

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS**

MAISA DE JESUS RIBEIRO DA COSTA

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS
FENÓLICOS TOTAIS EM ÓLEOS ESSENCIAIS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TOLEDO

2015

MAISA DE JESUS RIBEIRO DA COSTA

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS
FENÓLICOS TOTAIS EM ÓLEOS ESSENCIAIS**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado à disciplina de TCC II apresentado a Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos – COPEQ – da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR Câmpus Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientador: Prof^o Dr. Ricardo Fiori Zara

TOLEDO

2015

**TERMO DE APROVAÇÃO
DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

MAISA DE JESUS RIBEIRO DA COSTA

**DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS
FENÓLICOS TOTAIS EM ÓLEOS ESSENCIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus Toledo, pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara
Orientação

Prof^a. Dr^a. Solange M. Cottica
UTFPR – Câmpus Toledo

Prof^a Dr^a. Janesca Alban Romam
UTFPR – Câmpus Toledo

Toledo, Outubro de 2015.

*A folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

AGRADECIMENTOS

À Deus primeiramente por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades, por ter iluminado o meu caminho durante toda essa jornada.

À minha família, minha base, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Ao meu namorado Eduardo Henrique, por todo o apoio e incentivo, por estar do meu lado durante todo esse período, por sua capacidade de não me deixar desistir.

À minha amiga Débora Delonzek por sempre estar do meu lado, pelo apoio e pela sua eterna amizade.

À meu amigo Anderson Ramos pelo auxílio prestado durante as análises.

Ao meu orientador Dr. Ricardo Fiori Zara pelo suporte, pelas suas correções e incentivos.

A todos os professores do curso, que foram tão importantes na minha vida acadêmica.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

COSTA, Maisa J. R., **Determinação da Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos Totais em Óleos Essenciais**. 2015. 57f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Toledo, 2015.

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação. Em função dos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, as pesquisas têm-se voltado no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos. Muitos estudos relatam o aumento do interesse dos consumidores e da comunidade científica na utilização e no estudo de antioxidantes naturais, particularmente em relação àqueles encontrados em frutas e vegetais. Entre os antioxidantes naturais, os mais utilizados são os compostos fenólicos devido às suas propriedades redox e à sua estrutura química. Desta forma, o presente trabalho propõe quantificar compostos fenólicos totais presente nos óleos (gengibre, alecrim, cravo, laranja doce, hortelã e anil-estrelado) e estudar a atividade dos óleos essenciais em relação ao seu efeito antioxidante. A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada utilizando-se o reagente Folin-Ciocalteu e os resultados expressos em equivalente de ácido gálico. A atividade antioxidante foi determinada através do método do DPPH e expressa em relação à concentração necessária para inibir 50% do radical DPPH e utilizou-se também o AAI (*Antioxidant Activity Index*). O óleo essencial que apresentou maior concentração de compostos fenólicos foi o de cravo ($0,9690 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$) seguido pelo óleo de laranja ($0,0990 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), gengibre ($0,0599 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), anil estrelado ($0,0528 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), alecrim ($0,0184 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$) e hortelã ($0,0156 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$). O melhor resultado de IC_{50} foi apresentado pelo óleo essencial de cravo ($3,15 \mu\text{g mL}^{-1}$) seguido pelo alecrim (8805 μg) e gengibre (25020 μg), o valor de AAI encontrado foi para o óleo essencial de cravo, 10,73. Foi determinada também a atividade antioxidante pelo TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), utilizando o Trolox, um antioxidante sintético como referência, tanto para o método do radical DPPH e também ABTS. Os óleos que apresentaram melhor desempenho em TEAC em DPPH e ABTS respectivamente foi o óleo de cravo ($15,84 \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$; $2,13 \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$), seguido pelo óleo de alecrim ($2,8 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$; $9,65 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) e gengibre ($5,31 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$; $3,26 \times 10^{-5} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$). Foi possível verificar, em alguns casos, a não correlação entre a capacidade antioxidante e o teor dos compostos fenólicos.

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante, folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS, óleo essencial.

ABSTRACT

COSTA, Maisa J. R., **Determinação da Atividade Antioxidante e Compostos Fenólicos Totais em Óleos Essenciais**. 2015. 57f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Toledo, 2015.

Antioxidants are compounds that have the function of slowing down or even prevent the oxidation of lipids or other molecules and, thus, antioxidants prevent the initiation or propagation of oxidation chains. Synthetic antioxidants cause serious problems to the health of their consumers. To avoid problems caused by the synthetic antioxidants, researchers are trying to find natural products that have antioxidant activity and thus replace the synthetic antioxidants. Research indicates that increases the number of consumers and the scientific community interested in consuming natural antioxidants, especially those found in fruits and vegetables. Among the natural antioxidants, the most used are phenolic compounds because of their redox properties and chemical structures. This research has proposes to quantify the total phenolic and also, study the activity of essential oil sin relation to its antioxidant effect. Compounds present in the oils (ginger, rosemary, cloves, sweet orange, mint and star anise). the quantification of the total phenolic compounds carried out using the Folin - Ciocalteu reagent. The results obtained by the survey, has expressed in equivalent of gallic acid. The antioxidant activity was determined by DPPH method and expressed in relation to the concentration required to inhibit 50% of DPPH also was used AAI (Antioxidant Activity Index). The studies reveals the essential oil that has a higher concentration of phenolic compounds was that extracted using clove ($0.9690 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), followed by the orange oil ($0.0990 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), ginger ($0.0599 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), star anise ($0,0528 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$), rosemary ($0.0184 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$) and mint ($0,0156 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$). The best results of IC_{50} was present in the essential oil from cloves ($3.15 \mu\text{g mL}^{-1}$) followed by rosemary (8805 μg) and ginger (25020 μg) and the result for AAI was found in the oil of cloves, 10.73. It verified the existence of antioxidant activity by the TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) Trolox, a synthetic antioxidant, used also to determine as the antioxidant activity caused by TEAC (Trolox). It was an equivalent reference for both of methods and for the DPPH and too ABTS. The oils showed better performance in TEAC in ABTS e DPPH respectively were clove oil ($15.84 \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$, $2.13 \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$), followed by rosemary oil ($2.8 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$; $9.65 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) and ginger ($5.31 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$, $3.26 \times 10^{-5} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$). It was possible to verify, in some cases, no correlation between antioxidant capacity and content of phenolic compounds.

KEY WORDS: Antioxidants, essential oil, folin-Ciocalteu, DPPH, ABTS.

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

DPPH - Radical (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)

ABTS - [(Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)]

IC₅₀ - Concentração de óleo essencial necessária para inibir 50% do radical DPPH

AAI - Índice de Atividade Antioxidante

BHA - Butil-hidróxi-anisol

ROS - Substâncias reativas oxigenadas

AIDS - Síndrome da imunodeficiência adquirida

BHT - Butilhidroxitolueno

TBHQ - Terc-butilhidroxiquinona

PG - Propil galato

EAG - Equivalente de ácido gálico

nm - Nanômetro

OE - Óleo essencial

OEs - Óleos Essenciais

A.C - Antes de Cristo

β - Letra grega Beta

% - Porcentagem

m - Metros

mm - Milímetros

°C - Temperatura em graus Celcius

mg - Miligramas

μL - Microlitro

μM - Micromolar

μg - Micrograma

μg mL⁻¹ - Microgramas por mililitro

P.A - Pró- Análise

L - Litro

TEAC - Trolox equivalent antioxidant capacity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	19
Figura 2 – Frutos de Anil estrelado (<i>Illicium verum</i>)	20
Figura 3 – Cravo (<i>Eugenia caryophyllata</i>)	21
Figura 4 – Hortelã (<i>Mentha arvensis</i>)	21
Figura 5 – Laranja doce (<i>Citrus aurantium var, dulcis</i>)	22
Figura 6 – Alecrim (<i>Rosmarinus officinallis L.</i>)	23
Figura 7 – Composto fenólico	26
Figura 8 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu	27
Figura 9 – Reação entre o radical livre DPPH e um antioxidante	28
Figura 10 – Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	29

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva padrão de ácido gálico	34
Gráfico 2 – Curva do óleo essencial de gengibre – Compostos fenólicos.....	40
Gráfico 3 – Curva padrão de Trolox - DPPH	40
Gráfico 4 – Curva do óleo essencial de gengibre (Trolox – DPPH)	40
Gráfico 5 – Curva do padrão de Trolox - ABTS	42
Gráfico 6 – Curva do óleo essencial de gengibre (ABTS)	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Compostos fenólicos totais presentes nos óleos essencial expressos em ($\mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$).....	35
Tabela 2 – Variação das massas e concentração utilizada, coeficientes de correlação linear (R^2) e IC_{50} obtidos para cada óleo essencial na determinação do potencial antioxidante pelo método do DPPH.....	37
Tabela 3 – Atividade antioxidante determinada em TEAC pelo método DPPH.....	41
Tabela 4 – Variação das concentrações utilizadas, coeficientes de correlação linear (R^2) e TEAC obtidos para cada óleo essencial na determinação do potencial antioxidante pelo método do ABTS.....	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 OBJETIVOS.....	14
1.1.1 Objetivos Gerais	14
1.1.2 Objetivos específicos.....	14
1.2 JUSTIFICATIVA.....	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS	17
2.1.1 Plantas Aromáticas	18
2.1.2 Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	18
2.1.3 Anil estrelado (<i>Illicium verum</i>).....	19
2.1.4 Cravo (<i>Eugenia caryophyllata</i>)	20
2.1.5 Hortelã (<i>Mentha arvensis</i>).....	21
2.1.6 Laranja Doce (<i>Citrus aurantium var, dulcis</i>)	21
2.1.7 Alecrim (<i>Rosmarinus officinallis L.</i>).....	22
2.2 ANTIOXIDANTES.....	23
2.2.1 Antioxidante Sintéticos e Naturais	24
2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS	25
2.4 QUANTIFICAÇÕES DE COMPOSTOS FENÓLICOS PELO MÉTODO FOLIN CIOCALTEAU	26
2.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	27
2.5.1 Métodos do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila).....	28
2.5.2 Métodos do radical ABTS [(Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)- 6-sulfônico]	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
3.1 MATERIAIS	30
3.2 PROCEDIMENTOS	30
3.2.1 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais.....	31
3.2.2 Determinação da Atividade Antioxidante Pelo Método do DPPH	31
3.2.3 Determinação da Atividade Antioxidante Pelo Método do ABTS.....	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	34

4.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH.....	36
4.2.1 Determinação da Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox.....	39
4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS	41
5 CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIA.....	47

1 INTRODUÇÃO

Óleos e gorduras são substâncias susceptíveis a processos oxidativos. As reações de oxidação e a decomposição dos produtos da oxidação implicam na perda de qualidade e valor nutricional dos alimentos. O processo oxidativo pode ser inibido ou atrasado através do uso de antioxidantes, compostos naturais ou sintéticos, com estruturas químicas e mecanismos de ação diversos, capazes de retardar ou inibir, de forma significativa, a oxidação de qualquer substância oxidável (SANTOS; MIGLIORANZA, 2009).

A partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico, tem aumentado consideravelmente. Com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, os quais tem sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese, bem como pela comprovação de diversos outros males como: aumento do peso do fígado e significativa proliferação do retículo endoplasmático (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

O crescente interesse pelos antioxidantes naturais de extratos de plantas é devido à sua baixa toxicidade em relação aos antioxidantes sintéticos. Extratos de frutas, vegetais, cereais e seus subprodutos industriais são ricos em antioxidantes, em ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e em compostos fenólicos e têm demonstrado eficaz atividade antioxidante em sistemas modelos (SOARES; WELTER; KUSKOSKI, 2007).

Os óleos essenciais podem ser utilizados como fonte de compostos que apresentam atividade antioxidante. Esses óleos podem ser obtidos a partir de flores, folhas, frutos, sementes, gramas, raízes, rizomas e caules de plantas (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2009).

O Brasil possui uma vasta flora, estimada em mais de 40000 espécies, havendo conhecimentos de propriedades medicinais de várias delas. Por outro lado, apesar dos esforços, pesquisas científicas que possibilitem o bom aproveitamento desse potencial que o país possui, ainda não são produzidas em volume suficiente. Uma das possibilidades de estudo é a atividade antioxidante (SANTOS, 2006).

Atualmente, com a tendência do mercado de utilizar produtos naturais, os óleos essenciais estão sendo cada vez mais estudados como agentes antioxidantes, na tentativa de propiciar o desenvolvimento de técnicas que procuram reduzir os efeitos negativos de substâncias oxidantes (ANDRADE, 2010).

Antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas, impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das

proteínas, a dupla ligação dos ácidos graxos poliinsaturados e as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular. A utilização de compostos antioxidantes encontrados na dieta ou mesmo sintéticos é um dos mecanismos de defesa contra os radicais livres que podem ser empregados nas indústrias de alimentos, cosméticos, bebidas e também na medicina, sendo que muitas vezes os próprios medicamentos aumentam a geração intracelular desses radicais (BIANCHI; ANTUNES, 1999).

De forma geral, denominam-se antioxidantes as substâncias que estão presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato (CÓRDOVA; NAVAS, 2000).

Os radicais formados a partir de antioxidantes não são reativos para propagar a reação em cadeia, sendo neutralizados por reação com outro radical, formando produtos estáveis ou podem ser reciclados por outro antioxidante (CÓRDOVA; NAVAS, 2000).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivos Gerais

Determinar o potencial antioxidante e o teor de compostos fenólicos nos óleos essenciais das plantas: gengibre, alecrim, cravo, hortelã, laranja doce e anis estrelado.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar a quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos presentes nos óleos essenciais utilizando o reagente de Folin- Ciocalteau;
- Utilizar a metodologia de DPPH e ABTS para a determinação do potencial antioxidante nos óleos essenciais;
- Verificar qual dos óleos essenciais testados apresentam maior potencial antioxidante;
- Calcular o IC_{50} , (Concentração de óleo essencial necessária para inibir 50% do radical DPPH);
- Calcular o AAI (Índice de Atividade Antioxidante);

1.2 JUSTIFICATIVA

Muitos componentes produzidos por plantas têm sido objeto de pesquisas em relação ao potencial antioxidante, demonstrando resultados promissores. Entre eles têm-se os óleos voláteis e componentes não voláteis testados na forma de extratos. Muitas plantas aromáticas e especiarias têm se mostrado eficazes em retardar o processo de peroxidação lipídica em óleos e alimentos gordurosos e ganharam o interesse de muitos grupos de pesquisa (ANDRADE, 2010).

Estudos toxicológicos têm demonstrado a possibilidade dos antioxidantes sintéticos apresentarem efeito carcinogênico em experimento com animais (RAMALHO; JORGE, 2005), também são considerados fatores de risco para o transtorno do déficit de atenção e hiperatividade (POLÔNIO; PERES, 2009). Por estes motivos, o uso destes antioxidantes em alimentos é limitado. TBHQ não é permitido no Canadá e na Comunidade Econômica Européia. No Brasil, o uso destes antioxidantes é controlado pelo Ministério da Saúde que limita 200 mg kg⁻¹ para BHA e TBHQ e 100 mg g⁻¹ para BHT como concentrações máximas permitida (RAMALHO; JORGE, 2005).

Em função dos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, as pesquisas têm-se voltado no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos (SOUZA; SILVA; JUNIOR, 2007) ou fazer associações entre eles, com intuito de diminuir sua quantidade nos alimentos (RAMALHO; JORGE, 2005).

Muitos estudos relatam o aumento do interesse dos consumidores e da comunidade científica na utilização e no estudo de antioxidantes naturais, particularmente em relação àqueles encontrados em frutas e vegetais, tendo em vista que estudos farmacológicos demonstram a associação entre o seu consumo e o baixo risco de doenças degenerativas. De fato, muitos compostos naturais extraídos de plantas apresentam importantes atividades biológicas e entre estes se destacam os óleos essenciais (VICTORIA; SAVEGNAGO; LENARDÃO, 2013).

Os antioxidantes naturais são uma boa alternativa, visto que minimizam ou retardam a deterioração oxidativa nos alimentos, além de elevar o valor nutricional deles (SANTOS, 2009).

Nos últimos anos, tem - se verificado um grande avanço científico, envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas, visando obter novos compostos com

propriedades terapêuticas. Neste sentido, dentre os agentes terapêuticos provenientes de plantas destacam-se os óleos essenciais (ANGÉLICO, 2011).

Os óleos essenciais são compostos voláteis obtidos por diversas partes de plantas pela destilação por arraste a vapor d'água ou por prensagem de pericarpos de frutos cítricos. Óleo essencial é um termo que designa substâncias aromáticas, geralmente de odor agradável e intenso, na maioria em forma líquida. Apresentam sabor ácido e picante; quando extraídos recentemente são incolores ou ligeiramente amarelados (CRUZ, 2013).

Os óleos essenciais estão atraindo a atenção da indústria farmacêutica devido às suas múltiplas funções, em especial atividades antioxidante, antimicrobiana e antitumoral (VICTORIA; SAVEGNAGO; LENARDÃO, 2013).

Desta forma, o presente trabalho propõe quantificar compostos fenólicos totais presentes nos óleos e estudar os óleos essenciais em relação ao seu efeito antioxidante.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Óleos Essenciais

O termo óleo essencial (OE) foi definido no século XVI por Paracelso, médico e alquimista suíço, para quem o componente efetivo de uma droga era a “quinta essência” (PROBST, 2012). São compostos que apresentam ampla atividade antioxidante que podem ser obtidos através da extração (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2009).

Podem ser extraídos de parte de plantas como frutas, flores, cascas, ou de plantas inteiras, como especiarias e ervas medicinais. São caracterizados quimicamente como misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, sendo alguns altamente voláteis, capazes de gerar sabores e/ou aromas (PROBST, 2012).

Também são chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências por serem de aparência oleosa à temperatura ambiente. Esses óleos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados, com exceção dos óleos que apresentem alto teor de azulenos, como o óleo essencial extraído da camomila e mil-folhas (ANDRADE, 2010).

Os constituintes químicos dos óleos essenciais podem ser divididos em duas classes que diferem na sua origem biossintética: a aromática, constituída pelos fenilpropanóides e a terpênica. Os fenilpropanóides são compostos que apresentam uma cadeia lateral de três átomos de carbono derivados de aminoácidos aromáticos (fenilalanina), oriundos da via do ácido chiquímico. Os compostos terpenóides são sintetizados pela condensação de unidades pentacarbonadas, o difosfato de isopentenila e seu isômero difosfato de dimetilalila (HOMEM, 2015).

A atividade bacteriostática e /ou bactericida de OE é exercida principalmente por compostos terpenoides. Porém, a composição e a atividade de um óleo essencial podem ser modificados por vários aspectos, desde o modo de extração, a fatores próprios da planta e do ambiente em que ele está inserido (PROBST, 2012).

As essências são empregadas para vários fins, como na indústria farmacêutica devido a suas propriedades assépticas, sedativas e analgésicas; na indústria de cosméticos como bases para sabonetes, cremes, perfumes e, na indústria de alimentos como incrementadores de aroma e sabor (MORAIS, 2006).

2.1.1 Plantas Aromáticas

As plantas aromáticas são definidas como aquelas que possuem aroma ou perfume capaz de sensibilizar nosso olfato de forma agradável (ANDRADE, 2010).

As plantas aromáticas, além de fornecedoras de óleos voláteis ou essenciais, são também medicinais e estão presentes no cotidiano das pessoas. Estas plantas, ou as substâncias voláteis delas extraídas têm sido usadas como flavorizantes, aromatizantes e terapêuticos nas indústrias alimentícias, farmacêutica e cosmética. Pesquisas indicam aumento regular no mercado de produtos naturais, apresentando a média anual de crescimento estimada em 22%, nos setores industriais de perfumaria, aromatizantes para produtos alimentícios, assim como em setores de processamento de óleos essenciais (MORAIS, 2006)

O uso de plantas é tão antigo quanto a história da humanidade, sendo empregadas na medicina, na cosmética e em cerimônias religiosas. Os relatos mais antigos sânscrito dos Ayurvedas (há mais de 2.000 A.C.), onde há descrições de técnicas rudimentares que os hindus utilizavam para a obtenção de produtos destilados, provavelmente álcoois aromáticos de espécies de capins do gênero *Cymbopogon* (capim limão e citronela) e mirra entre as mais de 700 substâncias aromáticas citadas (CRUZ, 2013).

2.1.2 Gengibre (*Zingiber officinale*)

O gengibre (Figura 1) é uma planta asiática, da família das Zingiberaceae (ANDRADE et al., 2010). O gengibre é amplamente empregado na medicina tradicional, há muitos séculos, para aliviar sintomas como inflamação, doenças reumáticas e desconfortos gastrintestinais. Seus extratos e seus principais compostos pungentes, os gingeróis, têm mostrado recentemente variada atividade biológica, incluindo, entre outros, o efeito como agentes antineoplásicos, antiespasmódicos e antieméticos, inibidores de enzimas, antimicrobianos, anti-inflamatórios e antioxidantes (ANDRADE, 2010).

O gengibre também apresenta propriedades antioxidantes devido a presença de compostos flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, carotenóides e compostos fenólicos. Vegetais e especiarias ricas em compostos bioativos, como o gengibre, podem ser empregados como agentes medicinais e ação antioxidante. As substâncias antioxidantes podem apresentar diferentes propriedades de proteção e agem em diversas fases do processo oxidativo, funcionando por diferentes mecanismos, protegendo assim tanto

alimentos gordurosos da sua oxidação, como o estresse oxidativo em organismos animais (SOUZA et al., 2012).

O estudo de propriedades biológicas de espécies da família Zingiberaceae, à qual pertence o gengibre, ainda é muito escassa, principalmente no que se refere às suas propriedades antioxidantes (BEAL, 2006).



Figura 1 - Gengibre (*Zingiber officinale*)

Fonte: Adaptado de MACIEL (2013).

2.1.3 Anis Estrelado (*Illicium verum*)

O anis estrelado (Figura 2) é uma planta nativa da Ásia Menor, Ilhas Gregas e Egito e utilizada desde a antigüidade. É conhecido popularmente no Brasil como anis-da-china e badiana (FREIRE, 2008).

Utilizado majoritariamente como erva aromática na doceria/ culinária e na fabricação de bebidas licorosas devido ao poder adoçante, chegando a ser 13 vezes mais ativo que a sacarose. Analisando a constituição química do anis estrelado, verificaram o trans-anetol como constituinte majoritário (98%), responsável pelo poder adoçante (SANT'ANNA, 2010).

Recentemente identificaram atividade antioxidante seja do óleo essencial e dos extratos em diferentes métodos.

Roopa et al. (2007), estudando a atividade antioxidante do óleo essencial e dos extratos de anis estrelado por peroxidação do ácido linoleico de β -caroteno e DPPH, observaram que em todas essas metodologias o anis-estrelado apresentou forte atividade antioxidante. Identificaram o trans-anetol (94%) como composto majoritário, seguido do limoneno (1%).



Figura 2 - Frutos de Anis estrelado (*Illicium verum*)

Fonte: PEREIRA (2015).

2.1.4 Cravo (*Eugenia caryophyllata*)

O cravo (Figura 3) é uma planta arbórea, nativa das Ilhas Molucas (Arquipélago da Insulíndia, Indonésia), possui odor fortemente aromático, sabor ardente e característico. Das sementes, de aroma ativo, extrai-se o ácido eugênico, incolor e de sabor picante. Sua composição química é constituída principalmente por eugenol (SILVESTRE et al., 2012).

O eugenol muito presente no óleo de cravo, é um dos maiores responsáveis pela alta atividade antioxidante, na peroxidação lipídica na fase de iniciação e propagação através da interferência nas reações em cadeia, seqüestrando o O₂ ativo e, ao ser metabolizado em dímero, inibe a peroxidação propriamente dita em nível de propagação da reação em cadeia de radicais livres com o alfa-tocoferol (AFFONSO; SLANA; FRANÇA, 2012).



Figura 3 – Cravo (*Eugenia caryophyllata*)

Fonte: HERMES (2014).

2.1.5 Hortelã (*Mentha arvensis*)

A hortelã (Figura 4) é uma planta cultivada em todo o mundo há muitos anos, tem sua origem da Ásia. Suas essências aromáticas estão presentes em toda a planta, principalmente nas folhas. Das folhas frescas e semi-secas e partes floridas da hortelã pode ser extraído óleo essencial através de destilação a vapor. Suas propriedades fitoterápicas relatadas são: estimulante, estomacal, carminativo. Estudos recentes demonstram que infusões desta erva possuem elevados teores de compostos fenólicos e presença de flavonóides de alta atividade antioxidante (RIO, 2013).

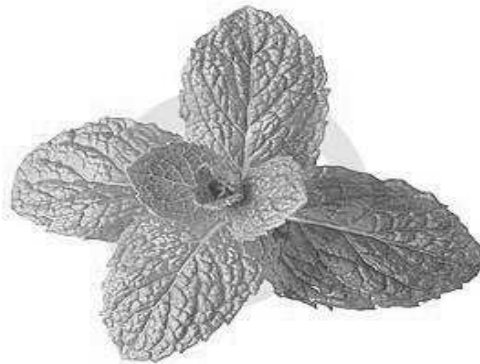


Figura 4 – Hortelã (*Mentha arvensis*)

Fonte: LIMA (2015).

2.1.6 Laranja Doce (*Citrus aurantium var, dulcis*)

A laranjeira é uma das árvores frutíferas mais cultivadas e estudadas em todo o mundo, e faz parte da família botânica das Rutaceae, da qual pertencem todos os cítricos. Ela é nativa da Ásia, embora sua origem seja controversa (FERRAÇO, 2014).

Além de ser importante fonte de vitaminas e fibras, as frutas e sucos cítricos recentemente vêm sendo reconhecidos por conterem metabólitos secundários incluindo antioxidantes como ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides, limonoides que são importantes para a nutrição humana (COUTO; BRAZACA, 2010).

Os citros são ricos em substâncias antioxidantes que ajudam a diminuir a incidência de doenças degenerativas e a retardar o envelhecimento precoce. A maioria dos antioxidantes presentes em citros é vitamina C e polifenóis, principalmente flavonoides. A vitamina C proporciona proteção contra a oxidação descontrolada no meio aquoso da célula, devido ao

seu alto poder redutor. Os polifenóis são substâncias com grande poder de neutralizar as moléculas de radicais livres (COUTO; BRAZACA, 2010).



Figura 5 – Laranja doce (*Citrus aurantium var, dulcis*)
Fonte: SAMOR (2011).

2.1.7 Alecrim (*Rosmarinus officinallis L.*)

O alecrim (Figura 6) é um membro da família Labiatae e tem sido utilizado por suas propriedades medicinais desde a antiguidade (AFONSO; SANT'ANA; FILHO, 2010). Dos antioxidantes naturais, alecrim tem sido amplamente aceito como uma das especiarias com a maior atividade antioxidante (GENENA et al., 2008).

Suas propriedades antioxidantes têm sido atribuídas a uma variedade de isoprenoides, quinonas, diterpenos, fenólicos como ácido carnósico e carnosol, ácido rosmarínico, além de antioxidantes adicionais incluindo ácidos fenólicos e os flavonóides capazes de finalizar as reações de radicais livres e sequestrar as espécies reativas de oxigênio e, portanto, prevenir a oxidação do colesterol e de ácidos graxos (AFONSO; SANT'ANA; FILHO, 2010).

Muitos extratos de alecrim para uso em sistemas alimentícios estão hoje disponíveis no mercado, principalmente na Europa e Estados Unidos, onde, segundo consta, o alecrim representa cerca de 40 a 50% dos antioxidantes naturais comercializados. No Brasil, o alecrim é classificado como aroma natural, sendo aplicado principalmente em produtos cárneos, pratos prontos e biscoitos (RAMALHO; JORGE, 2006b).



Figura 6 - Alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*)

Fonte: STUPPIELLO (2014).

2.2 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por vitaminas, minerais, pigmentos naturais e outros compostos vegetais e, ainda, enzimas, que bloqueiam o efeito danoso dos radicais livres (BENZAQUEN, 2009).

Antioxidantes são compostos que podem retardar ou inibir a oxidação de lipídios ou outras moléculas, evitando o início ou propagação das reações em cadeia de oxidação (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

Os antioxidantes estão naturalmente presentes nos alimentos ou podem ser adicionados ou formados durante o processamento. Antioxidantes em alimentos devem ser razoáveis no preço, não tóxicos, estáveis, efetivos a baixas concentrações e não devem alterar sabor, odor, cor e textura. Os efeitos dos antioxidantes na oxidação dos alimentos são dependentes de sua concentração, polaridades e presença de outros antioxidantes (RIBEIRO, 2013).

Podem ser divididos em duas classes: os com atividade enzimática e os sem atividade. No primeiro grupo estão os compostos capazes de bloquear a iniciação da oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. No segundo grupo estão as moléculas que interagem com as espécies radicalares e são consumidas durante a reação (GALVÃO, 2008).

Os antioxidantes são classificados em dois grupos, os primários e os secundários. Os antioxidantes primários são capazes de interromper a cadeia de radicais, cedendo hidrogênio a um radical lipídico livre e assumindo a forma de radical estável. Podem-se incluir nesse grupo os compostos fenólicos, que apresentam grupos doadores de elétrons nas posições orto e para de sua cadeia cíclica. Os secundários diminuem o processo de iniciação, utilizando agentes

quelantes de metais como, por exemplo, o ácido etilenodiaminotetracético e o ácido cítrico (ANDREO; JORGE, 2006).

Entre os antioxidantes mais conhecidos estão as vitaminas, principalmente C e E, e os flavonóides (CASSIAN, 2010).

Diversos estudos têm demonstrado que o consumo de substâncias antioxidantes na dieta diária pode produzir uma ação protetora efetiva contra os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. Foi descoberto que uma série de doenças entre as quais câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, AIDS, doenças do coração, podem estar ligadas aos danos causados por formas de oxigênio extremamente reativas denominadas de “substâncias reativas oxigenadas” ou simplesmente ROS. Estas substâncias também estão ligadas com processos responsáveis pelo envelhecimento do corpo (DEGASPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004).

2.2.1 Antioxidante Sintéticos e Naturais

Quanto a sua natureza, os antioxidantes são classificados em sintéticos e naturais. Entre os antioxidantes sintéticos mais utilizados em alimentos estão o butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), terc-butilhidroxiquinona (TBHQ) e propil galato (PG). Esses compostos possuem em comum uma estrutura fenólica com várias substituições no anel aromático conferindo maior eficácia e estabilidade ao perderem um átomo de hidrogênio, devido ao fenômeno de ressonância no interior do fenol. Os antioxidantes sintéticos têm sido utilizados há muito tempo em alimentos, mas atualmente, por questões relacionadas à saúde, existe uma tendência para a redução do seu uso e aumento da utilização dos antioxidantes naturais (PRADO, 2008).

Entre os antioxidantes naturais mais utilizados industrialmente estão o ácido ascórbico e seus derivados, carotenóides, tocoferóis, tocotrienóis e compostos fenólicos de extratos de diversas fontes vegetais (RIBEIRO, 2013).

Os antioxidantes naturais podem ser extraídos de vegetais e plantas. Muitas ervas e especiarias, utilizadas como condimentos em alguns pratos, são excelentes fontes de compostos fenólicos. Tais substâncias têm demonstrado alto potencial antioxidante, podendo ser usadas como conservantes naturais para alimentos. Os compostos fenólicos exibem grande quantidade de propriedades, mas o principal efeito dos compostos fenólicos tem sido atribuído à sua ação antioxidante em alimentos (ANDREO; JORGE, 2006).

Os compostos fenólicos existentes nas plantas atuam protegendo-as contra injúrias em seus tecidos, contra a ação de subprodutos provenientes da fotossíntese que podem causar danos. Muitos desses compostos têm similaridades quanto à estrutura molecular básica, em que todos possuem pelo menos um anel aromático com um grupo hidroxila ligado a ele, incluindo, principalmente, os ácidos fenólicos e flavonóides, que conferem defesa contra o ataque de radicais livres (SUCUPIRA et al., 2012)

Apesar do grande número de trabalhos realizados, muitos alimentos ainda não foram estudados, principalmente quando se trata de plantas de cultivo e consumo limitado em determinada região, que não são conhecidas por grande parte da população. Desta forma a avaliação de alimentos populares e tradicionais pode oferecer muitos benefícios na promoção da saúde humana (PRADO, 2008)

2.3 COMPOSTOS FENÓLICOS

São definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais (MALACRIDA; MOTTA, 2005).

Os compostos fenólicos (Figura 7) de fontes vegetais podem se divididos em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides sendo que ambos são metabólitos secundários. Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas. (SOUZA et al., 2007).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (SOUZA et al., 2007).

Estudos realizados com compostos fenólicos e, especialmente, com os flavonóides demonstram sua capacidade antioxidante e sua significativa contribuição na dieta, assim como seu efeito na prevenção de diversas enfermidades, tais como: enfermidades cardiovasculares, cancerígenas e doenças neurológicas. Os compostos fenólicos agem como antioxidantes não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também por causa de seus

radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de ácidos graxos e de óleos (SOARES; WELTER; KUSKOSKI, 2007).

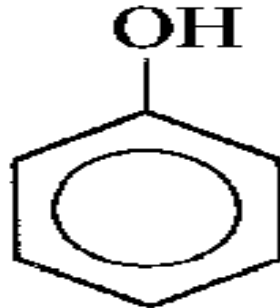


Figura 7 – Composto fenólico

Fonte: MARCUCCI et al (2013).

2.4 QUANTIFICAÇÕES DE COMPOSTOS FENÓLICOS PELO MÉTODO FOLIN CIOCALTEAU

O método que emprega o reagente Folin-Ciocalteu (Figura 8) está baseado na capacidade de redução do reagente em contato com grupos capazes de serem oxidados, esta análise determina todas as moléculas fenólicas, sem diferenciar entre ácido gálico, monômeros, dímeros e compostos fenólicos grandes (BAGGIO, 2006).

Nesse meio reacional ocorre a formação de complexos que absorvem em 620 e 700 nm e a curva padrão é realizada utilizando ácido gálico. (GALLICE; MESSERSCHMIDT; ZAMORA, 2011).

A quantificação dos compostos fenólicos pelo método que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu baseia-se na redução dos ácidos fosfotungstíco ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), presentes no reagente de Folin-Ciocalteu, pelos fenólicos presentes na amostra a óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}) em meio alcalino. Estes óxidos formados apresentam coloração azulada, possibilitando a quantificação da absorvância da solução através de espectrofotometria na região do visível. Utilizando-se uma curva de calibração do padrão é possível correlacionar a intensidade da cor à concentração de fenóis presentes na amostra, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (EAG) (CRUZ, 2008).

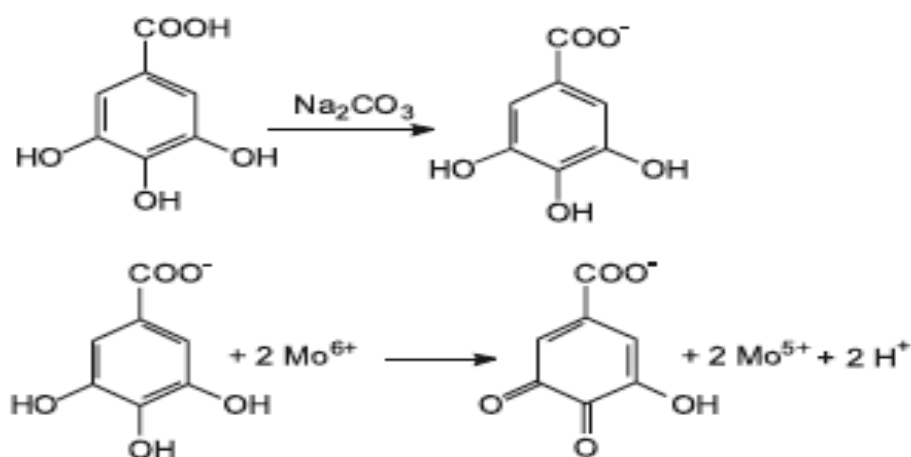


Figura 8 - Reação do ácido gálico com molibdênio, componente do reagente de Folin-Ciocalteu

Fonte: OLIVEIRA et al (2009).

2.5 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Vários são os métodos para testar a atividade antioxidante, podendo ser usados para compostos isolados e extratos. Estes métodos podem ser testados *in vitro* e *in vivo*. Não existe um método satisfatório que consiga avaliar a atividade antioxidante total de uma amostra, pois existem vários mecanismos antioxidantes que podem ocorrer (OU et al ., 2002).

A determinação da capacidade antioxidante de uma amostra pode depender da tecnologia e do radical livre gerador ou oxidante utilizado nesta medida. Além disso, a comparação de diferentes métodos analíticos constitui um fator chave para ajudar os pesquisadores a escolher em um método e entender os resultados obtidos através do mesmo. Segundo Alonso et al., (2002), alguns métodos antioxidantes produzem resultados diferentes ou mesmo contraditórios, tornando-se algumas vezes impossível qualquer comparação entre eles (SÁ, 2012).

Os métodos escolhidos para realizar a determinação do potencial antioxidante são o método do radical DPPH e ABTS.

2.5.1 Métodos do Radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila)

O DPPH é um método químico, aplicado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres (Figura 9). É um radical de nitrogênio orgânico,

estável, de cor violeta, que possui absorção na faixa de 515-520 nm. A redução do radical é monitorada pelo decréscimo da absorbância durante a reação (SUCUPIRA et al., 2012).

A inibição de radicais livres é determinada em função do Trolox, um padrão submetido às mesmas condições de análise do antioxidante.

O sequestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a ação dos antioxidantes. O método de sequestro do radical livre DPPH pode ser utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em curto período de tempo (SUCUPIRA et al., 2012).

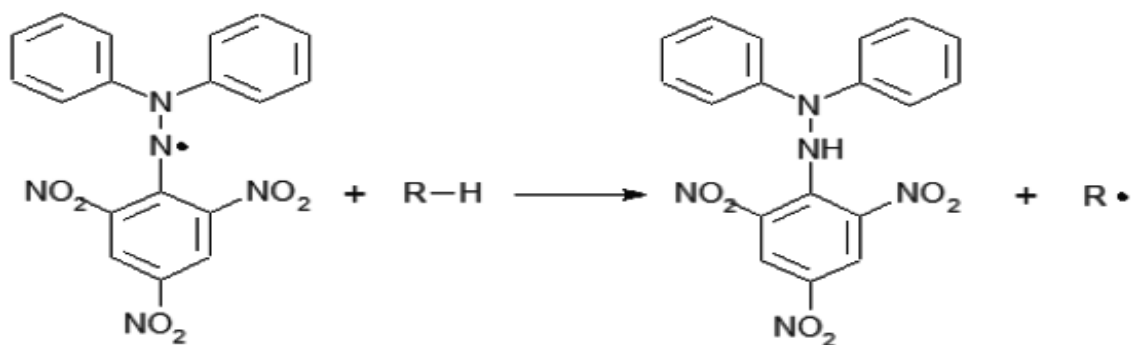


Figura 9 – Reação entre o radical livre DPPH e um antioxidante

Fonte: Adaptado de KUMAR et al (2011).

2.5.2 Métodos do Radical ABTS [(Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico]

O radical ABTS é produzido a partir de um precursor, o ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico. O radical ABTS é um composto cromóforo quimicamente estável, apresenta alta solubilidade em água e um máximo de absorbância a 414 nm, e de medidas secundárias de absorbância a 645, 734 e 815 nm (SUCUPIRA et al., 2012).

O método do ABTS está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion ABTS^{•+}. Esta captura provoca um decréscimo na absorbância, que é lida a partir da mistura do radical com o antioxidante em diferentes tempos, sendo representadas graficamente. Esse método baseia-se na geração do ABTS^{•+}, que apresenta cor azul esverdeado, por meio da reação do ABTS^{•+} com persulfato de potássio. Com a adição de um antioxidante, ocorre a redução do ABTS^{•+} a ABTS promovendo a perda da coloração do meio reacional (Figura 10). Com a perda de cor, a porcentagem de inibição do ABTS^{•+} é determinada também em função do Trolox (SUCUPIRA et al., 2012).

O TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) ou Teste do ABTS é um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante através da captura do radical, que

pode ser gerado através de uma reação química, eletroquímica ou enzimática. A vantagem do teste ABTS consiste na sua relativa simplicidade que permite a aplicação na rotina de qualquer laboratório e com o ABTS pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica; enquanto que o DPPH só pode ser dissolvido em meio orgânico (DARONCHO 2012).

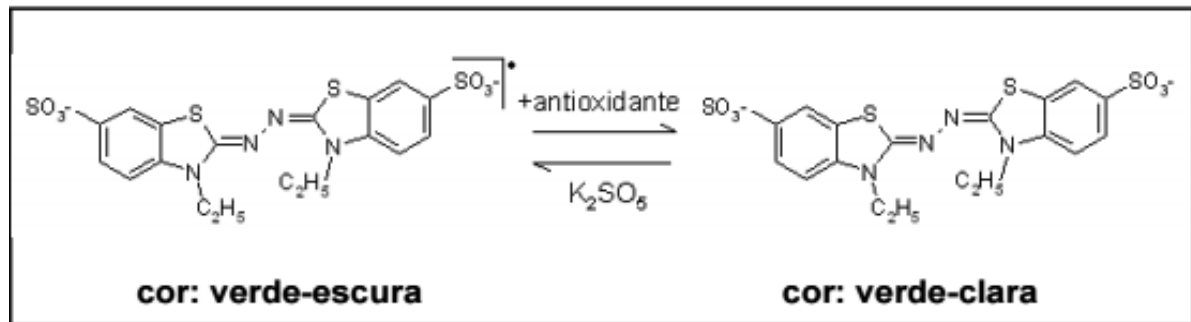


Figura 10 - Estabilização do radical ABTS por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio

Fonte: SUCUPIRA et al (2012).

O tempo necessário para a realização da análise do ABTS é consideravelmente menor em comparação ao DPPH, mas ambos os métodos permitem alcançar conclusões praticamente similares (SANTOS et al., 2008).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As amostras foram adquiridas da empresa Ferquímica Ind. e Com. Ltda, localizada em Vargem Grande Paulista, SP. O laudo técnico contendo informações de cada óleo essencial foi fornecido pela empresa (em anexo).

Os óleos que serão utilizados são de seis tipos de vegetais: gengibre, alecrim, cravo, hortelã, laranja doce e anil estrelado.

3.1 MATERIAIS

- ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfônico)
- Ácido Gálico
- Carbonato de Sódio Anidro
- DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)
- Etanol P.A
- Folin-Ciocalteu
- Metanol P.A
- Persulfato de Potássio
- Trolox

3.2 PROCEDIMENTOS

As análises foram realizadas no laboratório de Análise Instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Toledo (UTFPR) utilizando amostras de óleos essenciais de seis espécies de plantas, visando á determinação de compostos fenólicos totais utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e ABTS. Foi realizada varredura espectrofotométrica nos três métodos. Todas as análises foram realizadas sob proteção da luz. Todas as soluções das amostras e padrões foram preparadas diariamente antes da utilização.

3.2.1 Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (SOUZA et al., 2007).

Através de uma curva de calibração de ácido gálico é possível correlacionar a intensidade da cor à concentração de fenóis presente na amostra, sendo o resultado expresso em equivalente de ácido gálico (EAG) (CRUZ, 2008). A curva padrão de ácido gálico foi preparada com concentrações de 10 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Os óleos essenciais foram diluídos em metanol. Para a reação, uma alíquota de 0,3 mL da solução metanólica foi adicionada a 2,5 mL de solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu a 10% e 2,0 mL de carbonato de sódio a 7,5%. Incubou-se a mistura durante 5 minutos em banho-maria a 50 °C e, posteriormente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro UV/Vis na região do visível (700 nm). O branco foi obtido substituindo-se o volume de amostra por metanol, mantendo-se as mesmas quantidades de reagente de Folin-Ciocalteu e solução de carbonato de sódio. Os resultados foram expressos em μg equivalentes de ácido gálico (EAG) μg^{-1} de óleo. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

3.2.2 Determinação da Atividade Antioxidante Pelo Método do DPPH

Para a avaliação da atividade antioxidante foi utilizado o método fotocolorimétrico do DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazila). Os óleos essenciais foram avaliados em diferentes concentrações, todos diluídos em metanol (2,5 mL).

A 2,5 mL de cada diluição da amostra, foi adicionado 1,0 mL da solução de DPPH 0,3 mol/L em metanol. Após 60 minutos à temperatura ambiente, foi realizada as leituras das absorvâncias em espectrofotômetro a 517 nm, onde o radical DPPH apresenta o máximo de absorção. Como controle negativo utilizou-se 1,0 mL da solução de DPPH 0,3 mol L⁻¹ com 2,5 mL de metanol; o metanol foi usado como branco.

O ensaio foi realizado em triplicata e o cálculo da porcentagem de inibição de radicais livres através da Equação (1):

$$\% \text{Inibição} = \frac{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{ext}})}{A_{\text{DPPH}}} * 100 \quad (1)$$

Onde:

A_{ext} é a absorbância da amostra e A_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH em metanol.

Após o cálculo, construiu-se um gráfico de porcentagem de inibição *versus* a concentração de óleo essencial.

Através da equação da reta deste gráfico, foi possível calcular o valor de IC₅₀, substituindo 50% na equação da curva (y) de cada óleo analisado, determinando assim a concentração necessária para inibir 50% do radical (x).

Foi calculado também o índice de atividade antioxidante (AAI) como proposto por Scherer e Godoy (2009), através da Equação (2).

$$AAI = \frac{\text{Concentração final de DPPH } (\mu\text{g mL}^{-1})}{IC_{50} (\mu\text{g mL}^{-1})} \quad (2)$$

Considerou-se ação antioxidante fraca quando o AAI < 0,5, ação moderada quando AAI estiver entre 0,5 e 1,0, ação antioxidante forte quando o AAI for de 1,0 a 2,0, e ação muito forte para valor de AAI > 2,0 (SHERER et al., 2009).

Como referência utilizar-se-á o Trolox, um antioxidante sintético, nas concentrações de 50 a 1000 μM , equivalente à 1000 μM . Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em μM Trolox/ μg de óleo.

3.2.3 Determinação da Atividade Antioxidante Pelo Método do ABTS

A atividade antioxidante pelo método do ABTS^{•+} foi realizada conforme metodologia descrita pela RUFINO et al., (2007). O radical ABTS forma-se pela reação da solução de persulfato de potássio 140 mM com a solução ABTS^{•+} 7 mM, reservado ao abrigo da luz a 25 °C, durante 16 horas.

Obtido o radical, este foi diluído com etanol P.A. até a obtenção da absorvância de $0,700 \pm 0,020$ a 734 nm. Para cada tratamento, foram preparadas cinco diluições diferentes, todas em triplicata. Transferiu-se 30 μL de cada diluição do óleo para tubos de ensaio contendo 3 mL do radical ABTS. Após 6 minutos de reação e utilizando etanol como branco foi realizado a leitura a 734 nm. Como referência também foi utilizado o Trolox nas concentrações de 100 a 2000 μM . Os resultados da atividade antioxidante foram expressos em TEAC, μM Trolox μg^{-1} de óleo equivalentes à 1000 μM .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A análise de teor de compostos fenólicos totais de cada óleo essencial foi feita espectrofotometricamente de acordo com o método fotocolorimétrico de Folin-Ciocalteu, utilizando o ácido gálico como padrão (SOUZA, 2007).

Determinou-se seu conteúdo total nos óleos essenciais de gengibre, alecrim, cravo, laranja doce, hortelã e anil estrelado.

A curva de calibração do ácido gálico é apresentada no Gráfico 1, onde relaciona a concentração de ácido gálico com a média das absorvâncias. O gráfico também traz a equação da reta e o coeficiente de determinação linear (R^2).

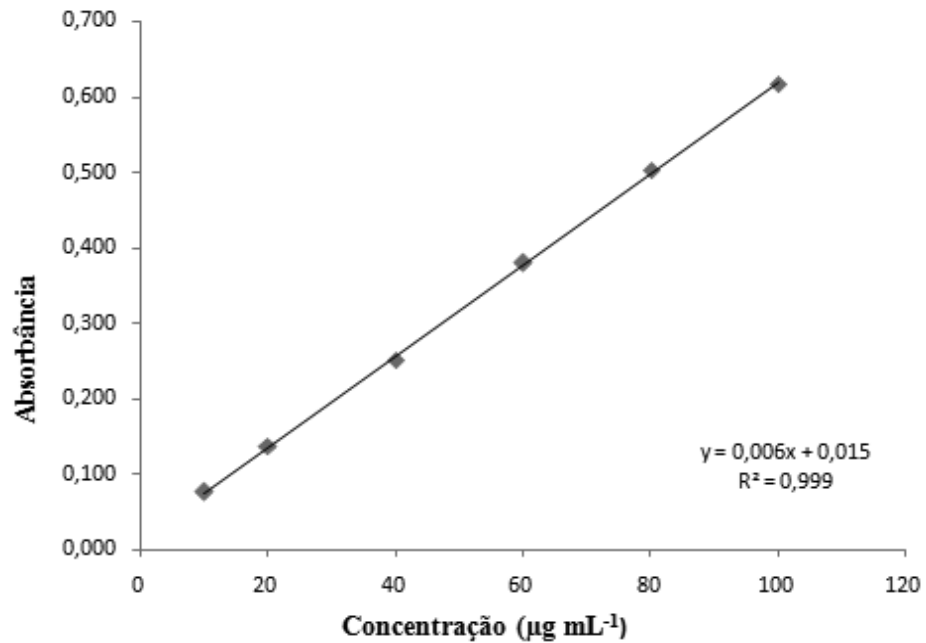


Gráfico 1 - Curva padrão de ácido gálico.

O valor do coeficiente de correlação linear obtido foi de 0,999, demonstrando uma ótima linearidade da curva.

Através da equação da curva de calibração, utilizando os valores das médias das absorbâncias, foi possível determinar os valores das concentrações equivalentes de ácido gálico presente em cada amostra analisada.

As concentrações de compostos fenólicos totais em cada óleo são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Compostos fenólicos totais presentes nos óleos essenciais expressos em (µg EAG µg⁻¹).

Óleo essencial	Fenóis totais (µg EAG µg ⁻¹)
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	0,0599
Alecrim (<i>Rosmarinus officinallis L</i>)	0,0184
Cravo (<i>Eugenia caryophyllata</i>)	0,9690
Hortelã (<i>Mentha arvensis</i>)	0,0156
Laranja doce (<i>Citrus aurantium var, dulcis</i>)	0,0990
Anil estrelado (<i>Illicium verum</i>)	0,0528

Nota-se na Tabela 1 que o óleo essencial que apresentou maior concentração de compostos fenólicos foi o de cravo ($0,9690 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$). O eugenol é um composto fenólico volátil e é o principal constituinte do óleo extraído do cravo (MAZZAFERA, 2003). Estudos realizado por Mazzafera (2003) concluiu que o eugenol representa aproximadamente 35% dos fenóis extraídos do cravo da Índia.

Segundo o laudo técnico do óleo essencial do cravo, o teor aproximado de eugenol é de 86%. É um composto fenólico cuja eficácia como agente antixodante já foi comprovada tanto *in vitro* como *in vivo* (MORAIS, 2009). Isso explica a alta concentração de fenóis totais presentes no óleo de cravo.

Por outro lado, os óleos essenciais que apresentaram menor concentração de compostos fenólicos foram o de Hortelã ($0,0156 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$) e o de alecrim ($0,0184 \mu\text{g EAG } \mu\text{g}^{-1}$).

De acordo com estudos realizados por Biachin e Carpes (2010) a concentração de compostos fenólicos encontrado no óleo essencial de alecrim foi de $40,15 \pm 0,13$ (mg EAG g^{-1}). Os compostos com maiores teores no óleo essencial de alecrim, segundo o laudo técnico é o 1,8 cineol, com o teor de 48% e a cânfora com de 12%. O 1,8 cineol é um é hidrocarboneto monoterpênico, a cânfora é uma cetona, sendo que nenhum desses dois compostos apresentam estruturas fenólicas. Devido a esse motivo quantificou-se a baixa concentração de compostos fenólicos.

Nakamura et al. (2013) através de sua análises quantificou $47 \text{ mg EAG } \text{g}^{-1}$ material seco em chá de hortelã da espécie *Mentha arvensis*. De acordo com a literatura o óleo de hortelã pimenta tem baixíssima quantidade de terpenos com anel aromático (NILO, 2015), podendo justificar a baixa quantidade de fenóis encontrada neste óleo.

As análises de compostos fenólicos são influenciadas pela sua estrutura química, método de extração empregado, tamanho das partículas da amostra e tempo e condições de armazenamento, bem como pelo método de análise, seleção de padrões e presença de substâncias interferentes, como gorduras, terpenos e clorofilas (BEAL, 2006) e assim influenciar diretamente na atividade antioxidante (RIBEIRO, 2013).

Os compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças são considerados um dos principais responsáveis pela atividade antioxidante desses alimentos (SILVA et al., 2012), Apesar de ainda não haver um esclarecimento com relação ao seu mecanismo *in vivo* (AFFONSO et al., 2012).

4.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DO DPPH

No presente estudo determinou-se o potencial antioxidante dos óleos essenciais de gengibre, alecrim, cravo, laranja doce, hortelã e anil estrelado.

À medida que o DPPH sofre redução pelos componentes presentes na solução teste, observa-se mudança da coloração da solução original de violeta intensa para amarela, proporcional à concentração da substância com potencial antioxidante presente, podendo ser medida espectrometricamente a 517 nm (ANDRADE, 2007). Alguns autores recomendam a utilização do método DPPH por ser um recurso fácil e preciso para a avaliação da atividade antioxidante de produtos naturais (TOMEI; SALVADOR, 2007).

A metodologia utilizada foi proposta por Rufino et al. (2007), sendo modificado apenas o tempo de incubação, usou-se o tempo de 60 minutos. Os resultados foram expressos através da quantidade de antioxidante capaz de inibir 50% dos radicais livres DPPH presentes na solução, este índice denomina-se IC_{50} . Um valor baixo de IC_{50} indica que será necessária uma pequena quantidade de óleo essencial para reduzir 50% do radical livre DPPH e consequentemente maior será seu potencial antioxidante. Utilizou-se diferentes concentrações de acordo com a capacidade antioxidante de cada amostra, a fim de obter uma curva linear entre a concentração do antioxidante e a porcentagem de inibição como exemplificado no Gráfico 2, sendo a curva referente ao gengibre. A partir da curva e da equação da reta obtida para cada amostra, calculou-se o IC_{50} .

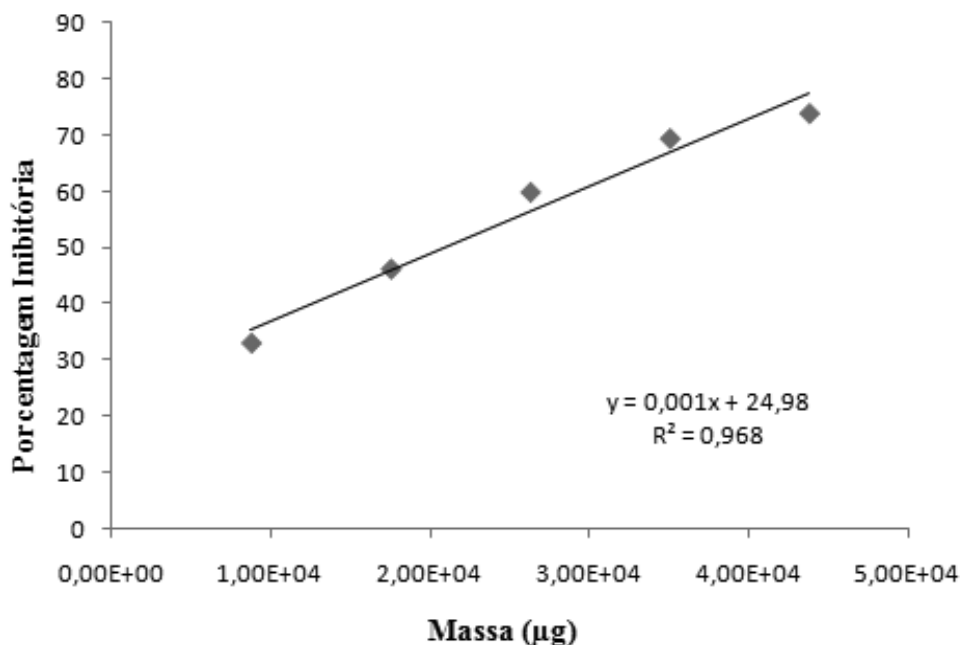


Gráfico 2 – Curva do óleo essencial de gengibre – DPPH.

A variação das massas e concentração usada, o coeficiente de correlação linear e o IC_{50} obtido para cada óleo essencial analisado são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Variação das massas e concentração utilizada, coeficientes de correlação linear (R^2) e IC_{50} obtidos para cada óleo essencial na determinação do potencial antioxidante pelo método do DPPH.

Óleo essencial	Intervalo de massa e concentração	R^2	IC_{50}
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	8760 – 43800 (µg)	0,968	25020 (µg)
Alecrim (<i>Rosmarinus officinallis L.</i>)	4570 – 22870 (µg)	0,918	8805 (µg)
Cravo (<i>Eugenia caryophyllata</i>)	2,615 – 15,69 (µg mL ⁻¹)	0,981	3,15 (µg mL ⁻¹)

Os óleos essenciais de hortelã, laranja doce e anil estrelado que também foram analisados não apresentaram inibição, pois necessitam de uma concentração maior que $1,5 \times 10^5$ µg de óleo para inibir 50% do radical DPPH, evidenciando a inviabilidade de serem utilizados diretamente nos alimentos, pois poderiam modificar suas características sensoriais, a não ser que estas modificações sensoriais fossem desejadas, isso acontece por apresentarem potencial antioxidante muito baixo.

O óleo essencial que apresentou o melhor resultado de IC_{50} foi o de cravo, por necessitar de $3,15 \mu\text{g mL}^{-1}$ para inibir 50% do radical DPPH, resultado próximo ao encontrados por Scherer e Godoy (2009) que foram de 3,28, 2,94 e 2,94 e para o eugenol, composto majoritário do cravo, foi de 3,02, 2,65 e 2,83, com uma concentração final de DPPH de $30,75 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O eugenol muito presente no óleo de cravo, é um dos maiores responsáveis pela alta atividade antioxidante, possui capacidade inibitória da peroxidação lipídica na fase de iniciação e propagação através da interferência nas reações em cadeia, sequestrando o O_2 ativo e, ao ser metabolizado em um dímero (dieugenol), inibe a peroxidação propriamente dita em nível de propagação da reação em cadeia de radicais livres com o α -tocoferol (AFFONSO et al., 2012).

O óleo de alecrim apresentou um resultado significativo, quando comparado com os outros óleos analisados, com um IC_{50} de 8805 μg . Dentre as especiarias, o alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) é uma das que apresenta maior poder antioxidante (RAMALHO; JORGE, 2006b).

Segundo estudos de Tavares e Ramos (2008), foi apresentado para extrato aquoso de alecrim um valor de IC_{50} de $2,28 \mu\text{g mL}^{-1} \pm 0,96$.

O óleo essencial de gengibre necessita de uma grande concentração para inibir 50% do radical DPPH (25020 μg), continuando ainda viável a sua utilização. Em estudos realizados concluiu-se que a atividade antioxidante da oleoresina de gengibre deve-se principalmente aos gingeróis e shogaóis, substâncias que conferem ao gengibre *in natura* seu sabor característico (ANDREO; JORGE, 2007c). O gengibre também apresenta propriedades antioxidantes devido à presença de compostos flavonóides, alcalóides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, carotenóides e compostos fenólicos (ANDREO; JORGE, 2010b).

Beal (2006) encontrou para extratos hidrodestilados de gengibre um valor de IC_{50} (10 mg mL^{-1}) muito alto, indicando um fraco poder de seqüestro de radicais livres, condizendo com os resultados obtidos para óleo essencial.

Quanto menor o valor de IC_{50} apresentado pelo óleo, menor será a concentração necessária para reduzir 50% do radical livre DPPH e maior será a sua atividade antioxidante.

Os óleos de alecrim e gengibre apresentaram atividade antioxidante significativa, mas devido a baixa quantidade não foi possível o cálculo do AAI. Cálculo que foi possível somente para o óleo de cravo, pois foi o único óleo que precisou ser diluído, obtendo uma

concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$), que é necessária no cálculo, os demais óleos (gengibre e alecrim) foram utilizados brutos, sem precisar diluí-los, não podendo obter essa concentração.

Não foi possível calcular o AAI para os óleos de hortelã, laranja doce e anil estrelado, pois para os cálculos é necessário o IC_{50} , que não foi possível determinar para esses óleos devido a sua atividade antioxidante ser extremamente baixa.

O Índice de Atividade Antioxidante (AAI) obtida para o cravo foi de 10,73. Observa-se que o índice de atividade antioxidante para o óleo essencial de cravo é considerado muito forte, pois de acordo com Scherer e Godoy (2009) considera-se ação antioxidante fraca quando o AAI $< 0,5$, ação moderada quando AAI estiver entre 0,5 e 1,0, ação antioxidante forte quando o AAI for de 1,0 a 2,0, e ação muito forte para valor de AAI $> 2,0$.

De acordo com análises realizadas por Scherer e Godoy (2009) foi encontrado para o óleo essencial de cravo valores de IAA de 9,36, 10,44 e 10,45 para uma concentração de DPPH de $30,75 \mu\text{g mL}^{-1}$. Apresentou ação antioxidante muito forte devido a presença de eugenol na composição, pois o eugenol apresentou valores de IAA entre 10,19, 11,58 e 10,86.

O óleo essencial de cravo possui uma atividade antioxidante maior que BHT sobre radicais hidroxila, como quelante de ferro e na peroxidação lipídica (MIRANDA, 2010).

4.2.1 Determinação da Atividade Antioxidante Equivalente ao Trolox

Existem substâncias com propriedades antioxidantes utilizadas no processamento de óleos e gorduras e nos alimentos que, em geral, são capazes de retardar a oxidação lipídica, dentre estes, Trolox (ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano) (RUFINO et al., 2007) um análogo sintético hidrofílico do α -tocoferol, que é largamente usado como padrão antioxidante (COSTA, et al., 2012).

O Trolox foi utilizado como referência nas concentrações de 50 a 1000 μM . Os resultados da atividade antioxidante foram expressos também em TEAC (1000 μM) onde o resultado foi expresso ($\mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$ de óleo).

O Gráfico 3 apresenta a curva padrão do Trolox, onde relaciona a concentração com a média das absorbâncias obtidas através da leitura espectrofotométrica.

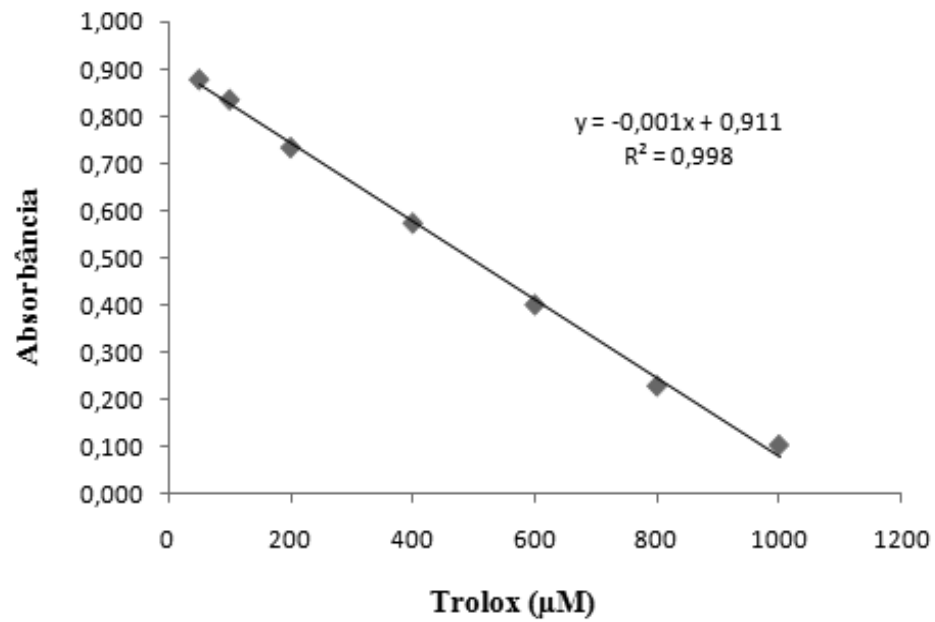


Gráfico 3 – Curva padrão de Trolox - DPPH

O coeficiente de correlação linear foi de 0,998, apresentando uma boa linearidade da curva.

A partir das diferentes diluições dos óleos plotou-se um gráfico para cada óleo, relacionando a quantidade do óleo utilizado e a média das absorbâncias. Os resultados foram calculados a partir da equação da curva. Exemplificando no Gráfico 4, a curva do óleo essencial de gengibre.

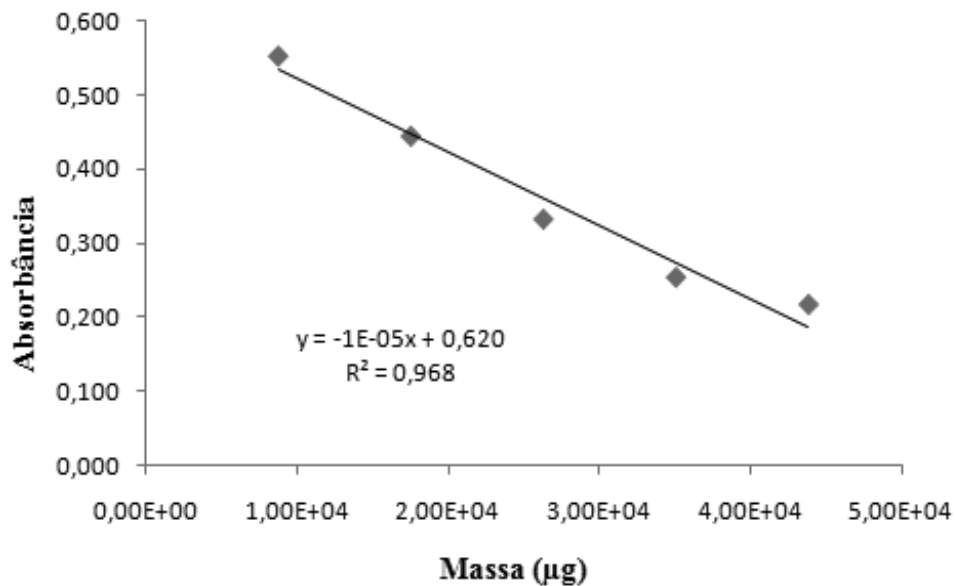


Gráfico 4 – Curva do óleo essencial de gengibre (Trolox – DPPH)

Os resultados da atividade antioxidante pelo método DPPH foram expressos como capacidade antioxidante total equivalente ao Trolox - TEAC conforme descrito na Tabela 3.

Tabela 3 – Atividade antioxidante determinada em TEAC pelo método DPPH

Óleo essencial	TEAC ($\mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) equivalente a 1000 $\mu\text{M de Trolox}$
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	$5,31 \times 10^{-4}$
Alecrim (<i>Rosmarinus officinallis L.</i>)	$2,8 \times 10^{-4}$
Cravo (<i>Eugenia caryophyllata</i>)	15,84

O óleo essencial que obteve melhor resultado entre os óleos analisados foi o de cravo ($15,84 \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$).

Até onde se sabe, não há muitos trabalhos que quantifiquem a capacidade antioxidante do cravo com o padrão Trolox (SICHERI, 2013) o que dificulta a comparação dos resultados, o mesmo vale para o método do radical ABTS. Contudo, pode-se mais uma vez relacionar a alta capacidade antioxidante a presença do composto eugenol no óleo de cravo (aproximadamente 86%).

O óleo alecrim ($2,8 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) e o óleo de Gengibre ($5,31 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) necessitaram de uma quantidade em TEAC para a ação antioxidante.

Quanto menor o valor de TEAC maior é a capacidade de capturar cátions, ou seja, maior será seu poder antioxidante quando comparado com uma quantidade do padrão do antioxidante sintético Trolox.

4.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS

A atividade antioxidante dos óleos essenciais foi medida em termos de poder de seqüestro de radicais, de acordo com o método ABTS. Este método mede a habilidade da amostra em seqüestrar o radical ABTS, comparada com uma quantidade padrão de Trolox, e é uma excelente ferramenta para determinar a atividade antioxidante de antioxidantes doadores de hidrogênio e de antioxidantes terminadores de cadeias (BEAL, 2006).

A curva padrão de Trolox usada para determinar a atividade antioxidante pelo método do radical ABTS apresenta-se no Gráfico 5 .

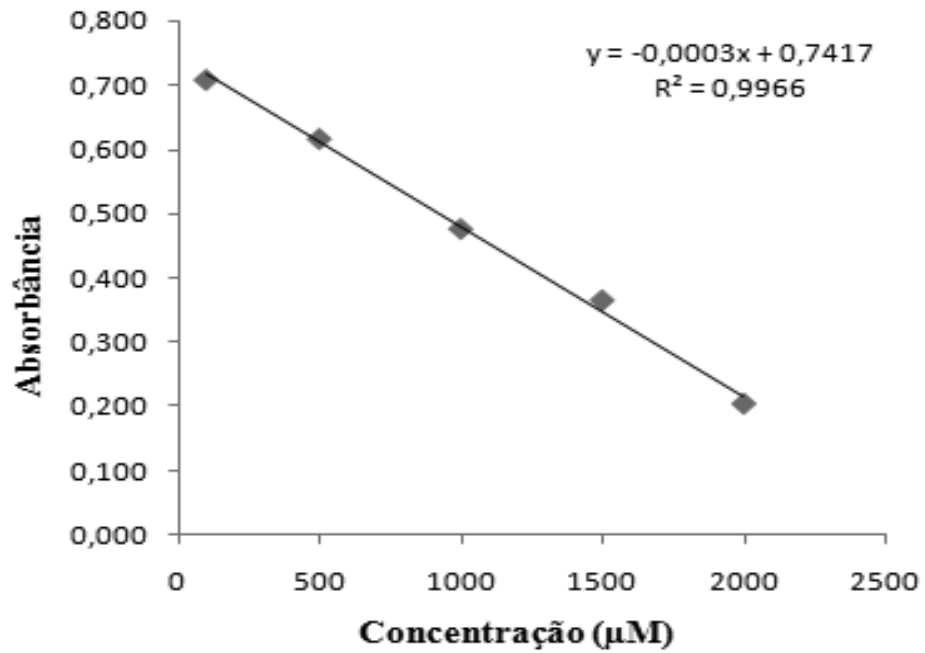


Gráfico 5 - Curva padrão de Trolox - ABTS.

O coeficiente de correlação linear foi de 0,9966, apresentando uma curva com boa linearidade.

O Gráfico 6 apresenta a curva relacionando a concentração e a média das absorbâncias obtidas através das leituras espectrofotométricas. Os resultados da atividade antioxidante foram calculados a partir da equação da curva.

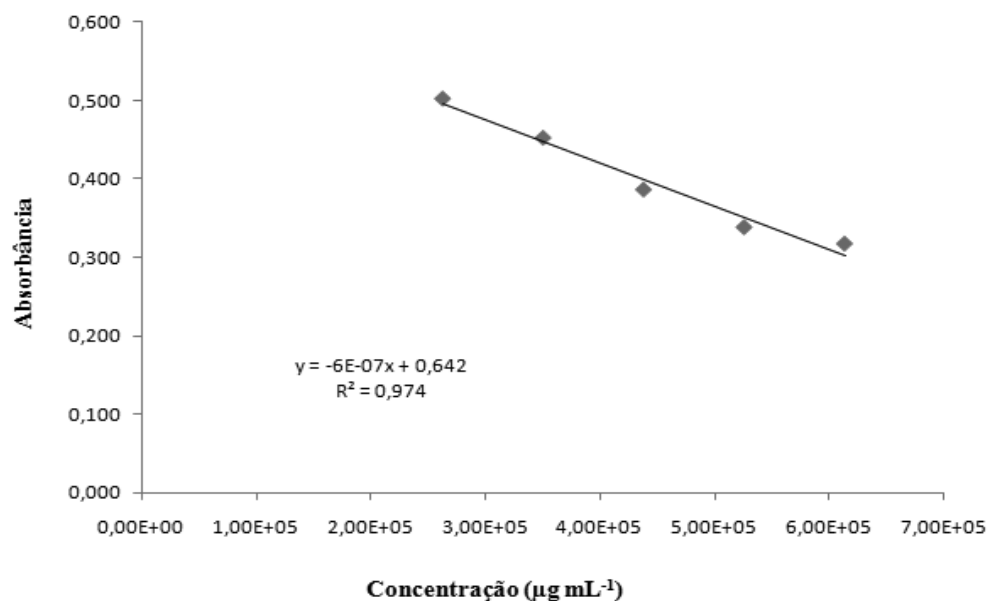


Gráfico 6 - Curva do óleo essencial de gengibre - ABTS.

O intervalo de concentrações utilizadas de óleo, o coeficiente de correlação linear e os resultados obtidos pelo método do radical ABTS estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Variação das concentrações utilizadas, coeficientes de correlação linear (R^2) e TEAC obtidos para cada óleo essencial na determinação do potencial antioxidante pelo método do ABTS

Óleo essencial	Intervalo de concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	R^2	TEAC ($\mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) equivalente a 1000 $\mu\text{M de Trolox}$
Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	$2,63 \times 10^5 - 6,13 \times 10^5$	0,974	$3,33 \times 10^{-5}$
Alecrim (<i>Rosmarinus officinallis L.</i>)	$2,29 \times 10^4 - 2,75 \times 10^5$	0,910	$9,65 \times 10^{-4}$
Cravo (<i>Eugenia caryophyllata</i>)	2,1 - 10,46	0,957	2,13

Como ocorreu no método DPPH não foi encontrado capacidade de captura de radicais livres em amostras de óleos essenciais de hortelã, laranja doce e hortelã quando submetidos à análise pelo método do radical ABTS.

O óleo essencial com melhor resultado foi o de cravo com um resultado de (2,13 $\mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$). O alecrim ($9,65 \times 10^{-4} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) e o gengibre ($3,33 \times 10^{-5} \mu\text{M Trolox } \mu\text{g}^{-1}$) também apresentaram resultados viáveis, mas não tão elevados quanto o do cravo.

De acordo com Tomaz e Moraes (2015) para amostra de extrato etanólico de alecrim com 0,4%, resultando em uma concentração de aproximadamente 10 g L^{-1} , observou-se uma redução média de $1,6 \pm 0,4\%$ resultando em um valor médio em termos de TEAC de $0,04 \pm 0,01 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$ de extrato.

Beal (2006) analisou vários tipos de extratos de gengibre. Os extratos etéreos apresentaram as maiores capacidades antioxidantes ($317,30 - 251,29 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$) seguidos pelos extratos aquosos ($161,44 - 115,30 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$). Os extratos alcoólico e acetônico apresentaram capacidade antioxidante muito inferior aos outros ($78,94 - 34,87 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$ e $60,77 - 32,34 \mu\text{M Trolox g}^{-1}$, respectivamente).

Os resultados são condizentes com os resultados encontrados para o método de DPPH o que já era esperado, pois as substâncias analisadas são óleos, não havendo substâncias hidrófilas o que poderiam ocasionar resultados diferentes entre as duas técnicas.

Fatores como maturação, espécie, prática de cultivo, origem geográfica, estágio de maturação, condições de colheita e processo de armazenamento, podem influenciar no

conteúdo final destes compostos (SILVA et al., 2012), podendo explicar a diferença entre os resultados obtidos no presente estudo e os resultados encontrados na literatura, isso vale para os resultados apresentados nos outros métodos.

Silveira (2012) cita que diversos trabalhos de avaliação de atividade antioxidante utilizam a planta, o óleo ou o extrato, e é difícil se ter uma comparação com outras literaturas, já que a atividade antioxidante pode ser expressa de diversas formas. Confirma também que outro fator que pode contribuir para essa dificuldade são as modificações introduzidas nas metodologias, tais como os volumes adicionadas das soluções de extrato e/ou de radicais livres.

Com ABTS pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica, enquanto que o DPPH só pode ser dissolvido em meio orgânico (DARONCHO et al., 2012).

A vantagem do ensaio ABTS é sua simplicidade, o que permite a aplicação em análises de rotina em qualquer laboratório. Sua principal limitação é geral a todos os métodos indiretos de avaliação da atividade antioxidante (BEAL, 2006).

Segundo Sucupira et al., (2012) a escolha do método é muito importante para comprovar a existência de atividade antioxidante em frutas e hortaliças, assim, como o método ABTS é uma análise nova, em relação ao DPPH, torna-se necessário mais testes comparativos com o DPPH para que possa tirar conclusões.

Tanto o teste de ABTS como o DPPH possibilitam avaliar a atividade antioxidante, mas cabe aos pesquisadores ter real conhecimento destes e optar pelo método que melhor contribua para o resultado final de seus experimentos (DARONCHO, et al., 2012).

A atividade antioxidante de diferentes amostras é difícil de ser comparada, pois os autores utilizam diferentes diluições das amostras para a realização da análise, já que cada amostra apresenta um poder antioxidante diferente. Além disso, as análises e formas para expressar os resultados são diversas (COUTO; CANNIATTI-BRAZACA, 2010).

Alguns autores evidenciaram relação positiva e significativa entre o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante de hortaliças e frutas e outros autores não evidenciaram essa relação. Dessa forma, a não correlação pode estar relacionada às características e o mecanismo de ação destes compostos e a metodologia utilizada para avaliar sua capacidade antioxidante (SILVIA et al., 2012).

Acredita-se que a atividade antioxidante de um extrato não pode ser explicada apenas com base em seu teor de fenólicos totais, sendo necessária também, a caracterização da

estrutura do composto ativo (TAVARES; RAMOS, 2008), podendo explicar o fato pelo qual o óleo de alecrim possui baixa concentração de compostos fenólicos e apresenta atividade antioxidante. Pode-se explicar também o fato do óleo essencial de laranja e o de anil estrelado apresentarem um alto teor de compostos fenólicos, mas não apresentaram atividade antioxidante.

5 CONCLUSÃO

Através do estudo pode-se concluir que o óleo essencial com maior teor de compostos fenólicos foi de cravo, seguido pela laranja, gengibre, anil estrelado, alecrim e hortelã respectivamente.

Observou-se também que o óleo essencial de cravo apresenta atividade antioxidante muito forte, a maior entre os óleos analisados, por apresentar o menor IC_{50} e único que foi possível o cálculo do AAI, quando comparados com o cravo, o óleo de alecrim e gengibre apresentaram baixo potencial de atividade antioxidante. Para os óleos de laranja, anil estrelado, hortelã não foi possível determinar por ser extremamente baixo o seu potencial.

Os resultados obtidos para o método do DPPH e ABTS em TEAC foram condizentes.

Para o alecrim não foi possível relacionar a atividade antioxidante com o teor de compostos fenólicos. Segundo a literatura a atividade antioxidante não pode ser explicada somente em base de concentração de fenóis, necessitando também a caracterização da estrutura de outros compostos ativos.

Recomenda-se a realização de novos estudos com a finalidade de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associação entre eles, com o intuito de diminuir a quantidade utilizada de antioxidante sintético.

REFERÊNCIAS

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. **Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia**. 2012. Disponível em: <<http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/view/254/234>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 19:33.

AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. **Interação Entre Antioxidantes Naturais e Espécies Reativas do Oxigênio nas Doenças Cardiovasculares: Perspectivas para a Contribuição do Alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*)**. 2010. Disponível em: <<http://www.revistanutrire.org.br/files/v35n1/v35n1a10.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 21:09.

ANDRADE, M. A. **Óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum*, *Cymbopogon nardus* e *Zingiber officinale*: Caracterização Química, Atividade Antioxidante e Antibacteriana**. Lavras, Minas Gerais, 2010. Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/1510/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20%C3%93leos%20essenciais%20de%20Cinnamomum%20zeylanicum,%20Cymbopogon%20nardus%20e%20Zingiber%20officinale%20%20caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20qu%C3%ADmica%20....pdf>>. Acesso em: 30 de fevereiro de 2014, 15:26.

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, M. G.; MACHADO, S. M. F.; SILVA, L. F.; MALLET, A. C. T. **Caracterização Química E Atividade Antioxidante Do Óleo Essencial De *Zingiber officinale***. 2010. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2010/trabalhos/7/7-200-8275.htm>>. Acesso em: 23 de Janeiro de 2014, 14:45

ANDRADE C. A.; COSTA C. K.; BORA K.; MIGUEL M. D.; MIGUEL O. G.; KERBER V. A. **Determinação do Conteúdo Fenólico e Avaliação da Atividade Antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, *Leguminosae-mimosoideae***. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v17n2/16.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 21:03.

ANDREO, D.; JORGE, N. **Antioxidantes Naturais: Técnicas de Extração**. 2006. Engenharia e Ciência de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto-SP. Disponível

em: <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs-2.2.4/index.php/alimentos/article/view/7489/5359>>. Acesso em: 30 de Janeiro de 2014, 15:30. a

ANDREO D.; JORGE N. **Capacidade Antioxidante e Estabilidade Oxidativa de *Gengiber officinale***. 2010. Disponível em: <<http://www.pgss.com.br/revistacientifica/index.php/biologicas/article/download/349/338>>. Acesso em 08 de maio de 2015, 20:39. b

ANDREO D.; JORGE N. **Avaliação da Capacidade Antioxidante do extrato de Gengibre (*Gengiber officinale*) Adicionado ao Óleo de Soja em teste de Estocagem Acelerada**. 2010. Disponível em: <http://periodicos.ses.sp.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0073-98552007000200011&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em 22 de outubro de 2015, 12:14. c

BAGGIO, J. **Avaliação dos Resíduos (Casca e Pó Orgânico) de Café (*Coffea Arabica L.*) Como Provável Fonte de Substâncias Bioativas**. 88f. Dissertação (Mestrado em ciência dos alimentos) – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006. Disponível em: <<http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp002200.pdf>>. Acesso em: 24 jan. 2013, 14:20.

BEAL B. H. **Atividade Antioxidante e Identificação dos Ácidos Fenólicos do Gengibre (*Zingiber officinale* ROSCOE)**. 2006. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/88395/231714.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 16:46

BENZAQUEN, T. **Os Antioxidantes**. 2009. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/83.pdf>>. Acesso em: 05 de Março de 2014, às 18:40.

BIANCHI, M. L. P; ANTUNES, L. M. G. **Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta**. 1999. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n2/v12n2a01.pdf>>. Acesso em: 23 de Janeiro de 2014 16:56.

BIANCHIN M., CARPES S. T. C. **Propriedades Antioxidante E Antimicrobiana dos Extratos Etanólicos e Óleo Essencial DE *Rosmarinus officinalis*** . 2010. Disponível em: <<http://conferencias.utfpr.edu.br/ocs/index.php/sicite/2012/paper/viewFile/634/427>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 19:15.

CANSIAN, L. R.; MOSSI, A. J.; PAROUL, N.; TONIAZZO, G.; ZBORALSKI, F.; PRICHOA, F. C.; KUBIAK, G. B.; LERIN, L. A. **Atividade Antioxidante e Antimicrobiana de Extratos de Canela-Sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rowher)**. 2010. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/new/site/pdfs/perspectiva/127_129.pdf>. Acesso em: 30 de Janeiro de 2014, 15:34.

CASTRO, C.; SILVA, M. L.; PINHEIRO, A. L.; JACOVINE, L. A. G. **Análise Econômica do Cultivo e Extração do Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel**. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-67622005000200007>. Acesso em: 22 de Janeiro de 2014, 17:46.

CÓRDOVA A.; NAVAS, F. J. **Os Radicais Livres e o Dano Muscular Produzido Pelo Exercício: Papel dos Antioxidantes**. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-86922000000500006&script=sci_arttext>. Acesso em: 24 de Janeiro de 2014, 14:00.

COSTA, D. A.; OLIVEIRA G. A. L.; SOUZA, D. P.; FREITAS, R. M. **Avaliação do Potencial Antioxidante in Vitro do Composto Ciano-Carvona**. 2012. Disponível em: <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/2242/1334>. Acesso em 26 de outubro de 2015, 10:53.

CRUZ, M. G. F. O. **Usos de Óleos Essenciais na Terapêutica**. Instituto Centro de Vida – Cuiabá – MT. 2013. Disponível em: <<http://laszlo.ind.br/admin/artigos/arquivos/oleosnaterapeutica.pdf>>. Acesso em: 24 de Janeiro de 2014, 16:37.

CRUZ, A. P. G. **Avaliação do Efeito da Extração e da Micro Filtração do Açaí Sobre Sua Composição e Atividade Antioxidante**. Dissertação (Mestrado Ciências) – Programa de

Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/37387/1/TS-0752.pdf>> Acesso em: 24 jan. 2013, 15:51.

DARONCHO, M. **Quantificação da Atividade Antioxidante Através de Análises Pelos Métodos DPPH E ABTS.** 2012. Disponível em: < <http://www.unifra.br/eventos/seminarionutricao2012/Trabalhos/4392.pdf>>. Acesso em: 09 de maio de 2015, 15:42.

DEGÁSPARI, C. H., WASZCZYNSKYJ, N. **Propriedades Antioxidantes de Compostos Fenólicos.** 2004. Universidade Tuiuti do Paraná. Disponível em < <http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs-2.2.4/index.php/academica/article/view/540/453>>. Acesso em 30 de Janeiro, 15:20.

FERRAÇO, T. **Laranja: O Óleo Essencial da Alegria.** 2014. Disponível em: <<http://www.personare.com.br/laranja-o-oleo-essencial-da-alegria-m4909>> Acesso em: 08 de maio de 2015, 18:17.

FREIRE, J. M. **Óleos Essenciais de Canela Manjerona, e Anis Estrelado: Caracterização Química e Atividade Biológica sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*.** Programa de Pós Graduação de CAPES. Lavras – MG. 2008. Disponível em: < http://www.livrosgratis.com.br/arquivos_livros/cp045870.pdf>. Acesso em: 23 de Janeiro de 2014, 15:56.

FREITAS, T. M. B.; PINTO, C. E. M.; ALVES, I. C.; LUNA, A. F.; LUZ, E. W. M. **Avaliação da Atividade Antioxidante da *Psidium guajava* Atráves do Teste DPPH.** Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. 2009. Disponível em: <http://connepi2009.ifpa.edu.br/connepi-anais/artigos/229_314_1838.pdf>. Acesso em: 23 de Janeiro de 2014 de 20014, 15:56.

GENENA A. K.; HENSE H.; JUNIOR A. S.; SOUZA S. M. **Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) - Estudo da Composição, Atividade Antioxidante e Antimicrobiana dos Extratos Obtidos com Dióxido de Carbono Supercrítico.** 2008. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612008000200030>.

Acesso em: 08 de maio de 2015, 19:54.

GALLICE, Wellington C.; MESSERSCHMIDT, Iara; PERALTA-ZAMORA, Patrício. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 397–403, jan. 2011.

GALVÃO, E. L.; SILVA, D. C. F.; SILVA, J. O.; MOREIRA, A. V. B.; SOUZA, E. M. B. D. **Avaliação do Potencial Antioxidante e Extração Subcrítica do Óleo de Linhaça**. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n3/a08v28n3.pdf>>. Acesso em: 02 de Fevereiro de 2014, 18:22.

HOMEM, I. C. G. **Estudos Fitoquímicos, Ensaio de Toxicidade, Atividade Larvicida, Antimicrobiana E Antioxidante das Folhas E Caules de *Mollinedia clavigera* Tul. (Monimiaceae)**. 2015. Disponível em: <<http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/37610/R%20-%20D%20%20ISABEL%20CHRISTINA%20MIGNONI%20HOMEM.pdf?sequence=3&isAllowed=y>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 18:30.

JUSTO O. R.; MORAES A. M.; BARRETO G. P. M.; MERCADANTE A. Z.; ROSA P. T. V. **Avaliação do Potencial Antioxidante de Extratos Ativos de Plantas Obtidos por Extração com Fluido Supercrítico**. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422008000700019>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 17:56.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. **Compostos Fenólicos Totais e Antocianinas em Suco de Uva**. 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27632.pdf>>. Acesso em: 28 de Janeiro de 2014, 16:45.

MARTINEZ, D. M. **Modificação Estrutural E Atividade Antioxidante DE Compostos Derivados de Linalol e Eugenol**. 2011. Disponível em:

<[http://www.dcta.create.inf.br/manager/uploads/documentos/dissertacoes/dissertacao_de_mes_trado_\(debora_martins_martinez\).pdf](http://www.dcta.create.inf.br/manager/uploads/documentos/dissertacoes/dissertacao_de_mes_trado_(debora_martins_martinez).pdf)>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 16:50.

MORAIS, T. P. S. **Produção e Composição do Óleo Essencial de Manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) Sob Doses de Cama de Frango**. Universidade Federal de Uberlândia- MG, Instituto de Ciências Agrárias – Programa de Pós Graduação em Agronomia. 2006. Disponível em: <<http://penelope.dr.ufu.br/bitstream/123456789/1718/1/ProducaoComposicaoOleo.pdf>>. Acesso em: 30 de Janeiro de 2014, 14:45.

MAZZAFERA P. **Efeito Alelopático do Extrato Alcoólico do Cravo-da-índia e Eugenol**. 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbb/v26n2/a11v26n2.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 16:43.

MIRANDA, C. A. S. F. **Atividade Antioxidante de Óleos Essenciais de Folhas de Diversas Plantas**. 2010. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/2657/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Atividade%20antioxidante%20de%20%C3%B3leos%20essenciais%20de%20folhas%20de%20diversas%20plantas.pdf>. Acesso em maio de 2015, 18:54.

NAKAMURA T.; SILVA F. S; SILVA D. X; SOUZA M. W.; MOYA H. D. **Determinação da Atividade Antioxidante e do Teor Total de Polifenol em Amostras de Chá de Ervas Comercializadas em Sachets**. 2013. Disponível em: <http://www.researchgate.net/profile/Horacio_Moya/publication/249657982_Determinao_da_atividade_antioxidante_e_do_teor_total_de_polifenol_em_amostras_de_ch_de_ervas_comercializadas_em_sachets/links/0046351e6ac7dae811000000.pdf>. Acesso em: 07 de maio de 2015, 22:04.

NILO, M. C. S. S. **Composição Química e Atividade Antioxidante da Hortelã Pimenta (*mentha piperita*)**. 2015. Disponível em: <<http://www2.unirio.br/unirio/ccbs/ppgan/dissertacoes-e-teses/composicao-quimica-e-atividade-antioxidante-da-hortela-pimenta-mentha-piperita/view>>. Acesso em 24 de outubro de 2015, 20:48.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. **Fontes vegetais naturais de antioxidantes**. Química Nova, v. 32, n. 3, p. 689-702, abr. 2009.

POLÔNIO, M. L. T; PERES, F. **Consumo de Aditivos Alimentares e Efeitos à Saúde: Desafios Para a Saúde Pública Brasileira**. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-311X2009000800002&script=sci_arttext>. Acesso em: 05 de março de 2014, às 18:51.

PROBST, I. S. **Atividade Antibacteriana de Óleos Essenciais e Avaliação do Potencial Sinérgico**. Botucatu – SP. 2012. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/posgrad/teses/bga_me_2012_isabella_probst.pdf>. Acesso em: 25 de Janeiro de 2014, 17:20.

PRADO, A. C. P. **Avaliação da Atividade antioxidante da Casca e Torta de Noz- Pecã *Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch**. Universidade de Santa Catarina - Centro de Ciências Agrárias - Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos Florianópolis. 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/92024/255202.pdf?sequence=1> >. Acesso em 30 de Janeiro de 2014, 15:40.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras E Alimentos Gordurosos**. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v29n4/30255.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 18:09.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. **Atividade Antioxidante do α -tocoferol e do Extrato de Alecrim em Óleo de Soja Purificado**. 2006. Disponível em: < <http://revistas.bvs-vet.org.br/rialutz/article/viewFile/23400/24249>>. Acesso em 23 de outubro de 2015, 21:04. b

RIO, R. F. **Desenvolvimento de uma Cerveja Formulada com Gengibre (*Zingiber officinalis*) e Hortelã do Brasil (*Mentha arvensis*): Avaliação de Seus Compostos Bioativos e Comparação com Dois Estilos de Cerveja Existentes no Mercado**. 2013.

Disponível em: <<http://www.ifrj.edu.br/sites/default/files/webfm/proppi/Rafaela.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 20:38.

RIBEIRO, P. C. E. R.. **Avaliação da Qualidade Oxidativa de Margarinas Adicionadas de Extratos de Casca de Noz-pecã [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] e de Alecrim [*Rosmarinus Officinallis*].** 2013. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/123045/325567.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 09 de maio de 2015, 07:20.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. de.; MORAIS, S. M. de.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH.** Comunicado Técnico *online*. ISSN 1679-6535. Jul., Fortaleza – CE, 2007.

SÁ, N. M. S. **Efeito do Processamento Sobre a Composição de Compostos Fenólicos Presentes Suco de no Caju.** Universidade Federal do Ceara – Centro de Tecnologia – Departamento de Engenharia Química – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. 2012. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/4096/1/2012_dis_nmsmsa.pdf>. Acesso em 02 de Fevereiro de 2014, 17:46.

SANT'ANNA, H.L.S.; SANTOS, O.S.N.; SANTOS, C.R.S.; MARTINS, C.Y.; SANTOS, M.B.; ALMEIDA, M.A.; SILVA, F.; MARTINS, G.N.; LEDO, C.A.S. **Longevidade Pós-colheita de Alpinia [*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum.] Tratada com Soluções de Sacarose e Extratos Aquosos Naturais.** 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v12n3/04.pdf>>. Acesso em 08 de maio de 2015, 17:19.

SANTIN, R. **Potencial Antifúngico e Toxicidade de Óleos Essenciais da Família Lamiaceae.** Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de Veterinária – Programa de Pós Graduações em Ciências Veterinárias. 2013. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/75649/000891685.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 24 de Janeiro de 2014, 14:23.

SANTOS, R. D.; MIGLIORANZA, L. H. S. **Compostos Fenólicos de Ervas Lamiaceae na Estabilidade Oxidativa da Manteiga e Avaliação da Toxicidade de Extrato de Alecrim (*Rosemarinus officinalis* L.)**. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2009. Disponível em: <http://ri.uepg.br:8080/riuepg/bitstream/handle/123456789/856/TESE_RenataDinniesSantos.pdf?sequence=1>. Acesso em: 31 de Janeiro de 2014, 13:55.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUZA, P. H. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. **Correlação Entre Atividade Antioxidante E Compostos Bioativos de Polpas Comerciais de Açaí (*Euterpe oleracea* Mart)**. Universidade Federal do Ceará, University of Arizona, Universidade de São Paulo, Universidade Federal de Viçosa. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v58n2/art11.pdf>>. Acesso em: 25 de Janeiro de 2014, 16:39.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. **Antioxidant Activity Index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method**. Food Chemistry, v. 112, p. 654–658, 2009.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M. C. T.; GODOY, H. T. **Composição e Atividades Antioxidante e Antimicrobiana dos Óleos Essenciais de Cravo-da-índia, Citronela e Palmarosa**. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v11n4/a13v11n4.pdf>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 20:48.

SICHERI, A. P. M. P. **Potencial Antioxidante de Extratos de Especiarias em Sistemas Modelo e na Estabilidade Oxidativa do Óleo de Soja**. 2013. Disponível em: <https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0CCIQFjABahUKEwji2cjfx97IAhUcK5AKHSPvATg&url=http%3A%2F%2Fwww.teses.usp.br%2Fteses%2Fdisponiveis%2F11%2F11141%2Ftde-16122013-145802%2Fpublico%2FAna_Paula_Marques_Pino_Sichieri_versao_revisada.pdf&usg=AFQjCNGXWfRNdRoQ3BIwX_9Hx3FQcrm8pw>. Acesso em 23 de outubro de 2015, 21:12.

SILVA, S. R. S.; DEMUNER, L. C. A.; CASALI, V. W. D.; NACIMENTO, E., A.; PINHEIRO, A. L. **Efeito do Estresse Hídrico sobre Características de Crescimento e a**

Produção de Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. 2002. Disponível em: <<http://eduem.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/2382/1790>>. Acesso em 25 de Janeiro de 2014, 13:50.

SILVA, Q. J.; MOREIRA A. C. C. G.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G. **Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante de Genótipos de Ciriguelas (*Spondia purpurea* L.).** 2012. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1756/1205>>. Acesso em: 08 de maio de 2015, 21:18.

SILVEIRA, S. M. **Avaliação da Atividade Antimicrobiana e Antioxidante de Extratos Vegetais e Óleos Essenciais e Eplicação do Óleo Essencial de Louro (*L. Nobilis*) Como Agente Conservador Natural em Embutido Carne Frescal.** Programa de graduação em Ciência dos Alimentos. UFSC, Florianópolis, 2012.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M. **Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante da Casca de Uvas Niágara e Isabel.** 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v30n1/13.pdf>>. Acesso em: 24 de Janeiro de 2014, 14:23.

SOUZA, C. M. M.; SILVA, H. R.; JUNIOR, G. M. V.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. C.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE; L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, S.; CHAVES, M. H. **Fenóis Totais e Atividade Antioxidante de Cinco Plantas Medicinais.** Departamento de Química, Universidade Federal do Piauí. 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/qn/v30n2/20.pdf>>. Acesso em 24 de Janeiro de 2014, 17:35.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA C. F. **Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante.** Eclética Química, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 7-13, 2009.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B. da; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. **Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos.** Revista UNOPAR Científica, Ciências biológicas e da saúde, v. 14, n. 4, p. 263–272, maio 2012.

TAVARES, M. S. S.; RAMOS, M. I. L. **Atividade Antioxidante de Frutos do Cerrado e do Pantanal, do Estado de Mato Grosso do Sul: Padronização de Metodologias.** 2008. Disponível em: < <http://www.propp.ufms.br/gestor/titan.php?target=openFile&fileId=490>>. Acesso em 25 de outubro de 2015, 21:08.

TOMAZ, V. G.; MORAES, A. M. **Incorporação de Extrato de Alecrim em Membranas de Alginato E Quitosana.** 2015. Disponível em: < <http://pdf.blucher.com.br/chemicalengineeringproceedings/cobeqic2015/340-33942-260705.pdf>>. Acesso em 25 de outubro de 2015, 21:18.

TOMEI, R. R.; SALVADOR, M. J. **Metodologias Analíticas Atuais Para Avaliação da Atividade Antioxidante de Produtos Naturais .** 2007. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007/trabalhos/saude/epg/EPG00322_01C.pdf>. Acesso em 23 de outubro de 2015, 20:56.

VICTORIA, F. N.; SAVEGNAGO, L.; LENARDÃO, E. J. **Atividade Antioxidante *In Vitro* do Óleo Essencial de Pitanga.** 2013. Disponível em: <http://www2.ufpel.edu.br/enpos/2011/anais/pdf/CB/CB_00360.pdf>. Acesso em 26 de Janeiro de 2014, 16:17.