



ISSN: 1984-3151

CORRELAÇÃO ENTRE COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFICÁCIA ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS CONDIMENTARES POR ANÁLISE DE AGRUPAMENTOS HIERÁRQUICOS (HCA)

CORRELATION BETWEEN CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIOXIDANT EFFICACY OF ESSENTIAL OILS OF PLANTS CONDIMENTS BY HIERARCHICAL CLUSTER ANALYSIS (HCA)

**Cíntia Alvarenga Santos Fraga de Miranda¹; Maria das Graças Cardoso²; Samísia Maria
Fernandes Machado³; Marcos de Sousa Gomes⁴; Juliana de Andrade⁵; Maria Luisa
Teixeira⁶**

- 1 Doutora em Ciências em Agroquímica. DQI/UFLA, 2013. Pós Doutoranda da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. cintiafmiranda@yahoo.com.br.
- 2 Doutora em Química. DQI/UFMG, 1995. Professora Associada do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. mcardoso@dqi.ufla.br.
- 3 Doutora em Ciências. UNICAMP, 2002. Professora Associada do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe - UFS. Aracaju, MG. samisiamachado@yahoo.com.br.
- 4 Mestre em Ciências em Agroquímica. DQI/UFLA, 2010. Doutoranda da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. marcosopg@yahoo.com.br.
- 5 Mestre em Ciências em Agroquímica. DQI/UFLA, 2012. Doutoranda da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. juandrade_quimica@yahoo.com.br.
- 6 Mestre em Ciências em Agroquímica. DQI/UFLA, 2012. Doutoranda da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Lavras, MG. teixeira_ml@hotmail.com.br.

Recebido em: 20/04/2014 - Aprovado em: 20/04/2014 - Disponibilizado em: 31/05/25014

RESUMO: Óleos essenciais extraídos de ervas e especiarias empregadas para realçar as características sensoriais dos alimentos têm sido testados quanto às características antioxidantes, ganhando 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. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivos analisar a composição química de óleos essenciais extraídos de folhas frescas de tomilho, capim-limão, alfavaca e manjeriço, suas atividades antioxidantes pelas metodologias do sequestro dos radicais DPPH e da inibição da oxidação do sistema do β -caroteno/ácido linoleico. Foram avaliados os potenciais antioxidantes dos padrões dos constituintes majoritários dos referidos óleos essenciais timol, citral, eugenol e linalol, respectivamente, usando-se como controles positivos os antioxidantes sintéticos ácido ascórbico, BHA e BHT. Adicionalmente, objetivou-se correlacionar as composições químicas e concentração de 50% de inibição (CI_{50}) dos referidos óleos essenciais por meio da análise de agrupamentos hierárquicos (HCA). Os constituintes majoritários presentes nos óleos

essenciais das folhas frescas de tomilho, capim-limão, alfavaca e manjeriço são o timol, p-cimeno e γ -terpineno; o geranial, neral e mirceno; eugenol, (γ)-muuruleno e (cis)- β -ocimeno; cineol, linalol e cânfora, respectivamente. As amostras com atividades antioxidantes mais expressivas são o eugenol e o óleo essencial de alfavaca. Utilizando-se a HCA, observa-se que os óleos essenciais e seus respectivos padrões se agrupam devido à similaridade quanto às quantidades de fenilpropanoides e monoterpenos. Este estudo pode ser importante para encontrar e analisar novos compostos de origem natural que permitam inibir a oxidação.

PALAVRAS-CHAVE: *Thymus vulgaris* L.. *Cymbopogon citratus*. *Ocimum gratissimum* L.. *Ocimum basilicum* L.. Óleos voláteis. Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA).

ABSTRACT: The essential oils extracted from herbs and spices have been used to accentuate the sensory characteristics of food and these oils have been tested for antioxidant properties since they have gained great importance due to the natural product status, the worldwide acceptance by consumers and the potential multifunctional application. In this work we have aimed to analyze the chemical composition of essential oils extracted from fresh leaves of thyme, lemon grass, wild basil and sweet basil. In addition, we have also interested to test the antioxidant activity by different methodologies such as kidnapping of radical DPPH, oxidation of β -carotene and linoleic acid system. We tested the antioxidant activities of one of the standard major constituents e.g. thymol, citral, eugenol and linalool using as positive controls the synthetic antioxidant ascorbic acid, BHA and BHT. Additionally, we correlated the chemical composition and the concentration of 50% inhibition (IC_{50}) of these essential oils through hierarchical cluster analysis (HCA). The major constituents in essential oils of fresh leaves of thyme, lemon grass, wild basil and sweet basil are thymol, p-cymene and γ -terpinen; geranial, neral and myrcene; eugenol, (γ)-muuruleno and (Z)- β -ocimene; cineol, linalool and camphor, respectively. The samples which show higher antioxidant activities are the eugenol and the essential oil of wild basil. Using the HCA, it is observed essential oils and their standards are grouped due to similarity in the quantities of monoterpenes and phenylpropanoids. This study might be important to find and to analyze new compounds of natural origin which will enable to inhibit oxidation.

KEYWORDS: *Thymus vulgaris* L.. *Cymbopogon citratus*. *Ocimum gratissimum* L.. *Ocimum basilicum* L.. Volatile oils. Hierarchical Cluster Analysis (HCA).

1 INTRODUÇÃO

No passado, a maioria dos óleos essenciais, metabólitos secundários de plantas, era estudada apenas no aspecto do aroma e da química das fragrâncias somente em alimentos aromáticos e bebidas. Atualmente, os óleos essenciais e seus constituintes têm ganhado maior destaque devido à sua posição como produto natural, grande aceitação pelos consumidores, potencial de uso multifuncional e aos riscos potenciais dos aditivos sintéticos. De fato, muitos estudos têm relatado propriedades antioxidantes de óleos essenciais, referindo-os como potenciais substitutos para os antioxidantes sintéticos e, em alguns casos, sugerindo-os para uma aplicação direta em alimentos, lavouras, produtos farmacêuticos e cosméticos (ANDRADE *et al.*, 2012).

Entre as plantas produtoras de óleos essenciais, existe 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 a estes, além da finalidade de conservação, devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes (MORAIS *et al.*, 2009). Entre essas, o tomilho (*Thymus vulgaris* L.), o capim-limão (*Cymbopogon citratus*), a alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.) e o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) são especiarias de grande utilização e interesse funcional.

Em muitos experimentos químicos, devido ao grande número de variáveis avaliadas, a sua redução auxilia na interpretação dos resultados de forma mais objetiva, extraindo informações mais relevantes. A redução dessas variáveis pode ser conseguida por meio da construção de agrupamentos entre as amostras de acordo com sua similaridade, representando-a de forma bidimensional por meio de

um dendograma. A análise de agrupamento hierárquico (HCA) é um método importante na verificação multivariada dos dados. Nessa técnica, a similaridade entre duas amostras pode ser expressa como uma função da distância entre dois pontos representativos de uma dessas no espaço n -dimensional. As associações dessas amostragens produzem os dendogramas, em que os fragmentos semelhantes, segundo as variáveis escolhidas, são agrupados entre si. Em resumo, quanto menor a distância entre os pontos, maior a semelhança entre amostras (M. NETO; MOITA, 1998).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar as composições químicas de óleos essenciais extraídos de folhas frescas de tomilho, capim-limão, alfavaca e manjeriço, suas atividades antioxidantes pelas metodologias do sequestro dos radicais DPPH e da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico, comparando-os aos padrões de um de seus constituintes majoritários timol, citral, eugenol e linalol, respectivamente. Como controles positivos foram usados os antioxidantes sintéticos ácido ascórbico, BHA (butil-hidroxi-anisol), BHT (butil-hidroxi-tolueno). Adicionalmente objetivou-se avaliar a influência das classes de constituintes químicos dos óleos essenciais sobre suas eficiências no combate aos radicais livres e correlacionar às concentrações inibitórias de 50% (CI_{50}) por meio da análise de agrupamentos hierárquicos (HCA).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 MATERIAL E MÉTODOS

2.1.1 OBTENÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

As espécies vegetais selecionadas foram coletadas no município de Lavras, Minas Gerais, no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal de Lavras, no mês de novembro do ano de 2010. As exsiccatas de identificação botânica de *Thymus*

vulgaris L., *Cymbopogon citratus*, *Ocimum gratissimum* L. e *Ocimum basilicum* L., estão depositadas no Herbário ESAL na Universidade Federal de Lavras (UFLA), sob os registros de numeração 17057, 18409, 07045 e 18406, respectivamente. As plantas foram coletadas no início da manhã de dias quentes, sem precipitação, e as partes utilizadas foram folhas jovens, ausentes de injúrias, de plantas adultas no estágio de floração plena. As extrações dos óleos essenciais das folhas frescas dos vegetais foram realizadas por hidrodestilação, utilizando-se aparelho de Clevenger modificado, conforme metodologia descrita por Miranda *et al.* (2014).

2.1.2 CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

A avaliação qualitativa do óleo essencial foi realizada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM - Shimadzu, modelo QP 5050A), sob as seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5 (0,25 μ m de espessura de filme); He como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL min^{-1} , temperatura programada para manutenção de 50°C por 1,5 min, seguida de um aumento de 4°C min^{-1} até atingir 200°C, depois a 10°C até atingir 250 °C, mantendo-se constante esta temperatura por 5 min.; temperatura do injetor de 250 °C e temperatura do detector (ou interface) de 280°C. O volume da amostra injetada foi de 0,5 μ L em acetato de etila; taxa de partição do volume injetado de 1:100 e a pressão na coluna de 64.20 kPa. As condições do espectrômetro de massas foram: detector de varredura 1.000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos e fragmentos detectados na faixa de 40 a 500 Da. A identificação dos constituintes foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da literatura (ADAMS, 2007). Para o índice de retenção foi utilizada

a equação de Van den Dool e Kratz, 1963, em relação à série homóloga de n-alcenos (nC_8 - nC_{18}) e fazendo extrapolação para C_{19} e C_{20} . Também foram utilizadas duas bibliotecas do equipamento (NIST107 e NIST21) que permitem a comparação dos dados dos espectros com aqueles existentes nas bibliotecas.

Na avaliação quantitativa, utilizou-se um cromatógrafo gasoso Shimadzu CG-17A equipado com detector por ionização de chama (DIC) nas seguintes condições experimentais: coluna capilar DB5; programação da coluna: temperatura inicial de 40°C até 240°C; temperatura do injetor: 220°C; temperatura de detector: 240°C; gás carreador: nitrogênio (2,2 mL min⁻¹); taxa de split 1:10; volume injetado: 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 KPa, sendo a quantificação de cada constituinte obtida por meio de normalização de áreas (%) (GOMES *et al.*, 2014).

2.1.3 ENSAIOS DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os padrões de um dos constituintes majoritários dos óleos essenciais empregados nas determinações da atividade antioxidante foram o timol (Acros Organics, 99% de pureza), citral (Aldrich Chemical Company, 95% de pureza), eugenol (Aldrich Chemical Company, 99% de pureza) e linalol (Merck, 97% de pureza). Os antioxidantes sintéticos, como o ácido ascórbico (VETEC), BHA (Acros Organics) e BHT (SUPELCO), foram utilizados como controles positivos. Todas as análises foram realizadas em triplicata, sendo calculada a média dos resultados.

2.1.3.1 ANÁLISE QUANTITATIVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO CONSUMO DO RADICAL LIVRE DPPH

Este ensaio foi realizado de acordo com metodologia descrita por Sousa *et al.* (2007), com algumas

modificações. Preparou-se uma solução estoque de DPPH em metanol na concentração de 40 µg mL⁻¹. As amostras foram diluídas em metanol nas concentrações de 250, 200, 150, 100, 50 e 25 µg mL⁻¹. As medidas das absorbâncias das misturas reacionais (0,3 mL da solução das amostras e 2,7 mL da solução de DPPH) foram realizadas no tempo de 60 minutos, e as leituras foram feitas em espectrofotômetro UV-Vis (SHIMATZU UV-160 1PC), no comprimento de onda 515 nm. 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. Os valores de absorbância foram convertidos em porcentagem de atividade antioxidante, de acordo com Sousa *et al.* (2007).

Para determinação da CI_{50} (concentração de 50% de inibição), construiu-se uma curva, plotando-se na abscissa as concentrações das amostras (µg mL⁻¹) e, na ordenada, a porcentagem de atividade antioxidante.

2.1.3.2 ANÁLISE QUANTITATIVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO SISTEMA B-CAROTENO/ÁCIDO LINOLEICO

A determinação da atividade antioxidante em sistema ácido linoleico/β-caroteno foi realizada conforme metodologia descrita por Lopes-Lutz *et al.* (2008), com algumas modificações. Quantidades de ácido linoleico (20 mg) e Tween 20 (200 mg) foram adicionadas a uma solução de 2 mg de β-caroteno em 10 mL de clorofórmio, sendo este último totalmente evaporado em evaporador rotatório. Posteriormente, 50 mL de água destilada, esta previamente saturada com oxigênio por 30 minutos, foram adicionados (emulsão A). Alíquotas (200 µL) de cada amostra foram dissolvidas em metanol, nas concentrações de 250, 200, 150, 100, 50 e 25 µg mL⁻¹ e, em seguida, foram

adicionadas a 2,5 mL de emulsão de ácido linoleico/ β -caroteno. As amostras foram submetidas à oxidação, sendo incubadas a 50°C por 60 minutos. Como branco, utilizou-se a emulsão A sem o β -caroteno (2,5 mL) e 200 μ L da solução metanólica mais concentrada de cada amostra, e, como controle, empregaram-se 2,5 mL da emulsão de β -caroteno e 200 μ L de metanol. A absorvância foi lida a 470 nm, e a atividade antioxidante relativa foi determinada de acordo com Lopes-Lutz *et al.* (2008). Para determinação da CI_{50} , procedeu-se da mesma forma que o teste de DPPH.

2.1.4 DELINEAMENTO ESTATÍSTICO

Os experimentos foram submetidos à análise de variância, sendo as variáveis quantitativas significativas pelo teste de F submetidas à análise de regressão. Para a avaliação dos dados das atividades antioxidantes perante os ensaios de oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico e de redução do radical estável DPPH, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), com os tratamentos dispostos em esquema fatorial (11 X 6). Estes foram constituídos pelas combinações dos níveis referentes aos compostos avaliados (óleos essenciais, padrões e antioxidantes sintéticos) e às concentrações (250, 200, 150, 100, 50 e 25 μ g mL⁻¹), com três repetições. Os dados foram analisados pelo programa estatístico Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados – Sisvar, segundo Ferreira (2011).

Foi usada também a análise multivariada utilizando-se o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010). A análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) foi utilizada para se compreender a similaridade entre o CI_{50} dos óleos essenciais, padrões e antioxidantes sintéticos frente aos dois métodos de análise, DPPH e β -caroteno/ácido linoleico.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando-se a constituição química dos óleos essenciais extraídos das folhas frescas das espécies condimentares, foram observadas variações qualitativas e quantitativas dos principais constituintes químicos desses óleos essenciais (Tabela 1).

Tabela 1

Porcentagens dos principais constituintes químicos dos óleos essenciais de folhas de *T. vulgaris* (T.v.), *C. citratus* (C.c.), *O. gratissimum* (O.g.) e *O. basilicum* (O.b.)

Const.	IR cal	T.v.	C.c.	O.g.	O.b.
mirreno	988	1,0	2,1		0,8
p-cimeno	1023	15,1			
limoneno	1027	0,3			1,1
1,8-cineol	1031	1,5			20,9
(cis)- β -ocimeno	1035			8,0	
γ -terpineno	1057	4,1			0,1
linalol	1100	3,4			16,6
cânfora	1146				14,7
borneol	1171	2,6			
α -terpineol	1194				4,2
metil éter timol	1236	2,4			
neral	1238		29,8		
geranial	1268		41,6		
timol	1290	50,5			
(2)-undecanona	1292		1,2		
carvacrol	1297	2,6			
eugenol	1357			77,9	10,5
(trans)-cariofileno	1418	2,3		1,3	1,4
trans- α -bergamoteno	1431				2,0
γ -muuruleno	1480			6,0	
(2)-tridecanona	1494		1,0		
óxido de cariofileno	1581	3,5			
(epi)- α -cadinol	1640				8,7

IR cal = índice de retenção calculado pela equação de Kovats

Os componentes majoritários encontrados no óleo essencial do *T. vulgaris* foram o timol (50,51%), *p*-cimeno (15,08%) e γ -terpineno (4,07%), enquanto que no óleo de *C. citratus* foram o geranial (41,61%), neral (29,78%) e mirceno (2,07%), sendo o citral (mistura isomérica de neral e geranial) o principal constituinte deste último óleo essencial. Stoilova *et al.* (2008), pesquisando o óleo essencial de *T. vulgaris*, proveniente da Alemanha, encontraram resultados semelhantes ao presente experimento, destacando como principais constituintes o timol (49,6%), *p*-cimeno (16,4%), γ -terpineno (8,0%), linalol (4,6%) e carvacrol (4,0%). Guimarães *et al.* (2008) obtiveram como componentes majoritários do óleo essencial de *C. citratus*, originário de Minas Gerais, o neral (31,89%), o geranial (37,42%) e o mirceno (23,77%), corroborando também o presente estudo.

Os compostos identificados em maior proporção no óleo essencial de *O. gratissimum* foram o eugenol (77,97%), (Z)- β -ocimeno (7,99%) e (γ)-muuruleno (6,03%), e no de *O. basilicum* foram o 1,8-cineol (20,86%), linalol (16,58%) e cânfora (14,72%). Zoghbi *et al.* (2007) verificaram que os óleos essenciais de *O. gratissimum*, esta cultivada no estado do Pará, apresentaram como componentes mais abundantes o timol (13,1 a 36,2%), o γ -terpineno (0,2 a 28,1%), o 1,8-cineol (0 a 25, 2%) e o *p*-cimeno (4,4 a 19,9%), enquanto Chalchat e Ozcan (2008), ao analisarem o óleo essencial de *O. basilicum*, proveniente da Turquia, obtiveram como principais constituintes o metil chavicol (52,60%), o limoneno (13,64%) e o *p*-cimeno (2,32%), sendo estas constituições divergentes das verificadas no presente experimento.

A grande variabilidade na composição química dos óleos essenciais possivelmente deve-se às suas diferentes procedências, pois, de acordo com Gobbo-Neto e Lopes (2007), o conteúdo final de metabólitos secundários é influenciado por diversos fatores, como o local e o horário de coleta, processos de estabilização e condições de estocagem, entre outros.

As atividades antioxidantes avaliadas pelas metodologias da captura dos radicais DPPH e da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico estão apresentadas como valores de CI_{50} dos óleos essenciais, padrões de um dos constituintes majoritários e antioxidantes sintéticos (Tabela 2).

Tabela 2

Atividade antioxidante dos óleos essenciais de *T. vulgaris*, *C. citratus*, *O. gratissimum* e *O. basilicum*, alguns dos constituintes majoritários (timol, citral, eugenol e linalol) e antioxidantes sintéticos (BHT, BHA e ácido ascórbico) pelo método do sequestro dos radicais DPPH e da inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

Amostras	DPPH CI_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	β -caroteno CI_{50} ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
BHT	60,3	77,8
BHA	7,9	68,1
Ácido Ascórbico	32,1	111,1
<i>T. vulgaris</i>	374,1	2279,1
Timol	354,7	755,8
<i>C. citratus</i>	11144,6	2101,9
Citral	6344,3	983,4
<i>O. gratissimum</i>	45,1	157,4
Eugenol	28,8	197,6
<i>O. basilicum</i>	390,4	5089,1
Linalol	7507,5	2298,4

* CI_{50} : Concentração de inibição de 50%

Os óleos essenciais de *C. citratus* e o citral demonstraram baixa atividade antioxidante em ambas as metodologias, quando correlacionados ao BHT, BHA e ácido ascórbico (Figura 1). Resultados semelhantes foram obtidos por Guimarães *et al.* (2011), que verificaram que o óleo essencial de *C. citratus* apresentou eficiência reduzida no combate aos radicais DPPH (2,48% na concentração de 100 $\mu\text{g L}^{-1}$), fato que pode ser justificado pela dificuldade de ceder um átomo de hidrogênio por parte destes compostos, para neutralizar o radical DPPH (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995).

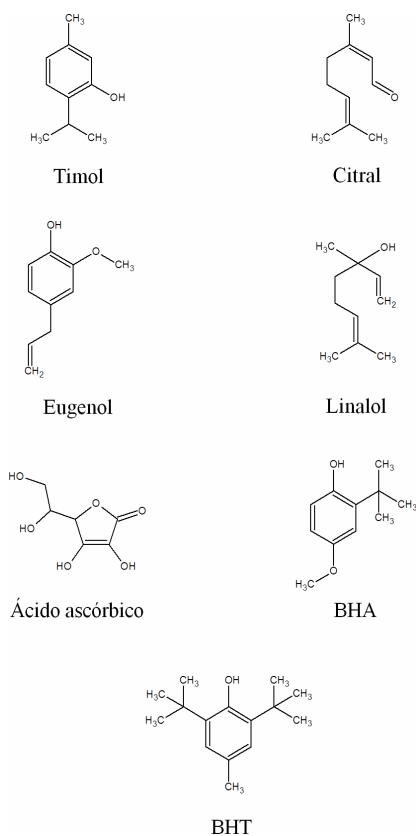


Figura 1 – Estruturas químicas do timol, citral, eugenol, linalol, ácido ascórbico, BHA E BHT

As capacidades de reduzir os radicais DPPH óleo essencial de *T. vulgaris* e *O. basilicum* foram representativas, quando comparadas aos antioxidantes sintéticos, podendo-se constatar discreta superioridade da habilidade antioxidante do timol em relação ao óleo essencial de *T. vulgaris* e representativa inferioridade do linalol (Figura 1) quando comparado ao óleo essencial de *O. basilicum*. Entretanto esses mesmos óleos essenciais apresentaram baixa eficiência no combate à oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico.

Os potenciais antioxidantes dos óleos essenciais de *T. vulgaris* e *O. basilicum* foram inferiores aos encontrados por Bozin *et al.* (2006), que avaliaram a capacidade de capturar radicais DPPH de óleos essenciais de folhas da família Lamiaceae, coletados na Sérvia e Montenegro, sendo que o *T. vulgaris* apresentou CI_{50} de $19 \mu\text{g mL}^{-1}$, e o *O. basilicum*, $39 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Adicionalmente, os autores verificaram que, para a neutralização dos radicais DPPH, os maiores responsáveis foram os fenilpropanoides (carvacrol, timol e metil chavicol) e a mistura de hidrocarbonetos mono e sesquiterpenos. Já a reduzida capacidade dos óleos essenciais de *T. vulgaris* e *O. basilicum* e de seus constituintes majoritários de combater a oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico provavelmente deveu-se à polaridade desses compostos, que se apresentam mais diluídos na fase aquosa da emulsão, permanecendo em menor concentração junto à fase lipídica, sendo desta maneira menos efetivos na proteção do ácido linoleico (KULISIC *et al.*, 2004).

O óleo essencial de *O. gratissimum* e o eugenol (Figura 1) apresentaram relevante atividade sequestradora de radicais livres DPPH (CI_{50} de $45,1$ e $28,8 \mu\text{g mL}^{-1}$), reduzindo-os e, conseqüentemente, provocando intensa descoloração da mistura reacional, podendo ser considerados importantes, uma vez que os antioxidantes sintéticos, como BHT e o ácido ascórbico, apresentaram atividades antirradicais similares (CI_{50} de $60,3$ e $32 \mu\text{g mL}^{-1}$). A intensa atividade antioxidante, apresentada por esse óleo, provavelmente ocorreu devido aos seus elevados teores de eugenol (77,97%). Isso, pois, segundo Tomaino *et al.* (2005), os óleos essenciais mais efetivos na prevenção ao ataque de radicais livres parecem ser os que contêm altos teores deste constituinte, devido à característica estrutural requerida para uma forte atividade sequestradora de radicais livres, que é um grupo fenólico contendo um conjunto que repele elétrons na posição orto em relação à hidroxila do grupo. Trevisan *et al.* (2006) avaliaram a habilidade antioxidante dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero *Ocimum*, coletadas no Ceará, pelo ensaio do DPPH, e o óleo essencial de *O. gratissimum* apresentou CI_{50} de $29 \mu\text{g mL}^{-1}$, enquanto o óleo volátil de *O. basilicum*, CI_{50} superior a $200 \mu\text{g mL}^{-1}$. Essa capacidade antioxidante foi correlacionada positivamente, com uma alta

proporção de compostos que possuem um anel fenólico, como eugenol, enquanto que uma forte correlação negativa foi observada quando outros compostos majoritários foram observados, corroborando os resultados encontrados no presente estudo.

A oxidação do sistema do ácido linoleico também foi efetivamente inibida pelo óleo essencial de *O. gratissimum* e pelo eugenol (CI_{50} de 157,4 e 197,6 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente), em que potenciais próximos aos apresentados pelos antioxidantes comerciais foram alcançados. Os resultados encontrados corroboram os de Pereira e Maia (2007), que, avaliando o potencial antioxidante desse óleo essencial, observaram uma porcentagem de inibição da oxidação lipídica de 92,44%, comprovando o potencial da *O. gratissimum* como fonte de antioxidantes naturais.

Adicionalmente avaliaram-se a influência das classes de constituintes químicos presentes em cada óleo essencial analisado sobre a eficiência de combater seus radicais livres (Figura 2).

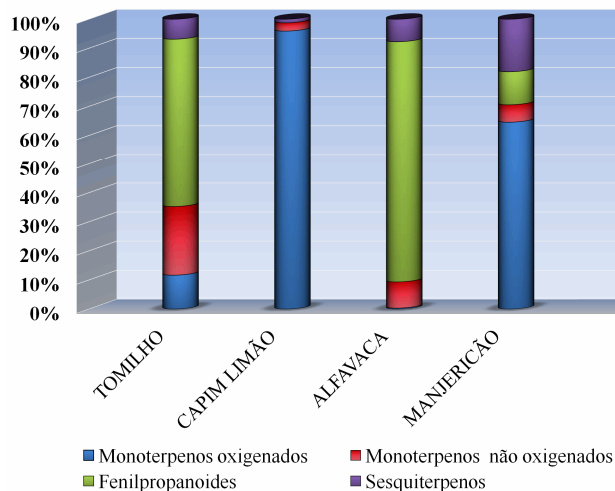


Figura 2 – Separação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de tomilho (*T. vulgaris*), capim-limão (*C. citratus*), alfavaca (*O. gratissimum*) e manjerição (*O. basilicum*) por classes de substâncias

Os altos conteúdos de fenilpropanoides dos óleos essenciais de alfavaca e tomilho influenciaram positivamente a atividade antioxidante pela metodologia da captura dos radicais DPPH, pois a oxidação desses radicais é facilmente controlada pela presença de átomos de hidrogênio disponíveis das moléculas fenólicas, representando uma boa barreira contra o processo de oxidação. Já a capacidade de impedir a oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico desses óleos mostrou-se menos representativa, por ser influenciada pela polaridade do substrato, em que substâncias polares são menos efetivas na proteção do sistema, pois permanecem mais diluídas na fase aquosa da emulsão (RUBERTO; BARATTA, 2000; KULISIC *et al.*, 2005).

Segundo Ruberto e Baratta (2000), os monoterpenos não-oxigenados e os sesquiterpenos dos óleos essenciais, representados por compostos acíclicos, mono e bicíclicos, possuem escasso potencial antioxidante, o que foi confirmado no presente estudo pela baixa eficiência antioxidante dos óleos essenciais de capim-limão e manjerição.

Ao avaliarem as habilidades antioxidantes das frações contendo fenilpropanoides e terpenoides dos óleos essenciais de tomilho e serpilho por diferentes metodologias, Kulisic *et al.* (2005) constataram um maior potencial da fração contendo fenilpropanoides, sendo esses resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo com óleos essenciais de plantas condimentares.

O dendograma da Figura 3, para os óleos essenciais, padrões e antioxidantes sintéticos, frente às duas metodologias de análise da atividade antioxidante avaliadas, corroborou os resultados previamente discutidos, mostrando o agrupamento existente entre os óleos essenciais com maior teor de fenilpropanoides, seus respectivos padrões e os antioxidantes sintéticos, o que significa que a composição química desses óleos essenciais

agrupados, comporta-se de maneira semelhante em relação às eficiências antioxidantes.

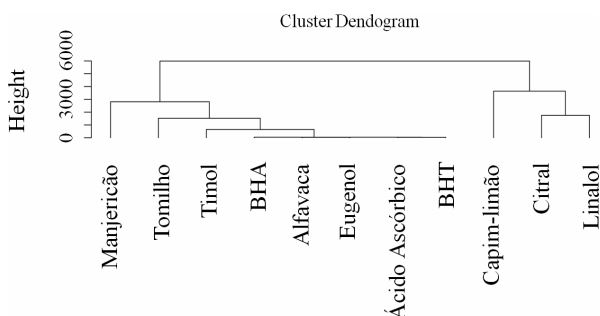


Figura 3 – Dendrograma dos óleos essenciais de tomilho (*T. vulgaris*), capim-limão (*C. citratus*), alfavaca (*O. gratissimum*) e manjeriçao (*O. basilicum*), padrões de um dos constituintes majoritários (timol, citral, eugenol e linalol) e antioxidantes sintéticos (BHT, BHA e ácido ascórbico) frente aos dois métodos de análise, sequestro dos radicais DPPH e inibição da oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico

3 CONCLUSÃO

Os constituintes majoritários presentes nos óleos essenciais das folhas frescas de tomilho, capim-limão, alfavaca e manjeriçao são o timol, p-cimeno e γ -

terpineno; o geranial, neral e mirceno; eugenol, (γ -muuruleno e (*cis*)- β -ocimeno; cineol, linalol e cânfora, respectivamente.

As amostras com atividade antioxidante mais expressiva pelas metodologias empregadas são o eugenol e o óleo essencial de alfavaca.

Utilizando a análise de agrupamento hierárquico (HCA), pode-se verificar que os óleos essenciais e seus respectivos padrões se agrupam em relação ao potencial antioxidante, devido à similaridade quanto aos conteúdos de fenilpropanoides e monoterpenos.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos e auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. *Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy*. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2007. 804 p. ISBN 1932633219.
- ANDRADE, M. A. *et al.* Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Zingiber officinale*: composição, atividades antioxidante e antibacteriana. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v.43, n.2, 399 – 408, 2012. ISSN 0045-6888.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel, Wissenschaft and Technologie*, Zürich, v.28, n.1, 25 - 30, 1995. ISSN 0023-6438.
- 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, 1822 - 1828, 2006. ISSN 0021-8561.
- 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, 501 - 503, 2008. ISSN 0308-8146.
- FERREIRA, D. F. *Sisvar*: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 35, n.6, 1039-1042, 2011. ISSN 1981-1829.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, São Paulo, v.30, n.2, 374 - 381, 2007. ISSN 0100-4042.
- GUIMARÃES, L. G. 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, 1476 - 1480, 2008. ISSN 0100-4042.
- GUIMARÃES, L. G. L. *et al.* Atividade antioxidante e antifúngica do óleo essencial da capim-limão e citral.

Revista Ciência Agronômica, Fortaleza, v.42, n.2, 464 - 472, 2011. ISSN 0045-6888.

GOMES, M. S. *et al.* Use of essential oils of the genus *Citrus* as biocidal agents. *American Journal of Plant Sciences*, Washington, v. 5, n.8, 299 - 305, 2014. ISSN 2158-2750.

KULISIC, T. *et al.* Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, Oxford, v.85, 633 - 640, 2004. ISSN 0308-8146.

KULISIC, T. *et al.* 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, 315 - 324, 2005. ISSN 1120-1770.

LOPES-LUTZ, D. *et al.* Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, Egham, v.69, n.8, 1732 - 1738, 2008. ISSN 0031-9422.

M. NETO, J. M.; MOITA, G. C. An introduction analysis exploratory multivariate data. *Química Nova*, São Paulo, v.21, n.4, 467 - 469, 1998. ISSN 0100-4042.

MIRANDA, C. A. S. F. *et al.* Chemical composition and allelopathic activity of *Parthenium hysterophorus* and *Ambrosia polystachya* weeds essential oils. *American Journal of Plant Sciences*, Washington, v.5, n.9, 1248-1257, 2014. ISSN 2158-2750.

MORAIS, S. M. *et al.* Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v.19, n.1, 315 - 320, 2009. ISSN 0102-695X.

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, 624 - 632, 2007. ISSN 0101-2061.

RUBERTO, G.; BARATTA, M. T. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, Oxford, v.69, n.2, 167 - 174, 2000. ISSN 0308-8146.

SOUSA, C. M. M. *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, São Paulo, v.30, n.2, 351 - 355, 2007. ISSN 0100-4042.

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, 1047 - 1050, 2008. ISSN 1934-578X.

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, 549 - 554, 2005. ISSN 0308-8146.

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, 4378 - 4382, 2006. ISSN 0021-8561.

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, 229 - 240, 2007. ISSN 0976-5026.