 207-212, Mar./Apr. 2000.

MORAIS, S. M. de et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 19, n. 1, p. 315-320, jan./mar. 2009.

NAKAMURA, C. V. et al. Antibacterial activity of *Ocimum gratissimum* L. essential oil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 5, p. 675-678, set. 1999.

OLIVEIRA, A. C. de et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 689-702, maio/jun. 2009.

OYA, T.; OSAWA, T.; KAWAKISHI, S. Spice constituents scavenging free radicals and inhibiting pentosidine formation in a model system. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, Tokyo v. 61, n. 2, p. 263-266, Mar./Apr. 1997.

PEREIRA, C. A. M.; MAIA, J. F. Estudo da atividade antioxidante do extrato e do óleo essencial obtidos das folhas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 624-632, jul./set. 2007.

PIMENTEL, F. A. et al. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 373-375, mar./apr. 2006.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes usados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755-760, jul./ago. 2006.

ROVER JÚNIOR, L. et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 112-119, jan./fev. 2001.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chemistry**, Oxford, v. 69, n. 2, p. 167-174, May 2000.

SACCHETTI, G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, Oxford, v. 91, n. 4, p. 621-632, Aug. 2005.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007. 1104 p.

SOARES, R. D. et al. Influência da temperatura e velocidade do ar na secagem de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) com relação aos teores de óleos essenciais e de linalol. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1108-1113, ago. 2007.

SOUSA, C. M. de M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 351-355, mar./abr. 2007.

STOILOVA, I. et al. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of an essential oil of *Thymus vulgaris* L. from Germany. **Natural Product Communications**, Westerville, v. 3, n. 7, p. 1047-1050, Mar. 2008.

TEPE, B. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). **Food Chemistry**, Oxford, v. 90, n. 3, p. 333-340, May 2005.

TOMAINO, A. et al. Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. **Food Chemistry**, Oxford, v. 89, n. 4, p. 549-554, Mar. 2005.

TREVISAN, M. T. S. et al. Characterization of the volatile pattern and antioxidant capacity of essential oils from different species of the genus *Ocimum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 12, p. 4378-4382, June 2006.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 519-528, maio/jun. 2005.

VENSKUTONIS, P. R.; POLL, L.; LARSEN, M. Influence of drying and irradiation on the composition of volatile compounds of thyme (*Thymus vulgaris* L). **Flavour and Fragrance Journal**, United Kingdom, v. 11, n. 2, p. 123-128, Dec. 1996.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. da S. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 326-337, mar./abr. 2006.

VIEIRA, R. F.; SIMON, J. E. Chemical characterization of basil (*Ocimum spp.*) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic Botany**, New York, v. 54, n. 2, p. 207-216, Apr. 2000.

WANG, W. et al. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. **Food Chemistry**, Oxford, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, June 2008.

ZOGHBI, M. D. B. et al. Variation in volatiles of *Ocimum campechianum* Mill. and *Ocimum gratissimum* L. cultivated in the North of Brazil. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, Dehradun, v. 10, n. 3, p. 229-240, May/June 2007.

APÊNDICE A

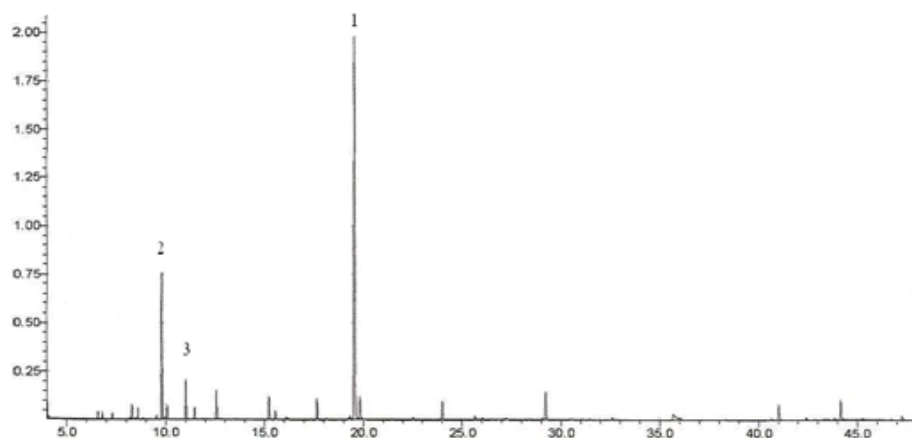


Figura 1A Cromatograma do OE de folhas frescas de *Thymus vulgaris* L. e seus constituintes majoritários: (1) timol, (2) p-cimeno, (3) γ -terpineno

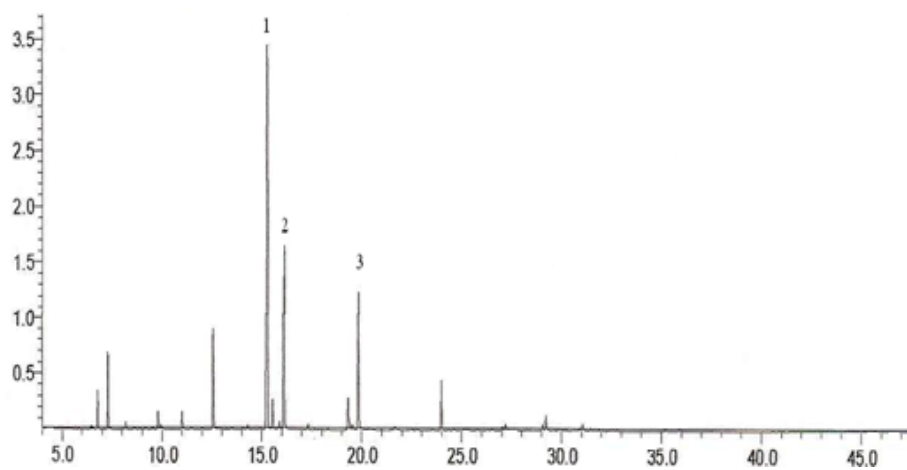


Figura 2A Cromatograma do OE de folhas secas de *Thymus vulgaris* L. e seus constituintes majoritários: (1) borneol, (2) α -terpineol, (3) carvacrol

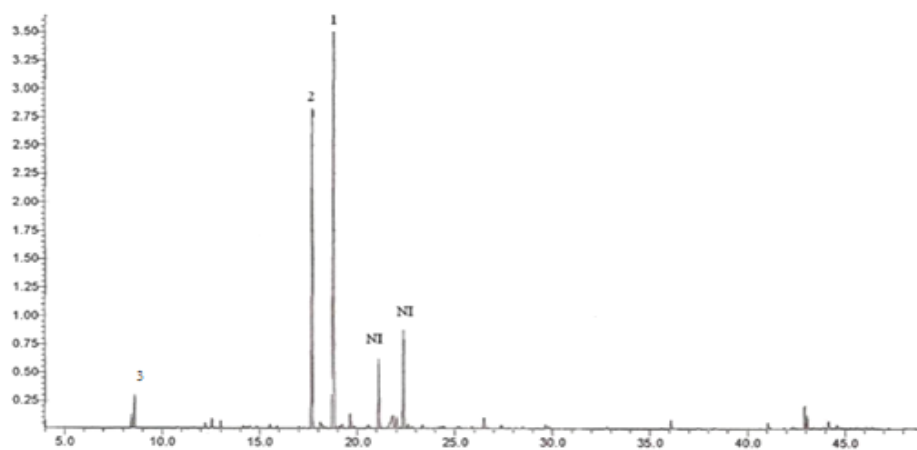


Figura3A Cromatograma do OE de folhas frescas de *Cymbopogon citratus* e seus constituintes majoritários: (1) geranial, (2) neral, (3) mirceno e NI (constituente não identificado)

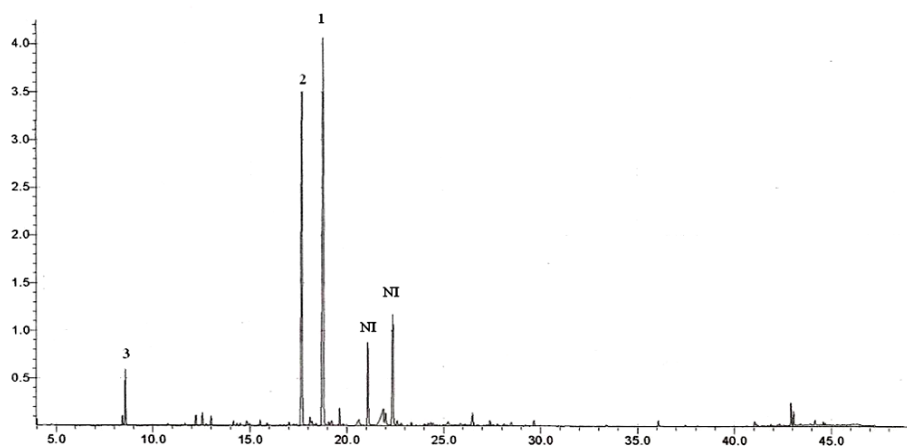


Figura4A Cromatograma do OE de folhas secas de *Cymbopogon citratus* e seus constituintes majoritários: (1) geranial, (2) neral, (3) mirceno e NI (constituente não identificado)

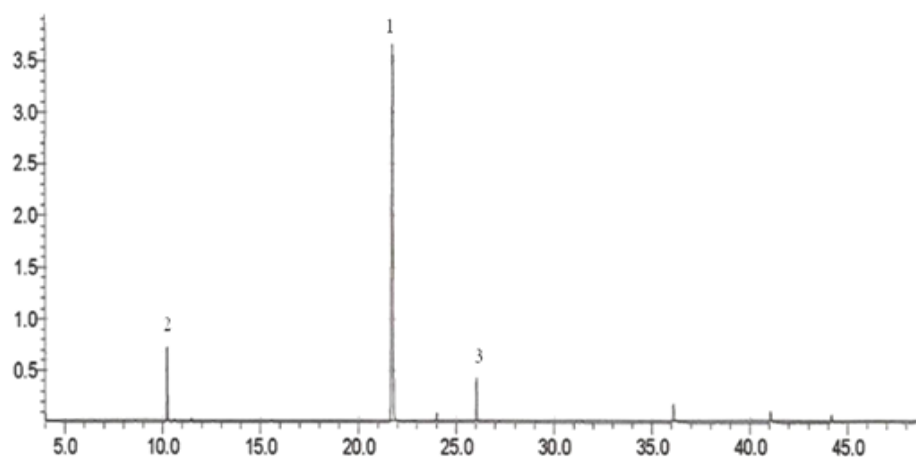


Figura 5A Cromatograma do OE de folhas frescas de *Ocimum gratissimum* L. e seus constituintes majoritários: (1) eugenol, (2) (Z)- β -ocimeno e (3) (γ)-muuruleno

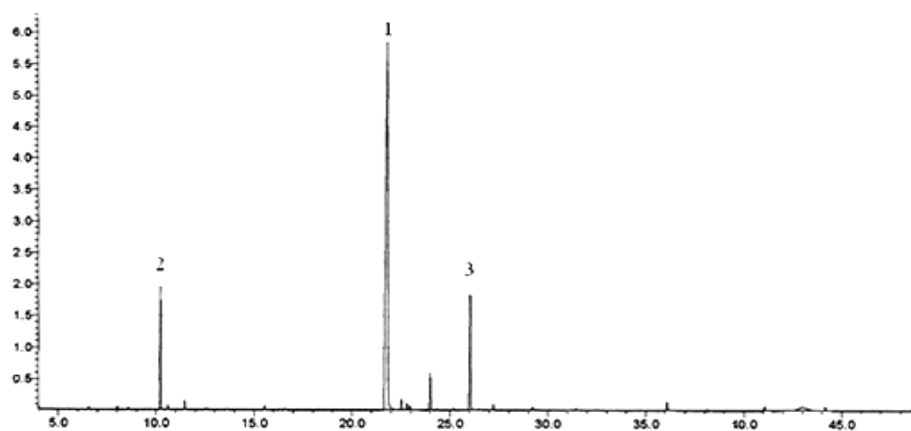


Figura 6A Cromatograma do OE de folhas secas de *Ocimum gratissimum* L. e seus constituintes majoritários: (1) eugenol, (2) (Z)- β -ocimeno e (3) (γ)-muuruleno

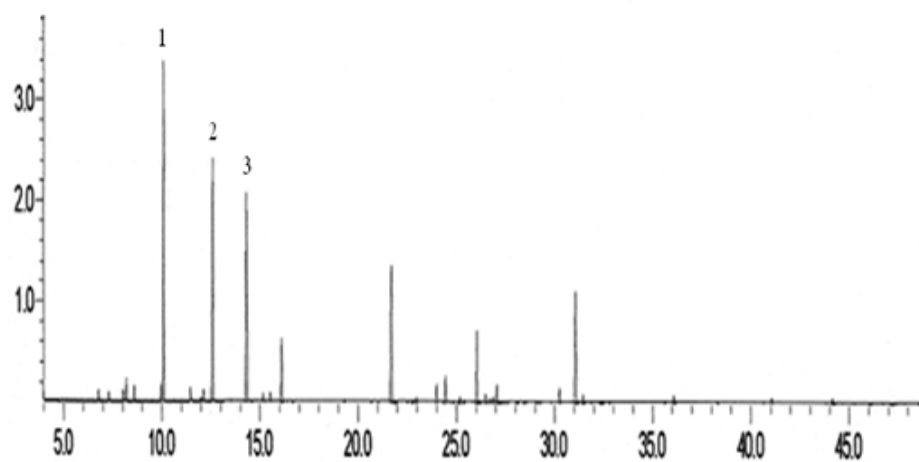


Figura7A Cromatograma do OE de folhas frescas de *Ocimum basilicum* L. e seus constituintes majoritários: (1) cineol, (2) linalol, (3) cânfora

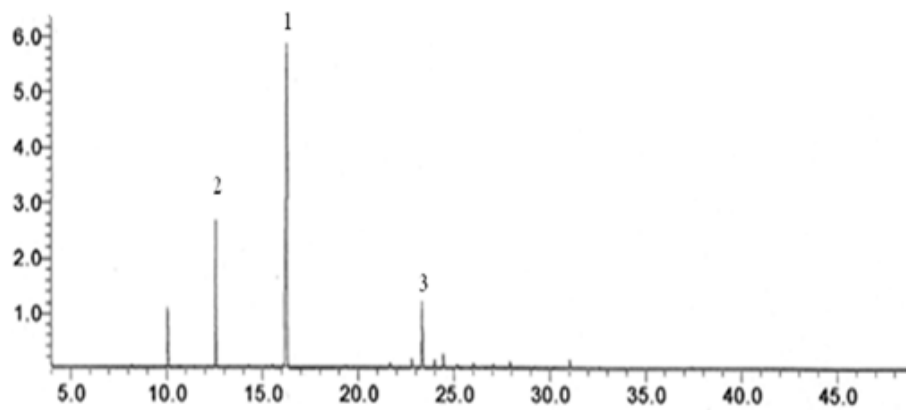


Figura 8A Cromatograma do OE de folhas secas de *Ocimum basilicum* L. e seus constituintes majoritários: (1) metil chavicol, (2) linalol, (3) metil eugenol

APÊNDICE B

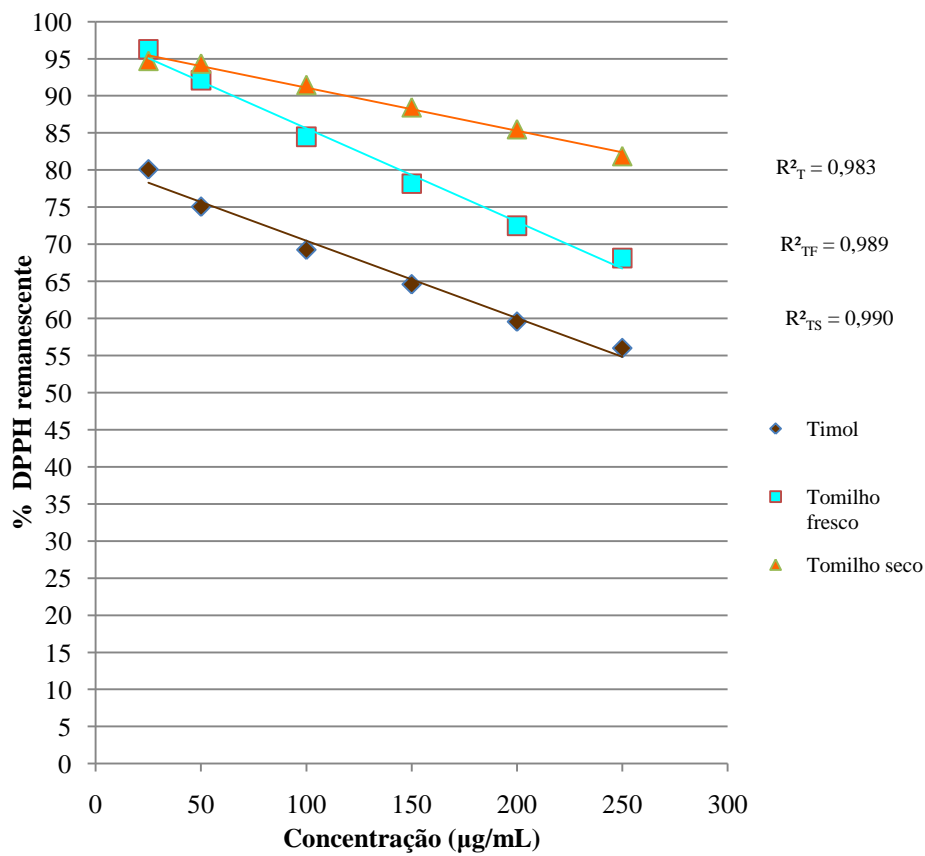


Gráfico 1B Análise comparativa entre atividade antioxidante expressa em % DPPH remanescente, em função das concentrações de OE de folhas frescas e secas de tomilho e padrão timol, obtidas pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

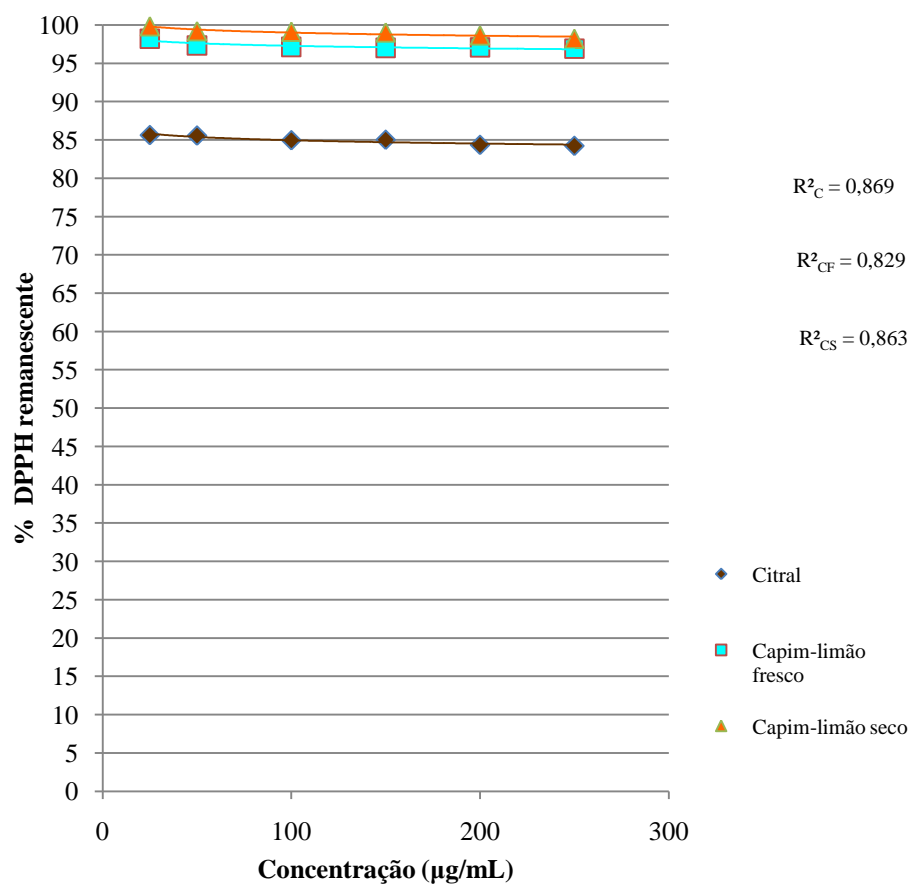


Gráfico 2B Análise comparativa entre atividade antioxidante expressa em % DPPH remanescente, em função das concentrações de OE de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, obtidas pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

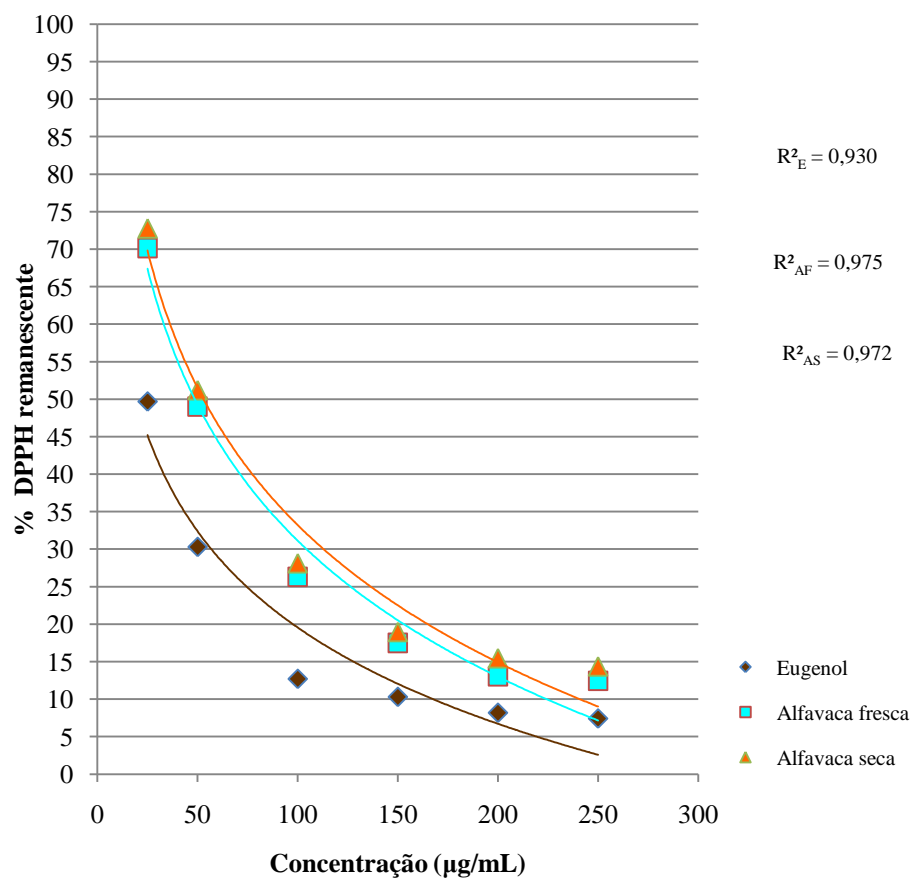


Gráfico 3B Análise comparativa entre atividade antioxidante expressa em % DPPH remanescente, em função das concentrações de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e padrão eugenol, obtidas pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

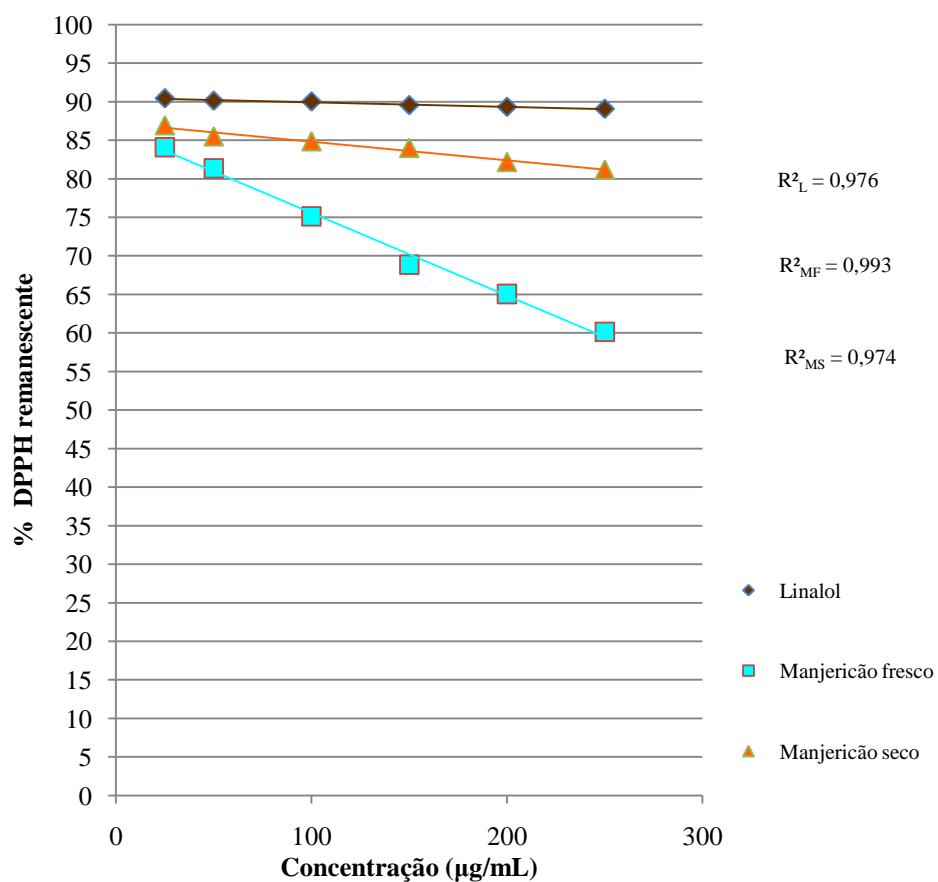


Gráfico 4B Análise comparativa entre atividade antioxidante expressa em % DPPH remanescente, em função das concentrações de OE de folhas frescas e secas de manjeriço e padrão linalol, obtidas pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

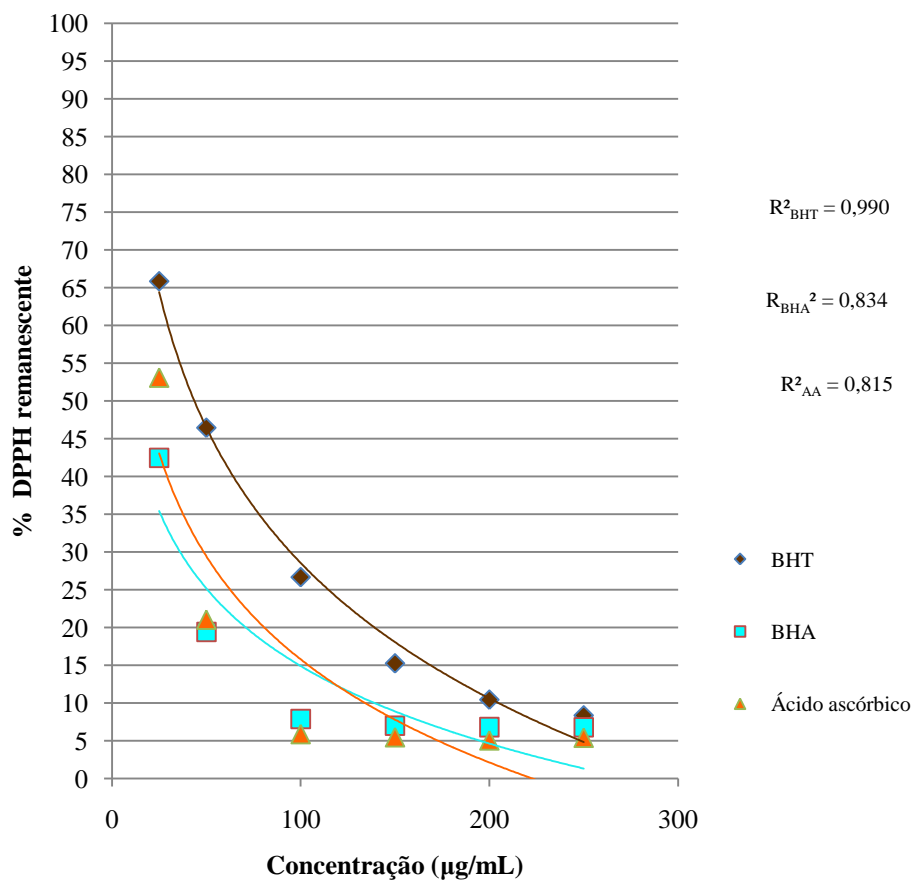


Gráfico 5B Análise comparativa entre atividade antioxidante expressa em % DPPH remanescente, em função das concentrações de BHT, BHA e ácido ascórbico, obtidas pela metodologia do sequestro de radicais DPPH

Tabela 1B Equações de linhas de tendências e valores de R^2 dos gráficos das porcentagens de radicais DPPH remanescentes, após reação em virtude das diferentes concentrações das amostras submetidas ao ensaio de captura de radicais DPPH

Amostra	Equação linha tendência	R^2
BHT	$y = -25,81 \ln(x) + 147,6$	0,990
BHA	$y = -14,81 \ln(x) + 83,11$	0,834
Ácido Ascórbico	$y = -19,61 \ln(x) + 106,4$	0,815
OE Tomilho fresco	$y = -0,125x + 98,2$	0,989
OE Tomilho seco	$y = -0,058x + 96,89$	0,990
Padrão Timol	$y = -0,104x + 80,91$	0,983
OE Capim-limão fresco	$y = -0,48 \ln(x) + 99,51$	0,829
OE Capim-limão seco	$y = -0,58 \ln(x) + 101,6$	0,863
Padrão Citral	$y = -0,621 \ln(x) + 87,82$	0,869
OE Alfavaca fresca	$y = -26,1 \ln(x) + 151,6$	0,975
OE Alfavaca seca	$y = -26,4 \ln(x) + 154,8$	0,972
Padrão Eugenol	$y = -18,5 \ln(x) + 104,8$	0,930
OE Manjeriçã fresco	$y = -0,107x + 86,29$	0,993
OE Manjeriçã seco	$y = -0,024x + 87,24$	0,974
Padrão Linalol	$y = -0,006x + 90,52$	0,976

APÊNDICE C

Tabela 1C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de tomilho e do padrão timol, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

AA(%)			
Concentração (µg/mL)	OE folhas frescas tomilho	OE folhas secas tomilho	Padrão Timol
25	5,20 a	2,50 a	8,10 a
50	9,30 b	2,87 a	13,97 b
100	16,93 c	5,87 b	20,67 c
150	23,17 d	9,00 c	26,03 d
200	28,80 e	12,07 d	31,83 e
250	33,13 f	15,83 e	35,97 e
CV (%)	3,30	10,45	8,22

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 2C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de capim-limão e do padrão citral, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas capim- limão	OE folhas secas capim-limão	Padrão Citral
25	3,10 a	0,77 a	2,47 a
50	3,97 b	1,63 b	2,53 a
100	4,17 b c	1,70 b	3,23 a b
150	4,30 b c	1,80 b	3,17 a b
200	4,23 b c	2,20 b c	3,97 b
250	4,40 c	2,67 c	4,10 b
CV (%)	3,36	14,57	13,65

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 3C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e padrão eugenol, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas alfavaca	OE folhas secas alfavaca	Padrão Eugenol
25	35,83 a	24,60 a	43,00 a
50	55,37 b	47,13 b	65,57 a
100	76,30 c	71,33 c	86,03 b
150	84,43 d	80,90 d	88,80 b c
200	88,57 e	84,50 e	91,30 c d
250	89,13 e	85,63 e	92,20 d
CV (%)	0,53	0,93	1,47

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 4C Análises dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de manjeriço e padrão linalol, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas manjeriço	OE folhas secas manjeriço	Padrão Linalol
25	4,63 a	2,77 a	0,23 a
50	7,80 b	4,40 a b	0,60 a
100	14,93 c	5,13 b	0,70 a
150	22,07 d	6,10 b c	1,27 b
200	26,43 e	8,13 c d	1,50 b
250	32,00 f	9,27 d	1,77 b
CV (%)	6,07	12,49	20,19

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 5C Análise dos percentuais de atividade antioxidante dos compostos sintéticos: BHT, BHA e ácido ascórbico, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	AA(%)		
	BHT	BHA	Ácido ascórbico
25	25,60 a	52,03 a	33,87 a
50	47,73 a	78,47 a	74,30 a
100	70,33 a	91,70 b	93,40 b
150	83,33 a	92,70 b	93,93 b
200	88,83 b	92,90 b	94,43 b
250	91,20 b	92,93 b	94,00 b
CV (%)	2,52	2,33	2,30

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 6C Análise das porcentagens de DPPH remanescentes de OE de folhas frescas e secas de tomilho e padrão timol obtidos, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH remanescente(%)		
	OE folhas frescas tomilho	OE folhas secas tomilho	Padrão Timol
25	96,30 a	94,70 a	80,07 a
50	92,13 b	94,33 a	75,03 b
100	84,47 c	91,43 b	69,23 c
150	78,17 d	88,47 c	64,60 d
200	72,50 e	85,47 d	59,57 e
250	68,17 f	81,87 e	56,00 e
CV (%)	0,78	0,91	2,37

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 7C Análise das porcentagens de DPPH remanescentes de OE de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH remanescente(%)		
	OE folhas frescas capim-limão	OE folhas secas capim-limão	Padrão Citral
25	98,20 a	99,83 a	85,57 a
50	97,33 b	99,17 b	85,60 a
100	97,10 b c	99,10 b	84,97 a b
150	97,01 b c	99,00 b c	85,03 a b
200	97,03 b c	98,60 c d	84,33 b
250	96,93 c	98,17 d	84,20 b
CV (%)	0,13	0,17	0,47

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 8C Análise das porcentagens de DPPH remanescentes de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e padrão eugenol, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

DPPH remanescente(%)			
Concentração (µg/mL)	OE folhas frescas alfavaca	OE folhas secas alfavaca	Padrão Eugenol
25	70,17 a	72,77 a	49,67 a
50	48,97 a	51,23 a	30,30 a
100	26,30 a	28,17 a	12,67 b
150	17,50 a	18,93 a	10,30 b c
200	13,07 b	15,50 b	8,20 c d
250	12,47 b	14,37 b	7,40 d
CV (%)	1,40	1,77	4,99

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 9C Análise das porcentagens de DPPH remanescentes de OE de folhas frescas e secas de manjeriço e padrão linalol, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH remanescente(%)		
	OE folhas frescas manjeriço	OE folhas secas manjeriço	Padrão Linalol
25	84,07 a	86,93 a	90,47 a
50	81,33 b	85,50 a b	90,13 a
100	75,13 c	84,87 b	90,03 a
150	68,87 d	83,97 b c	89,53 b
200	65,07 e	82,17 c d	89,30 b c
250	60,10 f	81,20 d	89,03 c
CV (%)	1,32	0,79	0,2

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 10C Análise das porcentagens de DPPH remanescentes de controles positivos: BHT, BHA e ácido ascórbico, em função de suas diferentes concentrações, obtidas pelo método da captura de radicais DPPH

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH remanescente(%)		
	BHT	BHA	Ácido ascórbico
25	65,83 a	42,47 a	53,01 a
50	46,43 a	19,40 a	21,03 a
100	26,63 a	7,90 b	5,93 b
150	15,23 a	7,00 b	5,50 b
200	10,47 b	6,80 b	5,07 b
250	8,37 b	6,77 b	5,40 b
CV (%)	5,17	11,27	9,13

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 11C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de tomilho e padrão timol, em função de suas diferentes concentrações, obtidos pela metodologia da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas tomilho	OE folhas secas tomilho	Padrão Timol
25	4,37 a	6,10 a	5,97 a
50	4,83 a	6,50 a b	7,60 a b
100	7,03 b	7,10 b c	8,87 b
150	7,20 b	7,57 c d	13,30 c
200	7,83 b c	8,30 d	16,57 d
250	9,10 c	9,67 e	19,37 e
CV (%)	8,28	4,55	7,25

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 12C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de capim-limão e padrão citral, em função de suas diferentes concentrações, obtidos pela metodologia da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas capim- limão	OE folhas secas capim-limão	Padrão Citral
25	3,27 a	4,90 a	1,03 a
50	4,10 a b	11,20 a	2,13 a b
100	4,87 a b	14,63 b	4,07 b
150	5,63 a b	16,60 b c	8,13 c
200	6,37 b	18,70 c d	10,73 d
250	8,97 c	19,80 d	11,63 d
CV (%)	16,06	7,99	12,44

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 13C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de alfavaca e padrão eugenol, em função de suas diferentes concentrações, obtidos pela metodologia da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas alfavaca	OE folhas secas alfavaca	Padrão Eugenol
25	25,93 a	23,60 a	14,80 a
50	34,60 b	35,37 b	24,60 b
100	44,13 c	44,23 c	36,90 c
150	48,40 d	48,10 d	45,57 d
200	51,57 e	54,17 e	51,40 e
250	53,53 e	58,27 f	54,87 e
CV (%)	2,25	2,93	4,47

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 14C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de OE de folhas frescas e secas de manjeriço e padrão linalol, em função de suas diferentes concentrações, obtidos pela metodologia da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

AA(%)			
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	OE folhas frescas manjeriço	OE folhas secas manjeriço	Padrão Linalol
25	1,33 a	2,07 a	0,37 a
50	1,50 a	2,30 a	0,93 a
100	1,77 a	2,50 a b	1,87 b
150	2,63 b	2,70 a b	2,47 b
200	3,17 b c	3,27 b c	4,00 c
250	3,27 c	3,60 c	5,50 d
CV (%)	10,09	10,40	12,98

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 15C Análise dos percentuais de atividades antioxidantes de compostos sintéticos: BHT, BHA e ácido ascórbico, em função de suas diferentes concentrações, obtidos pela metodologia da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	AA(%)		
	BHT	BHA	Ácido ascórbico
25	8,43 a	23,17 a	13,07 a
50	45,00 a	47,27 a	33,93 b
100	64,20 b	66,30 a	49,60 c
150	71,20 b c	72,63 b	54,73 d
200	72,53 c	75,27 b	62,67 e
250	76,20 c	81,10 c	63,97 e
CV (%)	5,12	2,75	3,79

* Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra são iguais entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância

Tabela 16C Equações de linhas de tendências e valores de R^2 dos gráficos de percentuais de atividade antioxidante em função das diferentes concentrações das amostras submetidas ao ensaio de captura de radicais DPPH

Amostra	Equação linha tendência	R^2
BHT	$y = 29,52 \ln(x) - 67,79$	0,990
BHA	$y = 17,00 \ln(x) + 5,357$	0,833
Ácido Ascórbico	$y = 24,81 \ln(x) - 33,33$	0,815
OE Tomilho fresco	$y = 0,124x + 3,293$	0,989
OE Tomilho seco	$y = 0,060x + 0,218$	0,990
Padrão Timol	$y = 0,124x + 3,293$	0,989
OE Capim-limão fresco	$y = 0,483 \ln(x) + 1,81$	0,829
OE Capim-limão seco	$y = 0,669 \ln(x) - 1,268$	0,876
Padrão Citral	$y = 0,716 \ln(x) - 0,055$	0,869
OE Alfavaca fresca	$y = 24,16 \ln(x) - 39,41$	0,975
OE Alfavaca seca	$y = 37,60 \ln(x) - 61,14$	0,972
Padrão Eugenol	$y = 21,54 \ln(x) - 21,18$	0,930
OE Manjeriçã fresco	$y = 0,122x + 2,136$	0,993
OE Manjeriçã seco	$y = 0,027x + 2,448$	0,974
Padrão Linalol	$y = 0,006x + 0,157$	0,976

Tabela 17C Equações de linhas de tendências e valores de R^2 dos gráficos das porcentagens de atividade antioxidante em função das diferentes concentrações das amostras submetidas ao teste de oxidação casada do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Amostra	Equação linha tendência	R^2
BHT	$y = 28,21\ln(x) - 73,39$	0,921
BHA	$y = 24,44\ln(x) - 51,35$	0,971
Ácido Ascórbico	$y = 22,01\ln(x) - 54,80$	0,982
OE Tomilho fresco	$y = 0,020x + 4,122$	0,936
OE Tomilho seco	$y = 0,014x + 5,647$	0,970
Padrão Timol	$y = 0,060x + 4,097$	0,984
OE Capim-limão fresco	$y = 2,075\ln(x) - 4,036$	0,809
OE Capim-limão seco	$y = 6,226\ln(x) - 14,3$	0,985
Padrão Citral	$y = 4,868\ln(x) - 16,07$	0,904
OE Alfavaca fresca	$y = 12,16\ln(x) - 12,85$	0,996
OE Alfavaca seca	$y = 14,41\ln(x) - 22,28$	0,992
Padrão Eugenol	$y = 17,83 \ln(x) - 43,90$	0,995
OE Manjeriçã fresco	$y = 0,009x + 1,033$	0,959
OE Manjeriçã seco	$y = 0,006x + 1,869$	0,975
Padrão Linalol	$y = 0,021x - 0,315$	0,978

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)