

Efeito do tipo de material de embalagem na actividade antioxidante de *Thymus mastichina*, *Thymbra capitata*, *Origanum vulgare* e *Calamintha baetica*

S. Dandlen¹, G. Miguel¹, M. Costa², I. Monteiro²

¹Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais Renováveis, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro

²Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve, 8001-904 Faro

Resumo

No presente trabalho são apresentados os resultados das actividades antioxidantes, determinados por três métodos diferentes (capacidade de captar radicais, capacidade de impedir a peroxidação lipídica e poder redutor) das amostras de óleos essenciais extraídos a partir de *Calamintha baetica*, *Thymus mastichina*, *Origanum vulgare* e *Thymbra capitata*, armazenados em diversos tipos de embalagens: tecido, papel, polietileno de baixa densidade (PEE), polipropileno (PPE) e vidro, durante 6 e 18 meses, depois de colhidas em períodos igualmente diferentes (primeira e segunda colheita).

Introdução

Os antioxidantes naturais ou sintéticos são adicionados aos mais diversos tipos de alimentos de modo a impedir a peroxidação lipídica e, consequentemente, prevenir a degradação do alimento durante o período de armazenamento. A degradação oxidativa dos ácidos gordos poli-insaturados (PUFA), presentes em alimentos, principalmente, durante o processamento e o armazenamento, provoca alterações indesejáveis no aroma, no sabor, nas propriedades reológicas do alimento, na perda do valor nutritivo e potencial risco para a saúde. Para retardar e/ou impedir tais alterações indesejáveis adicionam-se geralmente antioxidantes.

É cada vez maior a procura de compostos de origem natural, como antioxidantes, por serem considerados pelo grande público menos prejudiciais para a saúde. Contudo, os antioxidantes de origem natural não têm só vantagens, têm de ser purificados para terem uma maior actividade, o que encaixa o processo. Quase sempre é necessária esta purificação, não só para obter uma maior actividade como ainda, para garantir as propriedades do antioxidante que, caso esteja sob a forma não purificada, pode levar ao surgimento de interacções entre os componentes do extracto que não são desejadas. É ainda, de referir que em muitos casos a segurança destes antioxidantes de origem natural não é, ainda, totalmente conhecida. Estes antioxidantes podem alterar a cor, o sabor e o aroma do produto alimentar.

A maioria dos antioxidantes naturais são compostos fenólicos que, com a excepção dos tocoferóis, contêm grupos activos em posição *orto*- (*o*-), enquanto os antioxidantes sintéticos têm tais grupos em posição *para*- (*p*-). Os grupos de compostos de origem natural mais importantes são os flavonóides e seus derivados em extractos de plantas, os compostos fenólicos em plantas aromáticas e especiarias, proteínas e hidrolisados de proteínas, péptidos, aminoácidos e produtos da reacção de Maillard [1].

Vários são os métodos possíveis para a determinação da actividade antioxidante das amostras em estudo, não devendo nunca fazer-se um único método. Esta advertência deve-se ao facto do processo oxidativo ocorrer em mais de um passo e ser, portanto, necessário saber a capacidade dos antioxidantes para inibir os vários passos do processo oxidativo. Muitos métodos têm sido desenvolvidos para a avaliação da actividade antioxidante. Contudo, a interpretação destes resultados tem de ser cuidadosa uma vez que os diversos métodos baseiam-se em diferentes mecanismos, o que pode levar a valores de actividade antioxidante muito diferentes. Os diversos métodos podem, contudo, ser classificados em dois grandes grupos: a) determinação da capacidade de remoção de radicais; b) determinação da capacidade de inibição da oxidação lipídica. Neste último grupo, o lípido é oxidado sob condições padronizadas, e a extensão da oxidação é medida através de métodos químicos ou sensoriais [1].

No presente trabalho foram ensaiados três métodos na avaliação da capacidade antioxidante dos óleos essenciais de *Thymus mastichina*, *Thymbra capitata*, *Origanum vulgare* e *Calamintha baetica*, espécies produzidas no campo de produção/demonstração da Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Algarve (DRAPALG): método do DPPH (reflete a capacidade de um antioxidante ceder ao radical livre estável, neste caso o DPPH, um electrão), método TBARS (ou do "thiobarbituric acid reactive species" que testa a capacidade de inibição da peroxidação lipídica) e método do poder redutor (averigua a susceptibilidade da amostra para transferir um electrão para o ferro férrico Fe³⁺, reduzindo-o a Fe²⁺). Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação a partir de plantas aromáticas secadas. As plantas encontravam-se guardadas em quatro tipos diferentes de material de

embalagem (vidro, papel “craft”, tecido, polietileno de baixa densidade e polipropileno). As amostras foram recolhidas em intervalos de tempo regulares.

Materiais e métodos

Isolamento dos óleos essenciais: Os óleos essenciais de cada amostra colectiva foram isolados a partir de 100g de material vegetal fresco por hidrodestilação, usando um aparelho de Clevenger, de acordo com a Farmacopeia Europeia [2].

Determinação da actividade antioxidante: Método do ácido tiobarbitúrico modificado (método TBARS): Dois conjuntos de experiências foram ensaiados: um conjunto em que era adicionado um indutor da peroxidação lipídica e o outro conjunto em que não foi adicionado nenhum indutor da peroxidação lipídica. Em ambos os casos, utilizou-se como substrato rico em lípidos a gema de ovo e o ensaio foi efectuado de acordo com o descrito por alguns autores [3].

Método do DPPH: As amostras foram analisadas de acordo com o método descrito por alguns autores. [4].

Método do poder redutor: As amostras foram analisadas de acordo com o método descrito por alguns autores. [5].

Resultados

As figuras 1, 2, 3, 4 e 5 representam a capacidade de captar radicais pelo método do DPPH dos óleos essenciais depois de extraídos a partir de *Calamintha baetica*, *Thymus mastichina*, *Origanum vulgare* e *Thymbra capitata*, nas concentrações 2,366 g/L, 2352 g/L, 2,5 g/L e 1,5 g/L, respectivamente, que se encontravam guardadas em diferentes tipos de embalagem. Os óleos essenciais de *C. baetica* e de *T. mastichina* são os que apresentam menor capacidade de captar radicais comparativamente aos óleos de *O. vulgare* e de *T. capitata*. De entre os quatro tipos de óleos estudados o que aparenta ter maior actividade é o óleo de *T. capitata*, uma vez que com uma concentração de 1500 mg/L apresenta maior actividade que o óleo de orégão com uma concentração de 2500 mg/L. Ao contrário, os óleos essenciais de *C. baetica* são os que apresentam menor actividade em comparação aos restantes óleos.

Foi nos óleos de orégãos onde se verificou maior diferença entre as amostras que tinham dezoito meses de armazenagem e as amostras que tinham 6 meses de armazenagem mas resultantes de um segundo corte das plantas inicialmente cultivadas no campo de experimentação da DRAALG. O mesmo se verifica para as amostras de *C. baetica*, embora com uma excepção que se verificou nas amostras embaladas em tecido (Fig. 1). Nas amostras de *T. capitata* verifica-se o contrário, i. e., as amostras de 6 meses apresentam uma actividade ligeiramente maior, contudo, não tão significativas e, portanto, carecendo de confirmação.

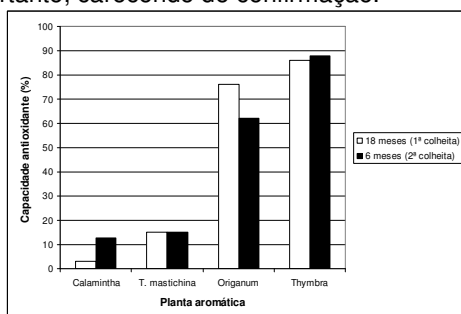


Fig. 1. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais obtidos a partir das plantas armazenadas em tecido durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita e seis meses a partir de plantas obtidas a partir de uma segunda colheita.

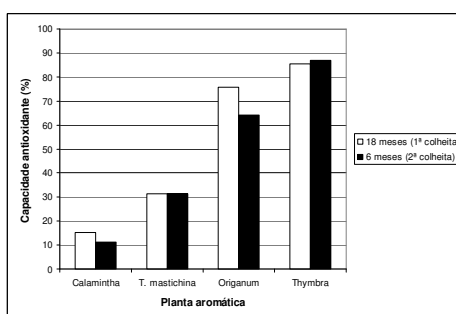


Fig. 2. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais obtidos a partir das plantas armazenadas em papel durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita e seis meses a partir de plantas obtidas a partir de uma segunda colheita.

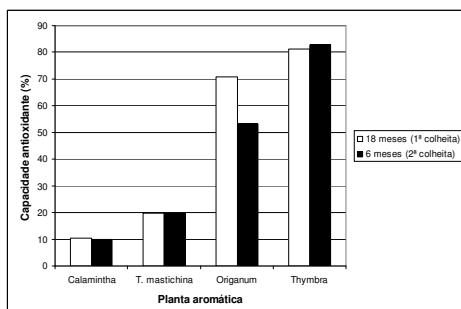


Fig. 3. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais obtidos a partir das plantas armazenadas em PEE durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita e seis meses a partir de plantas obtidas a partir de uma segunda colheita.

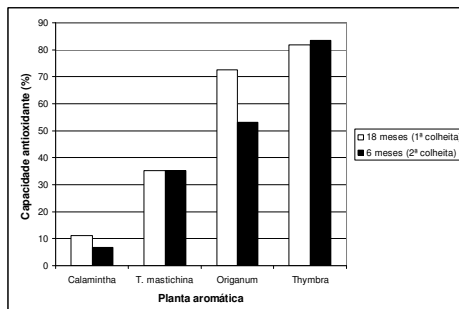


Fig. 4. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais obtidos a partir das plantas armazenadas em PPE durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita e seis meses a partir de plantas obtidas a partir de uma segunda colheita.

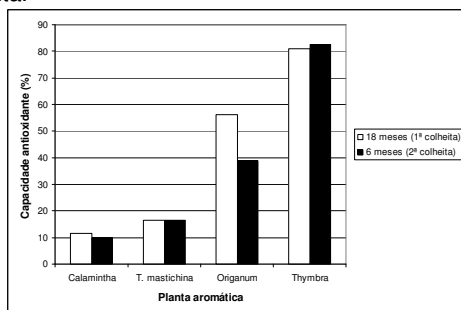


Fig. 5. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais obtidos a partir das plantas armazenadas em vidro durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita e seis meses a partir de plantas obtidas a partir de uma segunda colheita.

Considerando apenas os óleos essenciais com maior actividade antioxidante (*O. vulgare* e *T. capitata*) fizeram-se gráficos destas amostras que representam o efeito do material de embalagem sobre a capacidade de captar radicais livres (Fig. 6, 7, 8 e 9).

A partir dos gráficos atrás referidos é possível verificar que a capacidade de captar radicais por parte dos óleos essenciais obtidos a partir das plantas de orégãos aumenta à medida que a concentração das amostras também cresce, atingindo-se um máximo aos 5 g/L que pode ser de 80 %. Contudo, para as amostras guardadas em material de vidro e independentemente do tempo de armazenamento, o material de vidro parece influenciar negativamente a propriedade das amostras de captar radicais livres. Neste material, a capacidade de captar radicais por parte dos óleos essenciais é menor comparativamente às restantes amostras, mais notório para as concentrações mais elevadas.

No caso das amostras de *T. capitata*, também se verifica um aumento da capacidade de captar radicais à medida que aumenta a concentração dos óleos, atingindo-se 80 % com uma concentração de 1,5 g/L. Contudo, não se verifica grande diferença das actividades no que diz respeito ao tipo de material utilizado para guardar as plantas, durante os 18 ou os 6 meses armazenamento (Fig. 8 e 9).

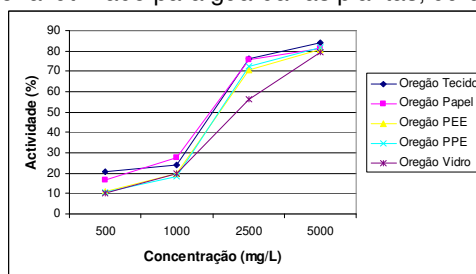


Fig. 6. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de

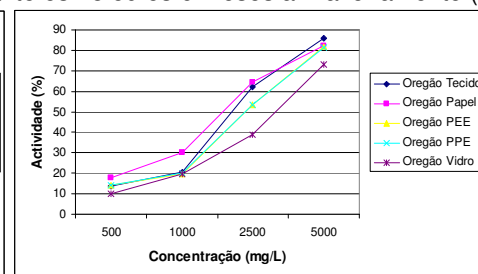


Fig. 7. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de mate-

material, armazenados durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita.

material durante 6 meses resultantes de uma segunda colheita.

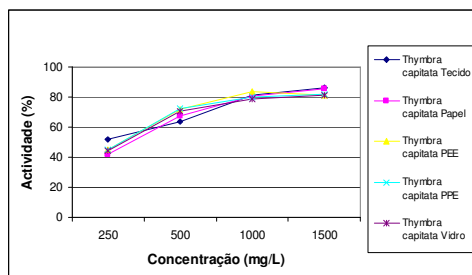


Fig. 8. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais de *T. capitata* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita.

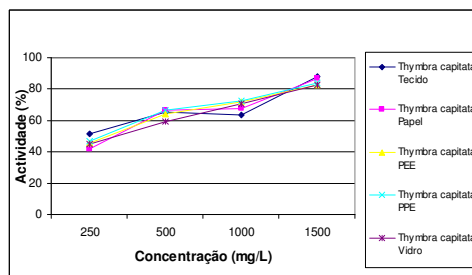


Fig. 9. Capacidade de captação de radicais dos óleos essenciais de *T. capitata* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material durante 6 meses resultantes de uma segunda colheita.

As Fig 10-13 representam a capacidade de inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais de *C. baetica*, *T. mastichina*, *O. vulgare* e *T. capitata* extraídos a partir das respectivas que se encontravam guardadas em diferentes tipos de material e armazenadas durante dois intervalos de tempo (18 meses resultantes de um primeiro corte e 6 meses resultantes de um segundo corte). Os resultados das actividades representados nos gráficos correspondem às seguintes concentrações: 2,336 g/L, 2,350 g/L, 0,5 g/L e 0,5 g/L, para *C. baetica*, *T. mastichina*, *O. vulgare* e *T. capitata*, respectivamente.

Exceptuando o caso das amostras de *T. capitata*, é notório que as amostras provenientes do segundo corte e armazenadas durante 6 meses apresentam menor actividade, independentemente do tipo de material usado para guardar as plantas aromáticas. Nas amostras de *T. capitata*, a maior diferença detectada foi nas amostras guardadas em PEE.

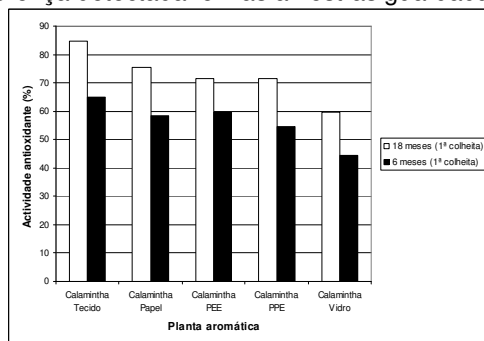


Fig. 10. Inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais (2,336 g/L) obtidos a partir de *C. baetica* guardados em diferentes tipos de material e armazenados durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

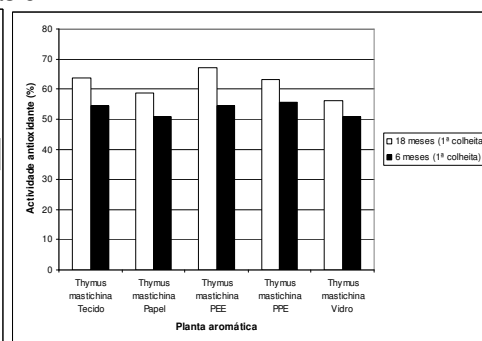


Fig. 11. Inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais (2,350 g/L) obtidos a partir de *T. mastichina* guardados em diferentes tipos de material e armazenados durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

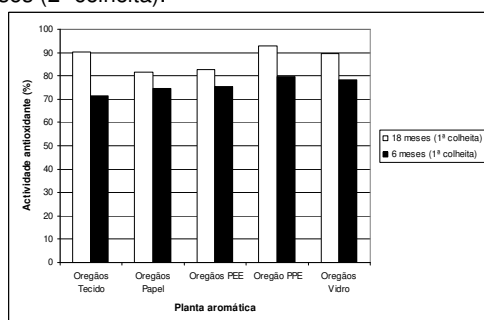


Fig. 12. Inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais (0,5 g/L) obtidos a partir de *O. vulgare* guardados em diferentes tipos de material e armazenados durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

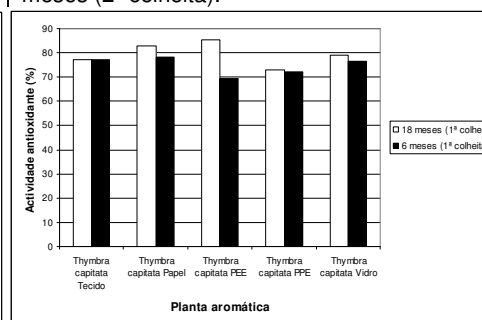


Fig. 13. Inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais (0,5 g/L) obtidos a partir de *T. capitata* guardados em diferentes tipos de material e armazenados durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

Tal como para o caso dos ensaios do DPPH, onde se detecta a capacidade de captação dos radicais, também neste ensaio da peroxidação lipídica se apresenta apenas os valores de inibição da peroxidação lipídica de *O. vulgare* e da *T. capitata* para diferentes concentrações para estudar o efeito do tipo de embalagem na actividade antioxidante. As Fig. 14-17 representam a variação da actividade antioxidante entre 100 e 1000 mg/L para os orégãos e de 100 a 500 mg/L para a *T. capitata*.

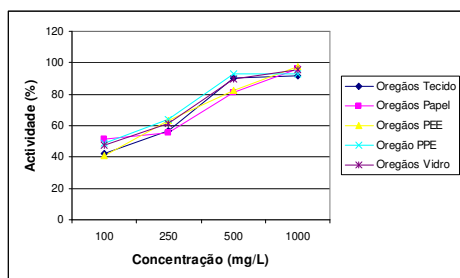


Fig. 14. Capacidade de inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita.

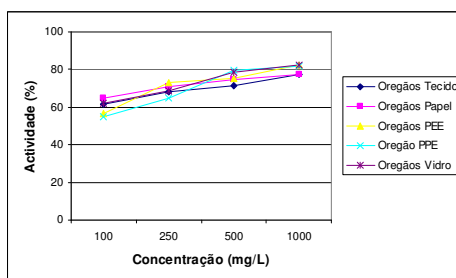


Fig. 15. Capacidade de inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 6 meses resultantes de uma segunda colheita.

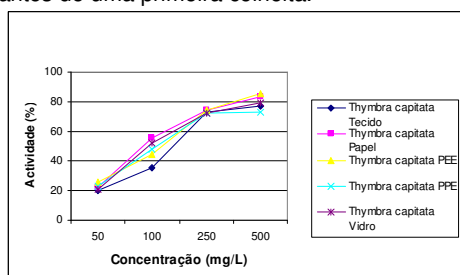


Fig. 16. Capacidade de inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais de *T. capitata* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita.

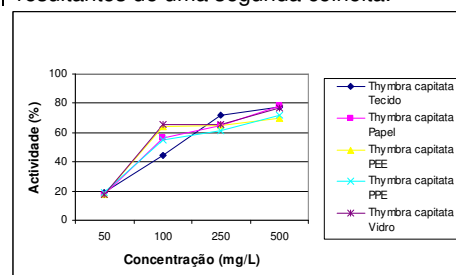


Fig. 17. Capacidade de inibição da peroxidação lipídica dos óleos essenciais de *T. capitata* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 6 meses resultantes de uma segunda colheita.

Neste ensaio não é evidente uma diferença de actividade antioxidante, consoante o tipo de embalagem utilizado, como se verificou para os orégãos embalados em vidro, no ensaio da captação de radicais livres. Contudo, também se verifica um aumento da actividade com o crescimento da concentração dos óleos. Também não é muito notória uma diferença de actividade entre o *O. vulgare* e a *T. capitata*, ao contrário do que no ensaio do DPPH.

As Fig. 18-21 representam o poder redutor dos óleos essenciais de *C. baetica*, *T. mastichina*, *O. vulgare* e *T. capitata* armazenados durante dois períodos distintos em diversos tipos de embalagem. Para as duas primeiras amostras as concentrações ensaiadas foram de 5 g/L, ao passo que para as duas últimas amostras, as concentrações ensaiadas foram de 0,5 g/L.

É notória a diferença do poder redutor das amostras de *C. baetica* e de *T. mastichina* que apresentem valores de absorvência muito mais baixos com uma concentração 10 vezes inferior às de *O. vulgare* e de *T. capitata*.

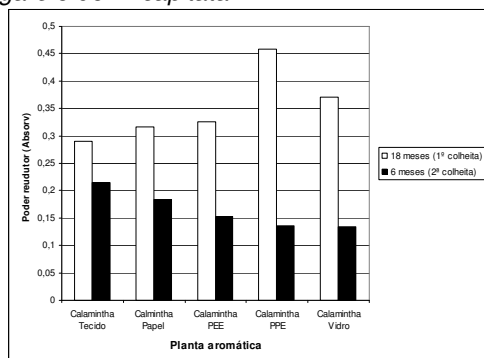


Fig. 18. Poder redutor dos óleos essenciais

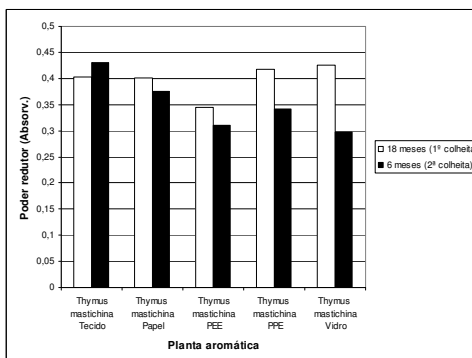


Fig. 19. Poder redutor dos óleos essenciais

(5,0 g/L) obtidos a partir de *C. baetica* guardados em diferentes tipos de material e armazenadas durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

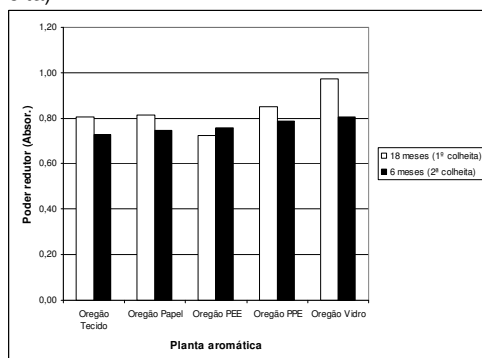


Fig. 20. Poder redutor dos óleos essenciais (0,5 g/L) obtidos a partir de *O. vulgare* guardados em diferentes tipos de material e armazenadas durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

(5,0 g/L) obtidos a partir de *T. mastichina* guardados em diferentes tipos de material e armazenadas durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

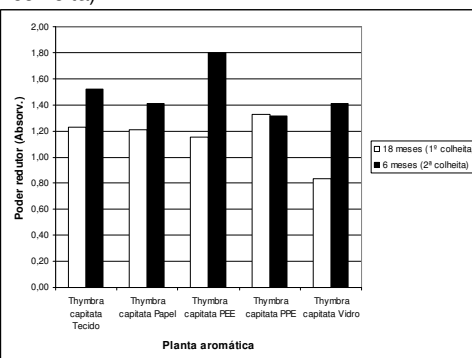


Fig. 21. Poder redutor dos óleos essenciais (0,5 g/L) obtidos a partir de *T. capitata* guardados em diferentes tipos de material e armazenadas durante 18 meses (1ª colheita) e 6 meses (2ª colheita).

Apenas nas amostras de *C. baetica* se verifica um maior poder redutor nas amostras da 1ª colheita e armazenadas durante 6 meses do que nas amostras resultantes da 2ª colheita e armazenadas durante 6 meses, independentemente do tipo de embalagem. Nas restantes amostras não é tão evidente este perfil: nas amostras de *T. mastichina* embaladas em tecido, verifica-se o contrário, apesar de nos restantes tipos de embalagens se verificar um maior poder redutor nas amostras de 18 meses; nas amostras de orégãos, são as amostras armazenadas em PEE que fogem à regra; e finalmente, nas amostras de *T. capitata* o que se verifica é um maior poder redutor nas amostras da segunda colheita e armazenadas durante 6 meses, em praticamente todos os tipos de embalagem, exceptuando-se aquelas que estavam em PPE (Fig. 21).

Como o maior poder redutor foi encontrado para as amostras de *O. vulgare* e de *T. capitata*, em seguida apresentam-se apenas os resultados do poder redutor destas plantas para diferentes concentrações (Fig. 22-25).

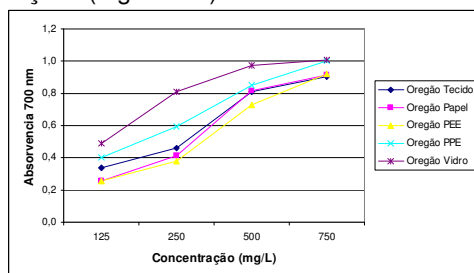


Fig. 22. Poder redutor dos óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 18 meses resultantes de uma primeira colheita.

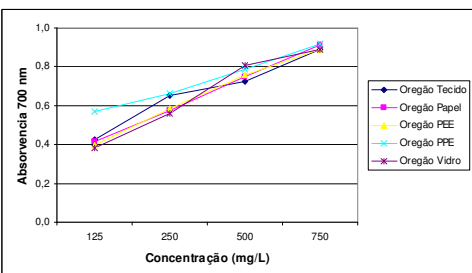


Fig. 23. Poder redutor dos óleos essenciais de *O. vulgare* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 6 meses resultantes de uma segunda colheita.

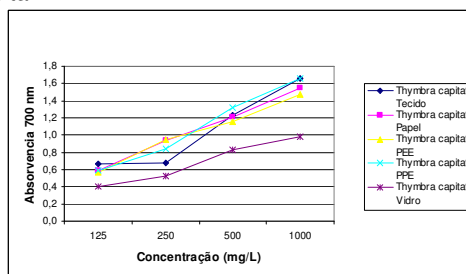


Fig. 24. Poder redutor dos óleos essenciais de *T. capitata* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 18 meses resultantes de uma primeira

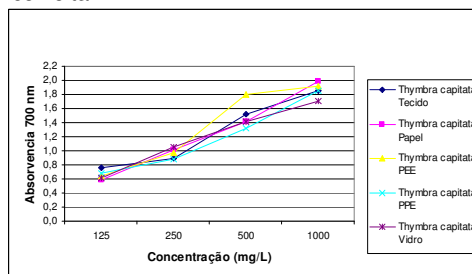


Fig. 25. Poder redutor dos óleos essenciais de *T. capitata* obtidos a partir das plantas armazenadas em diferentes tipos de material, armazenados durante 6 meses resultantes de uma segunda

colheita. | colheita.

Os óleos essenciais de orégãos resultantes da primeira colheita e armazenados durante doze meses em frasco de vidro apresentaram melhor poder redutor comparativamente às restantes amostras. Nas amostras armazenadas durante 6 meses, não se verificou qualquer diferença na capacidade redutora das mesmas. O mesmo se verificou para as amostras de *T.cpitata* armazenadas durante 6 meses, porque para as amostras armazenadas durante 12 meses, o vidro pareceu ser responsável pela menor capacidade redutora do óleo (Fig. 24).

References

1. Rajalakshmi D, Narasimhan S (1995) Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation. In Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Ed. DL Madhavi, S. S. Deshpande, D. K. Salunkhe. Marcel Dekker, Inc. NY, Basel, Hong Kong.
2. Anonymous, European Pharmacopoeia, 3rd edn. Strasbourg, Council of Europe, 1996. p. 121.
3. Dorman HJD, Deans SG, Noble RC. (1995) Evaluation *in vitro* of plant essential oils as natural antioxidants. *J Essent Oil Res.*, **7**: 645.
4. Burits, M., Asres, K., Bucar, F. (2001) The antioxidant activity of the essential oils of *Artemisia afra*, *Artemisia abyssinica* and *Juniperus procera*. *Phytother. Res.*, **15**: 103-108.
5. Mau JL, Lai EYC, Wang NP, Chen CC, Chang CH, Chyau CC (2003) Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. *Food Chemistry*, **82**: 583-591.