

POTENCIAL ANTIOXIDANTE EM DIFERENTES EXTRATOS DE PLANTAS *LAMIACEAE*: UM ESTUDO COMPARATIVO FOCADO NO SOLVENTE EXTRATOR

A.C. Tomé¹, F.A. Silva¹

¹Departamento de Engenharia de alimentos, Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, 74690-900, Brasil. Tel.: +55 61 99255 3688 e-mail: flaviocamp@gmail.com

RESUMO - O crescente interesse na substituição de antioxidantes sintéticos por naturais em alimentos tem fomentado a pesquisa sobre fontes vegetais e identificação de novos compostos antioxidantes. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de extração dos compostos fenólicos totais e determinar a atividade antioxidante *in vitro* de diferentes extratos de três espécies de Lamiaceae, Sálvia, hortelã e manjerição, utilizando como solvente extrator etanol absoluto (extrato etanólico), 50% água ultra pura + 50% etanol (hidroetanólico) e água ultra pura (extrato aquoso). O teor de compostos fenólicos foi determinado nos extratos utilizando o reagente Folin-Ciocalteu, a atividade antioxidante foi determinada por captura de radicais livres (DPPH e ABTS) e poder de redução do metal (FRAP). Os extratos hidroetanólicos apresentaram melhores teores de compostos fenólicos, e como esperado, evidenciou também maior potencial antioxidante. Os resultados obtidos sugerem que os extratos de Sálvia, hortelã e manjerição possam apresentar-se como fonte acessível de antioxidantes naturais.

ABSTRACT - The growing interest in replacing synthetic antioxidants with natural ones on food has encouraged research on plant sources and identification of new antioxidant compounds. The objective of this work was to evaluate the extraction efficiency of the total phenolic compounds and determine the *in vitro* antioxidant activity of different extracts of three Lamiaceae species, sage, spearmint and basil, using ethanol absolute (ethanolic extract), 50% ultrapure water + 50% ethanol (hydroethanolic extract) and ultrapure water (aqueous extract) as extracting solvent. The content of phenolic compounds was evaluated using the Folin-Ciocalteu reagent, antioxidant activity was determined by radical scavenging assay (DPPH and ABTS) and ferric reducing ability of plasma (FRAP). Hydroethanolic extracts presented better levels of phenolic compounds, and as expected, also showed greater antioxidant potential. The obtained results suggest that the extracts of sage, spearmint and basil can present themselves as an accessible source of natural antioxidants.

PALAVRAS-CHAVE: Solvente extrator, compostos bioativos, atividade antioxidante.

KEYWORDS: Extractor solvent, bioactive compounds, antioxidant activity

1. INTRODUÇÃO

Na indústria de alimentos, a oxidação lipídica é amplamente controlada por antioxidantes sintéticos porque são baratos e disponíveis com qualidade consistente (Abootalebian et al., 2016). No entanto,



suspeita-se que antioxidantes sintéticos sejam responsáveis por danos no fígado e possíveis efeitos carcinogênicos (Qian et al., 2020).

Portanto, um crescente interesse científico e comercial das indústrias alimentícias está ocorrendo pelo uso de antioxidantes não tóxicos derivados de plantas em sistemas alimentares (Abdelli et al., 2016; Abootalebian et al., 2016).

Nos últimos anos, o número de artigos dedicados à determinação dos principais componentes em plantas aromáticas tem se tornado crescente (Azhar et al., 2017), devido à presença de metabólitos secundários em sua composição, que exibem uma gama de atividades biológicas, sendo universalmente utilizados na indústria (Milevschaya et al., 2019).

E as plantas aromáticas da família *Lamiaceae* têm sido frequentemente estudadas, não só por suas propriedades medicinais e culinárias, mas também por aplicações cosméticas e outras aplicações industriais, e o seu sabor é altamente favorável aos consumidores em todo o mundo (Oreopoulou et al., 2018).

Nas últimas décadas, no entanto, a sálvia (*Salvia officinalis L.*) foi objeto de um estudo intensivo por seus componentes antioxidantes fenólicos (Fornari et al., 2012) sendo os extratos de folhas de sálvia amplamente utilizados na indústria farmacêutica (Salamatin et al., 2020), por conterem uma diversidade de componentes ativos e exibem inúmeras atividades biológicas: antibacteriano, antioxidante, antifúngico etc. (Kolac et al., 2017).

Mentha spicata L., comumente conhecida como hortelã é também pertencente à família *Lamiaceae*, essa planta é amplamente utilizada em alimentos e são uma fonte rica de polifenóis, com potencial de antioxidante natural (Rita et al., 2016).

O manjeriço (*Ocimum basilicum L.*), também um membro da família *Lamiaceae*, é uma erva comum nativa da Índia e cultivada em todo o mundo (Castronuovo et al., 2019), amplamente consumidas em muitos países. Existem muitas evidências que mostram que extrato e óleo essencial de manjeriço possuem atividades antibacteriana, antioxidante, fungistática e inseticida (Akbari et al., 2019). Devido ao seu sabor único, o manjeriço lidera o mercado entre plantas culinárias e aromáticas (Jordán et al., 2017).

Nesse contexto, a escolha do solvente de extração desempenha um papel importante que afeta a capacidade antioxidante e o conteúdo fenólico total em materiais alimentares (Siva et al., 2016), sendo o uso de etanol e água um dos solventes mais recomendados, especialmente para a matriz alimentar, por serem menos tóxicos e com alta eficiência de taxa, sendo denominados “*solventes verdes*” (Prat et al., 2016).

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar *in vitro* o teor de compostos fenólicos totais, e a atividade antioxidante em extratos de sálvia, manjeriço e estragão, observando a eficiência de extração dos compostos bioativos em extratos aquoso, hidroetanólico e etanólico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram cultivadas no setor de horticultura do Instituto Federal Goiano-Campus Morrinhos, as sementes foram doadas pela Empresa ISLA sementes LTDA.

As partes aéreas (folhas mais jovens) das plantas foram colhidas e secas em bandejas, em estufa a $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, posteriormente trituradas em moinho de faca, e devidamente acondicionadas e armazenadas a temperatura ambiente até a obtenção dos extratos.

Para obtenção dos extratos foi utilizada a técnica convencional a uma razão inicial de 1:20, planta por volume de solvente (m:v), contendo etanol absoluto (extrato etanólico), 50% água ultra pura + 50% etanol (extrato hidroetanólico) e água ultra pura (extrato aquoso), sob agitação à aproximadamente $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e ao abrigo da luz, durante 1 hora, em seguida a solução foi filtrada e o volume final foi ajustado para 50 mL, com o respectivo solvente, posteriormente os extratos foram acondicionados em frascos de vidro âmbar, e armazenados em freezer (-18°C) para posterior análises.

O teor de compostos fenólicos foi determinado nos extratos aquoso, hidroetanólico e etanólico com espectrofotômetro a 750 nm utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002). A quantificação foi baseada no estabelecimento da curva padrão de ácido gálico, na faixa de 10 a 80 mg.L⁻¹. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de amostra.

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada nos por meio dos métodos 2,2 difenil-1-picrilhidrazil DPPH; (Brand-Williams, Cuvelier e Berset, 1995) modificado por Borguini (2009), método FRAP (poder antioxidante de redução do ferro; (Benzie e Strain, 1996), e método 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-acido sulfônico (ABTS^{•+}; Re et al., 1999) utilizando o espectrofotômetro.

O método DPPH baseou-se na medida do grau de descoloração do radical DPPH pela ação dos antioxidantes após 20 minutos de reação, a qual foi medida espectrofotometricamente a 517 nm nos extratos aquoso, hidroetanólico e etanólico, para a leitura da absorbância no espectrofotômetro, foi necessário diluir o extrato em uma concentração de 0,2 mg.mL⁻¹ de amostra. Os resultados foram expressos em % de descoloração conforme equação 1.

$$\% \text{ descoloração do DPPH} = \left(1 - \left(\frac{\text{Abs amostra} - \text{abs branco}}{\text{abs controle}} \right) \right) * 100 \quad (\text{equação 1})$$

O método FRAP foi baseado na habilidade de redução de Fe³⁺ para Fe²⁺ em pH baixo. Na presença de 2, 4, 6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) e antioxidante ocorre à formação do complexo (Fe²⁺-TPTZ) de cor azul intensa que pode ser determinado por espectrofotometria na absorbância de 593 nm. Os resultados foram expressos em μmol de FeSO₄/g.

O método ABTS baseou-se na capacidade do antioxidante sequestrar o radical ABTS^{•+} formado através da reação entre a solução aquosa de ABTS (7 μMol) e o persulfato de potássio (2,45 mM) que é medida em espectrofotômetro à 734 nm. Os resultados foram expressos em μmol de Trolox/g.

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com posterior teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (p < 0,05) utilizando o programa Action Stat.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos teores de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS^{•+} e FRAP em diferentes extratos de sálvia, hortelã e manjeriço estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Teores de compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS^{•+} e FRAP em extratos aquoso (EAq), hidroetanólico (EH) e etanólico (EOH) de sálvia, hortelã e manjeriço.

Ervas	Extrato	CFT (mg EAG/g ⁻¹)**	DPPH (% descoloração)	ABTS (μmol de Trolox/g)	FRAP (μmol de FeSO ₄ /g)
Sálvia	EAq	77,91±4,33 ^{bc}	17,35±3,92 ^c	9,13±1,00 ^f	14,69±0,13 ^{ef}
	EH	88,33±2,49 ^a	31,49±0,53 ^b	35,65±0,32 ^c	39,99±3,62 ^b
	EOH	82,39±3,92 ^{abc}	9,67±3,22 ^d	30,76±1,30 ^d	16,11±0,15 ^{de}
Hortelã	EAq	87,50±2,78 ^{ab}	28,28±0,70 ^b	38,46±0,07 ^b	18,62±1,64 ^{de}
	EH	91,14±2,76 ^a	42,54±1,62 ^a	41,13±0,27 ^a	50,89±2,53 ^a
	EOH	85,20±5,77 ^{abc}	27,34±0,70 ^b	39,85±0,11 ^{ab}	10,66±0,46 ^f
Manjeriço	EAq	64,54±2,26 ^d	17,05±0,46 ^c	9,13±0,97 ^f	20,53±0,25 ^d
	EH	76,30±2,54 ^c	29,64±0,53 ^b	28,93±0,93 ^d	26,61±0,70 ^c
	EOH	34,73±2,71 ^e	17,66±0,53 ^c	13,20±0,81 ^e	19,96±0,16 ^d

* Valores constituem média ± desvio-padrão. Letras diferentes, diferem significativamente, pelo teste de Tukey (p < 0,05). **EAG = Equivalentes de ácido gálico.

Dentre as amostras avaliadas, observou-se a influencia do solvente extrator, apresentando maiores teores de compostos fenólicos nos extratos hidroetanólicos, sendo que para as amostras de sálvia

e hortelã esses teores foram predominantes. O conteúdo fenólico total do extrato metanólico de *M. spicata*, relatado por Scherer et al. (2013) foi de 76,3mg EAG/g⁻¹, em outro estudo, Castronuovo et al., (2019) relataram que ao avaliar amostras de manjeriço, em extratos metanólicos a 80%, os valores de CPT variaram de 54,1 ± 3,5 a 48,8 ± 2,0mg EAG/g⁻¹, apresentando menores valores quando comparados aos resultados dos extratos aquoso e hidroetanólicos deste estudo que encontraram valores de 64,54 e 76,30mg EAG/g⁻¹ respectivamente, e maiores valores quando comparados aos resultados encontrados para o extrato etanólico 34,73mg EAG/g⁻¹. Mecanismos antioxidantes, em tecidos biológicos, são extremamente complexos, assim, para fornecer resultados confiáveis, são necessários mais de um método para determinação (Jimenez et al., 2014; Carrillo-Hormaza et al., 2016), nesse trabalho, a atividade antioxidante foi realizada pelos métodos DPPH, ABTS^{•+} e FRAP.

Estão disponíveis na literatura uma variabilidade de resultados de avaliação da atividade antioxidante de extratos de espécies *Lamiaceae*, com variados tipos de métodos e solventes utilizados na extração, e ainda diferentes protocolos utilizados na realização destes ensaios.

Stagos et al., (2012) quando avaliaram a atividade antioxidante em extrato metanólico, etanólico e aquoso pelo método DPPH em espécies de *Lamiaceae*, encontraram uma melhor atividade para as amostras de sálvia e hortelã respectivamente, não concordando com os resultados encontrados nesse estudo que apresentou uma melhor atividade antioxidante nas amostras de hortelã e sálvia respectivamente.

Patonay et al., (2019) atestaram em suas pesquisas uma importante atividade antioxidante em vários extratos de espécies de hortelã silvestre, por meio do método FRAP e relataram que o extrato hidroetanólico com extração por ultrassom continha significativamente o maior poder redutor férrico quando comparado aos outros extratos analisados, os resultados do presente estudo também apresentaram maior poder redutor férrico em extrato hidroetanólico de hortelã, nesse caso, obtido por extração convencional.

Alimpic et al., (2015) também avaliaram a atividade antioxidante da sálvia pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP e atestaram que os extratos aquoso e etanólico apresentaram as atividades biológicas mais fortes, em nosso estudo, o extrato de sálvia avaliado pelos mesmos métodos, apresentou atividade biológica mais forte para o extrato hidroetanólico, quando comparado aos extratos aquoso e etanólico.

4. CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstram que o solvente utilizado na extração de compostos bioativos influencia diretamente os conteúdos de fenólicos totais e a atividade antioxidante, apresentando melhores resultados para o extrato hidroetanólico.

Considerando a preocupação atual com efeitos adversos que os antioxidantes sintéticos podem causar ao organismo, observa-se que os extratos hidroetanólicos de sálvia, hortelã e manjeriço podem apresentar-se como fonte acessível de antioxidantes naturais.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPEG- Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de Goiás pelo apoio financeiro, ao Instituto Federal Goiano-Morrinhos e Empresa ISLA sementes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A., & Maachi, R., (2016). Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 94, 197-205.



Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F., & Abdinian, M., (2016). Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Science*, 61, 175-179.

Alimpic, A., Pljevljakusic, D., Savikin, K., Knezevic, A., Curcic, M., Velickovic, D., Stevic, T., Petrovic, G., Matevski, V., Vukojevic, J., Markovic, S., Marin, P. D., Lausevic, S. D. (2015) Composition and biological effects of *Salvia ringens* (Lamiaceae) essential oil and extracts. *Industrial Crops and Products*. 76, 702–709.

Akbari, G. G., Binesh, S., Ramshini, H., Soltani, E., Amini, F., & Mirfazeli, M. S., (2019). Selection of basil (*Ocimum basilicum* L.) full-sib families from diverse landraces. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 12, 66-72.

Azhar, I., Basheer, E., Javaid, Z., Sohail, K., & Sheikh, M., (2017). A review of emerging analytical techniques for standardization of herbal medicinal products, *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 74, 1321-1326.

Benzie, I. F.F. & Strain, J.J. (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

Borguini, R. G. & Torres, E. A. F. S. (2009). Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants. *Food Review International*, 25, 313-325.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28, 25-30.

Carrillo-Hormaza, L., Ramírez, A. M., Quintero-Ortiz, C., Cossio, M.; Medina, S., Ferreres, F., Gil-Izquierdo, A. & Osorio, E. (2016). Comprehensive characterization and antioxidant activities of the main biflavonoids of *Garcinia madruno*: A novel tropical species for developing functional products. *Journal of Functional Foods*. 27, 503-516.

Castronuovo, D., Russo, D., Libonati, R., Faraone, I., Candido, V., Picuno, P., Andrade, P., Valentao, P., & Milella, L., (2019) Influence of shading treatment on yield, morphological traits and phenolic profile of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Scientia Horticulturae*, 254, 91-98.

Fornari, T., Ruiz-Rodriguez, A., Vicente, G., Vázquez, V., García-Risco, M. R., & Reglero, G., (2012). Kinetic study of the supercritical CO₂ extraction of different plants from Lamiaceae Family. *The Journal of Supercritical Fluids*. 64, 1-8.

Jiménez, V.M., Mora-Newcomer, E. & Gutiérrez-Soto, M.V. (2014). Biology of the papaya plant. In: MING R.; MOORE, P.H. Genetics and genomics of papaya, plant genetics and genomics: crops and models. *New York: Springer Science-Business Media*. 17, 17-33.

Jordán, M.J., Quílez, M., Luna, M.C., Bekhradi, F., Sotomayor, J.A., Sánchez-gómez, P., & Gil, M.I., (2017). Influence of water stress and storage time on preservation of the fresh volatile profile of three basil genotypes. *Food Chemistry*, 221, 169-177.



Kolac, U.K., Ustuner, M.C., Tekin, N., Ustuner, D., Colak, E., & Entok, E., (2017). The antiinflammatory and antioxidant effects of *Salvia officinalis* on lipopolysaccharide-induced inflammation in rats. *Journal of Medicinal Food*, 20, 1193-1200.

Milevskaya, V. V., Prasad, S., & Temerdashev, Z.A. (2019). Extraction and chromatographic determination of phenolic compounds from medicinal herbs in the *Lamiaceae* and *Hypericaceae* families: A review. *Microchemical Journal*, 145, 1036-1049.

Oreopoulou, A.; Lopoulou, E. P.; Bardouki, H.; Vamvakias, M.; Bimpilas, A.; & Oreopoulou, V.; (2018). Antioxidant recovery from hydrodistillation residues of selected *Lamiaceae* species by alkaline extraction. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 8, 83-89.

Patonay, K., Szalontai, H., Csugány, J., Szabó-Hudák, O., Kónya, E. P., Németh, E. Z., (2019) Comparison of extraction methods for the assessment of total polyphenol content and in vitro antioxidant capacity of horsemint (*Mentha longifolia* (L.) L.) *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 15, 100220.

Prat, D., Wells, A., Hayler, J., Sneddon, H., McElroy, C.R., Abou-Shehada, S., & Dunn, P.J., (2016). CHEM21 selection guide of classical- and less classical-solvents. *Green Chemistry*. 18, 288-296.

Re, R., Pelegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Riceevans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS●+ radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231- 1237.

Rita, I., Pereira, C., Barros, L., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C.F.R. (2016). *Mentha spicata* L. infusions as sources of antioxidant phenolic compounds: emerging reserve lots with special harvest requirements. *Food & Function*. 1-17.

Salamatin, A. A., Khaliullina, A. S., & Khaziev, R. S., (2020). Extraction of aromatic abietane diterpenoids from *Salvia officinalis* leaves by petroleum ether: Data resolution analysis. *Industrial Crops & Products*, 143, 111909.

Scherer, R., Lemos, M.F., Lemos, M.F., Martinelli, G.C., Martins, J.D.L., & da Silva, A.G., (2013). Antioxidant and antibacterial activities and composition of Brazilian spearmint (*Mentha spicata* L.). *Industrial Crops and Products*, 50, 408-413.

Siva, R., Rajikin, N., Haiyee, Z., A., & Ismail, W.I. W., (2016). Assessment of antioxidant activity and total phenolic content from green coffee robusta sp. beans. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20, 1059-1065.

Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Dimitrios Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., Panagoulis, C., Reri, E., Skaltsounis, L., Tsatsakis, A. M., Kouretas, D., (2012). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. *Food and Chemical Toxicology*. 50, 4115- 4124.

Waterhouse, A. L., (2002). Polyphenolics: Determination of total phenolics. In: WROLSTAD, R. E. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. *New York: John Wiley & Sons*, 11, 111-118.