ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E AVALIAÇÃO DO TEMPO DE EXTRAÇÃO NO RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE Lippia gracillis SCHAU

Vitória Stéphanie Leonardo BARBOSA (1); Adonias Barreto de PAIVA (2); Amanda Karine Albuquerque FÉLIX (3); Sofia Suely Ferreira Brandão RODRIGUES (4); Enayde de Almeida de MELO (5).

- (1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: barbosa.vitoria1@gmail.com;
- (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: adonias_b_paiva@hotmail.com;
- (3) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: amanda.karineqi@gmail.com;
- (4) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife-PE, 50.740-540, e-mail: sofiabrandaorodrigues@gmail.com;
- (5) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife-PE, 52.171-900, e-mail: eamelo@dcd.ufrpe.br.

RESUMO

O alecrim-de-serrote ou alecrim-da-chapada, Lippia gracillis Schau, é uma espécie endêmica da Caatinga e distribui-se amplamente dentro da região. Suas folhas são ricas em um óleo essencial, que apresenta o timol e o carvacrol como compostos majoritários, os quais são compostos fenólicos e, por isso, podem conferir ao óleo propriedades antioxidantes. Produtos naturais, como o óleo essencial de Lippia gracillis Schau, ganham vantagem nesse mercado, por terem baixa toxicidade. O óleo essencial em estudo foi extraído por hidrodestilação em sistema de Clevenger adaptado, em diferentes tempos (trinta, sessenta, noventa e cento e vinte minutos). As extrações, a uma mesma pressão, de 30, 60, 90 e 120 minutos obtiveram rendimentos médios de 2,8312%; 3,0104%; 4, 2735% e 5, 4346%, respectivamente e índices de refrações de 1,5100; 1,5080; 1,4957 e 1,4095, respectivamente. O aumento do rendimento em função do aumento do tempo de extração pode ser explicado pelo tempo de difusidade dos compostos na matriz sólida. A variação nos índices de refração indica uma possível relação do tempo de extração com este parâmetro, que pode ter ocorrido pela alteração na composição química do óleo essencial, obtidos em diferentes tempos. Este trabalho visou analisar também a atividade antioxidante do óleo essencial de L. gracillis, coletada em junho de 2009 em Serra Talhada - PE, segundo os métodos abaixo, acompanhados de seus respectivos resultados: Capacidade de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) (0,2mg de OE/mL - 40% de sequestro do radical DPPH, 0,5 mg de OE/mL - 60% de sequestro do radical DPPH, 1,0 mg de OE/mL -79% de sequestro do radical DPPH), Capacidade de sequestro do radical livre 2,2'-azino-bis-3etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS•+) (17,96 mMol trolox.g-1) e Inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico (44% de inibição da oxidação). Estes métodos são frequentemente utilizados para determinar a atividade antioxidante de espécies vegetais. Os compostos bioativos presentes no óleo essencial de alecrim de chapada atuam de forma moderada como seqüestradores de radicais, tanto doando hidrogênio como doando elétrons, bem como retardando a oxidação do ácido linoléico. O estudo da atividade antioxidante foi, portanto, de extrema importância para dispor novas possibilidades de alternativas aos antioxidantes sintéticos.

Palavras-chave: *Lippia gracillis* Schau, óleo essencial, atividade antioxidante, rendimento, índice de refração.

1 INTRODUÇÃO

Os Óleos Essenciais são substâncias voláteis contidas em vários órgãos das plantas aromáticas. Essas substâncias orgânicas estão associadas a várias funções necessárias à sobrevivência do vegetal, como: defesa

contra microrganismos, predadores, para atrair insetos e outros agentes fecundadores (SIANI et al., 2000, p.38).

Segundo Craveiro *et al.* (1993) uma característica importante dos óleos essenciais é a volatilidade de seus constituintes, uma propriedade derivada do processo de obtenção que geralmente é o arraste do material vegetal com vapor de água, método utilizado neste trabalho.

Como a técnica de extração do óleo essencial, em função de suas variáveis (tempo de extração, pressão de vapor, solvente, entre outros), pode influenciar no seu rendimento, muitos trabalhos são encontrados na literatura, comparando diferentes técnicas de extração em relação a estes parâmetros (STASHENKO *et al.*, 2004, p.94).

A maioria dos óleos essenciais possui índice de refração específico e são opticamente ativos, propriedades utilizadas na sua identificação e controle de qualidade (SIMÕES e SPITZER, 2004).

O alecrim-de-serrote ou alecrim-da-chapada, *Lippia gracillis* Schau (família Verbenaceae), trata-se de um arbusto, com até 2,5 m de altura, pouco ramificado, de folhas pequenas e flores brancas, ambas bastante odoríferas. A planta possui grande resistência à seca e às altas temperaturas, somente perdendo as folhas após um longo período de estiagem. Suas folhas são bastante usadas nas infecções da garganta e da boca, em problemas vaginais e no tratamento da acne, panos brancos, empingens e caspa (MATOS, 1999). São ricas em um óleo essencial, que apresenta forte ação antimicrobiana contra fungos e bactérias, devido à presença dos monoterpenos aromáticos isoméricos carvacrol e timol (Figura 1). O timol e o carvacrol são compostos fenólicos e, por isso, também conferem ao óleo essencial do alecrim da chapada propriedades antioxidantes (THOMPSON *et al.*, 2003).

Figura 1: Carvacrol e Timol, componentes majoritários do óleo essencial de L. gracillis Schau.

A maioria dos compostos com propriedade antioxidante possui uma base molecular semelhante, ou seja, pelo menos um anel aromático e um grupo hidroxila, incluindo os ácidos fenólicos, flavonóides e isoflavonas, ésteres de galato (taninos hidrolisáveis), ligninas, coumarinas, estilbenos, flavononas e protoantocianidinas oligoméricas. Juntos, estes compostos produzem um arranjo de antioxidantes que pode agir por diferentes mecanismos para conferir um sistema de defesa efetivo contra o ataque dos radicais livres (SHAHIDI, 1997). Vale ressaltar que a atividade antioxidante varia de acordo com o tipo de composto e sua concentração (SILVA *et al.*, 1999).

Os objetivos do presente trabalho foram avaliar o efeito do tempo de extração sobre o rendimento e o índice de refração do óleo essencial de *Lippia gracillis* Schau bem como analisar a atividade antioxidante deste óleo, segundo os métodos: capacidade de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•), capacidade de seqüestrar o radical ABTS•+ e inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A autoxidação, forma mais comum de oxidação lipídica de produtos alimentares, é um fenômeno puramente químico e bastante complexo, envolvendo reações radicalares que dependem do tipo de ação catalítica (temperatura, íons metálicos, radicais livres, pH). No decurso da seqüência reacional, classicamente dividida em iniciação, propagação e terminação, é possível distinguir três etapas de evolução oxidativa:

- 1. Desaparecimento dos substratos de oxidação (oxigênio, lipídio insaturado);
- 2. Aparecimento dos produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos), cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes;

3. Aparecimento dos produtos secundários de oxidação, obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis), cuja natureza e proporção dependem de diversos parâmetros. (SILVA *et al.*, 1999).

Os antioxidantes são comumente usados para inibir, prevenir ou retardar a deterioração pela oxidação, podendo atuar na redução dos radicais livres (antioxidante primário) ou por um mecanismo que não envolve a redução direta dos radicais livres (antioxidante secundário). Os antioxidantes primários, como os compostos fenólicos, serão consumidos durante a fase de iniciação. Os antioxidantes secundários, como o ácido ascórbico e o ácido cítrico, irão atuar por uma variedade de mecanismos incluindo a ligação com íons metálicos, a redução de oxigênio, a conversão de hidroperóxidos a espécies não-radicais, a absorção de radiação ultravioleta ou a desativação do oxigênio singlete (MARIUTTI et al., 2007).

Os antioxidantes podem definir-se como substâncias que, numa concentração consideravelmente menor que a do substrato oxidável, retardam o ranço oxidativo, diminuindo a velocidade da reação ou prolongando o seu período de indução (fenômeno estequiométrico, onde ocorre o aparecimento repentino de uma espécie após o consumo total de um reagente de uma segunda reação que é mais rápida) (SILVA *et al.*, 1999).

A capacidade antioxidante dos condimentos está relacionada aos seus compostos fenólicos. Desta forma, sua ação será semelhante a dos compostos sintéticos, ou seja, interrompendo a cadeia de radicais livres na etapa de iniciação do processo oxidativo (LAI *et al.*, 1991).

Os extratos de alecrim (Família Lamiaceae), sálvia, orégano e tomilho mostraram-se eficientes na inibição das fases do processo peroxidativo neutralizando radicais livres, bloqueando a peroxidação catalisada por ferro e interrompendo as reações em cadeia (EXARCHOU et al., 2002).

Existe uma grande variedade de testes para verificar a potencialidade dos componentes presentes nos condimentos e ervas aromáticas. Os métodos podem ser classificados em dois grupos: métodos que avaliam a habilidade de seqüestrar radicais livres e métodos que testam a habilidade de inibir a oxidação lipídica (MARIUTTI, L. R. B *et al.*, 2007). A quantificação do substrato, do agente oxidante, dos produtos intermediários ou dos produtos finais da oxidação pode ser usada para medir a atividade antioxidante (ANTOLOVICH *et al.*, 2002). No presente trabalho, utilizaram-se os métodos acima citados para determinar a atividade antioxidante do óleo essencial de *Lippia gracillis* Schau.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Coleta da planta

As folhas Alecrim da chapada foram coletadas no município de Serra Talhada – PE em junho de 2009. As folhas secaram naturalmente.

3.2 Extração

50g de folhas picadas de Alecrim da chapada foram postas em um balão de 5L com 2,5 L de água (solvente) e sujeitas a uma extração por hidrodestilação de sistema Clevenger adaptado (figura 1).

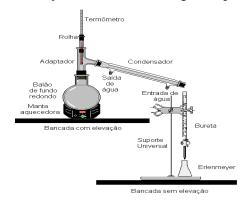


Figura 2: adaptação do sistema Clevenger.

Utilizou-se o banho refrigerado da Solab a 8º C para resfriar a água que circula no condensador. O óleo foi tratado com sulfato de sódio anidro e acondicionado em frascos de vidro âmbar hermeticamente fechados envoltos em papel alumínio e armazenados em freezer. As extrações foram realizadas em quatro períodos de tempo distintos (30, 60, 90, 120 minutos) e em triplicata. O rendimento do óleo essencial foi determinado em massa/massa (g de óleo por 100g de matéria seca) e a média referente a cada tempo foi calculada.

3.3 Índice de refração

O índice de refração foi determinado de acordo com a norma NBR 5785: Óleos Essenciais – determinação do índice de refração (ABNT, 1985).

Calibrou-se o refratômetro (modelo ABBE) com água ultra-pura. Com o refratômetro ajustado às condições experimentais, e temperaturas do óleo a 19°C, foram fechados os prismas que compõem o instrumento e realizada a leitura pela escala do aparelho. Os resultados foram corrigidos para essas condições experimentais e temperatura.

3.4 Atividade antioxidante

3.4.1 Capacidade de sequestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•)

A capacidade do óleo essencial de seqüestrar o radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH•) foi determinada utilizando o método descrito por Brand-Williams *et al.* (1995), modificado por Sánchez-Moreno *et al.* (1998). Três diferentes alíquotas de óleo essencial foram adicionadas à solução de DPPH• em metanol (0,1M), atingindo a concentração final de fenólicos totais de 200, 500 e 1000ppm, ou seja, a cada militro da solução de DPPH em metanol (0,1M) foram adicionados 0,2mg, 0,5 mg e 1 mg de óleo essencial. A absorbância a 515nm foi monitorada, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC) até a reação atingir o platô (momento onde a oxidação é máxima). A capacidade de seqüestrar o radical DPPH• foi expressa em percentual, calculada em relação ao controle (sem antioxidante).

A concentração do DPPH• remanescente no meio da reação foi calculada a partir da curva padrão do radical DPPH•, e o percentual de DPPH• remanescente (DPPH_{rem}%) de cada concentração de óleo essencial foi calculado utilizando a seguinte expressão:

%
$$DPPH_{REM} = DPPH_{t} / DPPH_{T=0} \times 100$$
 [Eq. 01]

Onde: DPPH $_{\rm t}$ é concentração do radical DPPH no tempo em que a reação atingiu o platô; DPPH $_{\rm T=0}$ é concentração inicial do DPPH (tempo 0 da reação).

Em seguida, a concentração do óleo essencial eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH• (EC₅₀) foi calculada a partir do gráfico da concentração da amostra (g de óleo essencial. g DPPH⁻¹) versus DPPH_{REM}%, cujo resultado foi expresso em g de óleo essencial por g de DPPH•. A eficiência antiradical (EA) foi calculada considerando o valor de EC₅₀ e o tempo em que foi atingido o EC₅₀ (T_{EC50}), conforme expressão abaixo:

$$EA=1/EC_{50}$$
. T_{EC50} [Eq. 02]

O comportamento cinético do óleo essencial foi classificado em rápido ($T_{EC50} < 5$ minutos), intermediário ($T_{EC50} = 5$ a 30 minutos) ou lento ($T_{EC50} > 30$ minutos), segundo o valor de T_{EC50} , e a eficiência anti-radical, em baixa (EA < 1), média (EA >1 e \leq 5), alta (EA >5 e \leq 10) ou super alta (EA >10) de acordo com o valor de EA (SÁNCHEZ-MORENO *et al.*, 1998).

Como termo de comparação foi utilizada a atividade antioxidante do antioxidante sintético BHT (butilhidroxitolueno) utilizando concentração final de 0,2mg. mL⁻¹, (concentração máxima permitida para alimentos – ANVISA 2010) determinada nas mesmas condições do ensaio acima descrito.

3.4.2 Capacidade de seqüestrar o radical ABTS⁺⁺

A capacidade de seqüestro do radical 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS^{•+}) foi determinada segundo o método descrito por RE *et al.* (1999). O radical ABTS^{•+} foi gerado a partir da reação

da solução aquosa de ABTS (7 mM) com 2,45 mM de persulfato de potássio. Esta solução foi mantida ao abrigo da luz, em temperatura ambiente por 16h. Em seguida, a solução do radical foi diluída em etanol até obter uma medida de absorbância de 0.7 ± 0.05 , em comprimento de onda de 734 nm. Diferentes concentrações do óleo essencial foram adicionadas à solução do ABTS $^{\bullet+}$, atingindo concentração final de 0.5; $1.0 \text{ e } 1.5 \text{mg. mL}^{-1}$, e a absorbância medida, após 6 minutos, em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1650PC). A capacidade antioxidante da amostra foi calculada em relação à atividade do antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), nas mesmas condições, e os resultados foram expressos em atividade antioxidante equivalente ao Trolox (μ Mol TEAC.g $^{-1}$ de óleo essencial).

3.4.3 Inibição da peroxidação do ácido linoléico - Método Tiocianato Férrico

A atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim de chapada foi determinada utilizando o método tiocianato férrico descrito por Jayaprakasha, Shigh e Sakariah (2001). A emulsão do ácido linoléico foi preparada homogeneizando 0,28g de ácido linoléico, 0,28g de Tween 20, como emulsificante, e 50mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0). Foram adicionados 2,75 mg do óleo essencial à mistura de 2,5mL da emulsão do ácido linoléico e 2,5mL tampão fosfato 0,2 M (pH 7,0), objetivando atingir uma concentração final do óleo essencial de 0,55mg. mL⁻¹. Esta mistura foi acondicionada em frasco de vidro âmbar, com tampa rosqueável, e encubada em estufa com circulação de ar a 50°C ± 1°C. Em período regular de tempo (a cada 28h, em média), 0,1 mL desta solução foi retirado e adicionado a 5 mL de etanol 75% (v/v), 0,1 mL de tiocianato de amônio 30% (p/v) e 0,1 mL de cloreto ferroso 0,02M em HC1 3,5%. Após, exatamente 3 minutos à temperatura ambiente (25 ± 2°C) foi medida a absorbância a 500nm, em espectrofotômetro Shimadzu UV-1650PC. O experimento foi encerrado no momento em que o controle (amostra sem adição de antioxidante) atingiu um valor máximo de absorbância. O grau da inibição da peroxidação do ácido linoléico foi calculado usando expressão algébrica:

% inibição = [absorbância média final do controle - absorbância média final da amostra] x100 [Eq. 03]

Absorbância média final do controle

Como termo de comparação foi utilizado à atividade antioxidante do antioxidante sintético BHT (butil-hidroxitolueno) utilizando concentração final de 0,2mg. mL⁻¹, (concentração máxima permitida para alimentos – ANVISA 2010) determinada nas mesmas condições do ensaio acima descrito.

3.5 Análises estatísticas

Todas as determinações foram efetuadas em triplicata, os dados obtidos submetidos à análise descritiva para obtenção de média e desvio padrão, e em seguida, submetidos à análise de variância e teste de Ducan (p<0,05) ou Teste t (teste de diferenças entre médias populacionais, para dados não pareados) (<0,05), utilizando o programa "Statistic for Windows".

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As extrações de 30, 60, 90 e 120 minutos obtiveram, a uma mesma pressão, rendimentos médios de 2,8312%; 3,0104%; 4, 2735% e 5, 4346%, respectivamente. Um tempo maior de extração acarretou na remoção de uma maior quantidade dos compostos solúveis da matriz, fato que se evidencia até o esgotamento dos materiais solúveis. Em Rocha (2006), observou-se situação parecida com os resultados de rendimentos de extratos de Vetiver obtidos por extração com CO₂ supercrítico, quando à mesma pressão em extrações de 30 e 150 minutos obtiveram rendimentos de 1,26% e 1,46%, respectivamente.

Índice de Refração é uma propriedade física útil na caracterização e identificação de líquidos, ou para indicar a sua pureza. A maioria dos óleos essenciais possui índice de refração específico e são opticamente ativos, propriedades utilizadas na sua identificação e controle de qualidade (SIMÕES e SPITZER, 2004). Os óleos essenciais obtidos nas extrações de 30, 60, 90 e 120 minutos apresentaram índices de refração de 1,5100; 1,5080; 1,4957 e 1,4095, respectivamente. Os resultados indicaram uma possível relação do tempo de extração com o índice de refração o que sugeriu uma variação nos valores em função da variação da composição química do óleo, obtido em diferentes tempos de extração.

A capacidade do óleo essencial de alecrim de chapada de seqüestrar o radical DPPH•, expressa em percentual, encontra-se apresentada na Figura 1. Os maiores percentuais de seqüestro foram obtidos com as maiores concentrações de óleo essencial, evidenciando-se que a capacidade do óleo essencial de seqüestrar o radical DPPH• tende a ser dose dependente, ou seja, quanto maior a concentração do óleo maior foi a sua atividade antioxidante. Segundo a classificação estabelecida por Melo *et al.* (2008) que considera como forte, moderada e fraca capacidade de seqüestro aquela que atingir o percentual de 70%, entre 50 e 70% e abaixo de 50%, respectivamente, pode-se constatar que a concentração de óleo essencial de 1,0mg. mL⁻¹ exibiu uma forte capacidade, pois aos 15 minutos de reação atingiu valor de 80,34%. No entanto, esta ação foi estatisticamente inferior a do antioxidante sintético BHT (>90%). O óleo essencial de *Vitex agnus castus* L. na concentração de 1,0mg. mL⁻¹ exibiu, aos 30 minutos de reação, capacidade de seqüestro do radial DPPH• de 1,38%, muito inferior ao resultado do BHT (92,68%) (SARIKURKCU *et al.*, 2009), como também da ação obtida no óleo essencial testado no presente trabalho.

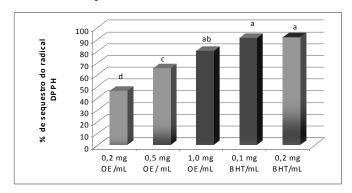


Figura 3: Capacidade de seqüestro do radical DPPH (%) do óleo essencial de alecrim de chapada (OE) comparada à solução de BHT aos 15 minutos da reação. (Os valores referem-se à média de três determinações. Médias seguidas por letras iguais, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Ducan p>0,05) [letras iguais não diferem estatisticamente pelo Teste de Ducan (p<0,05)].

O comportamento cinético e o poder anti-radical do óleo essencial de alecrim de chapada encontram-se na Tabela 1. Considerando que o valor EC_{50} é inversamente relacionado à atividade anti-radical, evidencia-se que o óleo essencial exibiu valor de EC_{50} superior ao do BHT, demonstrando que sua ação foi inferior a do antioxidante sintético. Como base na escala de classificação estabelecida por Sánchez-Moreno *et al.* (1998), descrita na metodologia deste trabalho, evidencia-se que o óleo essencial apresentou comportamento cinético intermediário ($T_{EC50} = 5$ a 30 minutos), reagindo mais lentamente com o radical DPPH \bullet do que o BHT. Quanto à eficiência anti-radical, evidencia-se que tanto o óleo essencial como o BHT exibiram valor de EA < 1, sendo, portanto, considerados de baixa eficiência anti-radical.

Tabela 1: Valores de EC_{50} , de T_{ec50} e classificação cinética e anti-radical de óleo essencial de alecrim de chapada.

*Amostras	EC ₅₀ (g. g DPPH• ⁻¹)	T _{EC50} (min)	Classificação cinética	EA	Classificação anti-radical
OE	$10,17\pm0,03^{a}$	$11,40\pm0,08^{a}$	Intermediário	$0,01^{a}$	Baixa
BHT	$1,50\pm0,15^{b}$	$1,95\pm0,22^{b}$	Rápido	$0,34^{a}$	Baixa

*Os valores referem-se à média \pm desvio padrão de três determinações. Médias seguidas por letras iguais, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Ducan (p>0,05). EC_{50} = concentração eficiente para diminuir em 50% a concentração inicial do DPPH; T_{EC50} = tempo necessário para atingir o valor de EC_{50} ; EA = eficiência anti-radical = $1/EC_{50}$. T_{EC50} .

A capacidade do óleo essencial de seqüestro do radical ABTS^{•+} encontra-se na Tabela 2. Elevados valores de TEAC demonstram elevada capacidade antioxidante, uma vez que a ação anti-radical está diretamente relacionada ao valor de TEAC. Evidencia-se, portanto, que o óleo essencial frente ao radical ABTS^{•+} apresentou ação antioxidante inferior a do BHT. A atividade anti-radical do óleo essencial do alecrim de chapada foi muito menor do que a exibida pelo óleo essencial de *Nigella sativa* L (2500μM. mg⁻¹), estudado por Erkan *et al.* (2008).

Tabela 2. Capacidade de seqüestro do radical livre ABTS^{•+} do óleo essencial de Alecrim da Chapada

Amostras	*Atividade antioxidante (mMol trolox.g ⁻¹).		
OE	17,96 ^b		
ВНТ	118,61 ^a		

O radical ABTS*+ é mais sensível do que o radical DPPH*, enquanto que este último envolve transferência de hidrogênio, a reação com o radical ABTS*+ está relacionada à transferência de elétrons (TUBA; GÜILÇIN, 2008). Desta forma, constatou-se que os compostos bioativos presentes no óleo essencial do alecrim de chapada apresentaram habilidade de seqüestrar radicais livres, através da doação de hidrogênio e de elétrons, no entanto esta ação pareceu não ser muito eficiente.

O efeito antioxidante do óleo essencial sobre a inibição da peroxidação do ácido linoléico foi avaliado por meio do método tiocianato férrico. Neste ensaio, os hidroperóxidos gerados durante a oxidação do ácido linoléico reagem com o sulfato ferroso, dando origem ao sulfato férrico e, em seguida, ao tiocianato férrico, de cor vermelho sangue, que é monitorado espectrofotometricamente. Na Figura 3, evidencia-se que a absorbância do sistema, com e sem antioxidante, aumentou ao longo do tempo de incubação, atingindo o controle (amostra sem adição de antioxidante), a 216h, o mais elevado valor, e em seguida ocorreu um decréscimo da densidade ótica, momento em que foi interrompido o ensaio. O óleo essencial exibiu 44% de inibição da oxidação, cuja ação foi inferior à demonstrada pelo BHT (79%). Constatou-se, portanto, que o óleo essencial apresentou baixa eficiência em inibir a oxidação em sistema lipídico.

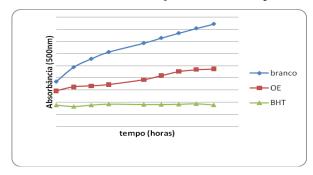


Figura 4: Atividade antioxidante do óleo essencial alecrim de chapada (0,550mg/mL), BHT (0,200mg/mL) em emulsão de ácido linoléico (método tiocianato férrico).

5 CONCLUSÕES

O aumento do rendimento em função do aumento do tempo de extração pode ser explicado pelo tempo de difusidade dos compostos na matriz sólida.

Os resultados obtidos pela determinação do índice de refração indicam uma possível relação do tempo de extração com a variação neste parâmetro, que pode ter ocorrido pela alteração na composição química do óleo, decorrente da sua obtenção em diferentes tempos de extração.

Os compostos bioativos presentes no óleo essencial de alecrim de chapada atuam de forma moderada como seqüestradores de radicais, tanto doando hidrogênio como doando elétrons, bem como retardando a oxidação do ácido linoléico.

6 AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Federal de Pernambuco pela concessão da bolsa PIBIC - TÉCNICO.

7 REFERÊNCIAS

ABNT. **NBR 5785**: Óleos Essenciais, determinação do índice de refração, método de ensaio, Rio de Janeiro, 2p, 1985b.

ANTOLOVICH, M., PRENZLER, P. D., PATSALIDES, E., McDONALD, S., ROBARDS, K. **Methods for testing antioxidant activity**. Analyst, Cambridge, v. 127, n.1, p. 183-198, 2002.

- **ANVISA** Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. RDA 64 de 16 de setembro de 2008. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>, acesso em 11/01/2010
- CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, W. G.; KUTNEY, J. P. Óleos essenciais e Químicos fina. Química nova 16 (3) 224-228, 1993.
- ERKAN, N.; AYRANCI, G.; AYRANCI, E. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officialis* L) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, v.110, p. 76-82, 2008.
- EXARCHOU, V., NENADIS, N.; TSIMIDOU, M.; GEROTHANASIS, I. P.; TROGANIS, A.; BOSKOU, D. **Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from Greek oregano, Greek sage and summer savory**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Washington, v. 50, n. 19, p. 5294-5299, 2002.
- JAYAPRAKASHA, G.K; SINGH, R.P; SAKARIAH. K.K. **Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro**. Food Chemistry, Washington, v. 73, n. 3, p. 285-290, 2001.
- LAI, S.; GRAY, J. I.; SMITH, D. M.; BOOREN, A. M.; CRACKEL, R. L.; BUCKLEY, D. J. Effects of oleoresin rosemary, tertiary butylhydroquinone, and sodium tripolyphosphate on the development of oxidative rancidity in restructured chicken nuggets. Journal of Food Science, Chicago, v. 56, n. 3, p. 616-620, 1991.
- MARIUTTI, L. R. B.; BRAGANOLO, N. **Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios**. São Paulo: Brazilian Journal of Food Technology, v. 10, n. 2, p. 96-103, abril/junho 2007.
- MATOS, F. J. A. Plantas da medicina popular do Nordeste. Fortaleza: Ed. UFC, 1999.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G. ARAÚJO, C. R. Teor de fenólicos totais e capacidade Antioxidante de polpas congeladas de frutas. Alimentos e Nutrição, Araraquara v.19, n.1, p. 67-72, 2008.
- RE, R. PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. **Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay**. Free Radical Biology and Medicine, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.
- ROCHA, G. N. Influência de variáveis de processo na composição do óleo de Vetiver obtido por extração supercrítica. *In*: V OKTOBER FÓRUM PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA, 1., 2006, Rio Grande do Sul. **Anais**...Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- SÁNCHEZ-MORENO, C., LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76, p.270–276, 1998.
- SARIKURKCU, C.; ARISOY, K.; TEPE, B.; CAKIR, A.; ABALI, G. Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of *Vitex agnus castus* L. fruits from Turkey. Food and Chemical Toxicology, v.47, n.9, p.2381-2388, 2009.
- SHAHIDI, F. **Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects and Applications**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 1997. 414 p.
- SIANI, A.C.; SAMPAIO, A. L.F.; SOUSA, M.C.; HENRIQUES, M.G.M.O.; RAMOS, M. F. S. **Óleos essenciais**. Biotecnologia: Ciência & desenvolvimento, n.16, p. 38-43, 2000.
- SILVA, F. A. M.; BORGE, M. F. M., FERREIRA, M. A. **Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante**. Química Nova, 1999.
- SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. 2004. Óleos voláteis. *In:* C.M.O. Simões, E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. de Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick eds. Farmacognosia da planta ao medicamento, 5ed. Florianópolis: Editora da UFSC, p. 397-425.
- STASHENKO, E.E.; JARAMILLO, B.E.; MARTÍNEZ, J.R. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. Journal of Chromatography A. v.125, n.1, p.93-103, 2004.
- TUBA, A.; GÜILÇIN, I. Antioxidant **and radical scavenging properties of curcumin**. Chemico-Biological Interactions, v. 174, n.1, p.27-37, 2008.