

## ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS PRODUZIDOS POR *BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA* D.C. E *BACCHARIS UNCINELLA* D.C. (ASTERACEAE)

Regina Ferronato \*  
Eli Danieli Marchesan \*  
Francieli Bednarski \*\*  
Severino Matias de Alencar \*\*\*  
Sideney Becker Onofre4 \*\*\*\*

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M.; ONOFRE, S. B. Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *baccharis dracunculifolia* D.C. e *baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 67-70, mai./ago. 2006.

**RESUMO:** Espécies reativas de oxigênio potencialmente danosas são produzidas continuamente nas células como consequência tanto do metabolismo aeróbico normal quanto por fatores externos. Estudos com o gênero *Baccharis* relatam propriedades antioxidantes de extratos e óleos essenciais produzidos por espécies desse gênero. Buscando avaliar a atividade antioxidante de óleos essenciais produzidos por *B. uncinella* e *B. dracunculifolia* é que este trabalho foi desenvolvido. A metodologia utilizada para avaliar a atividade antioxidante foi a descrita por Pratt; Watts (1964); Hammerschmidt; Pratt (1978) e Pratt; Birac (1979) que consiste na avaliação por meio de reações de oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno e do ácido linoléico. Os resultados mostraram que os dois óleos avaliados podem inibir a formação de espécies reativas de oxigênio em até 65,66% para *B. dracunculifolia* e 52,18% para *B. uncinella* quando na presença de 50  $\mu$ L de ambos os óleos. Esses resultados foram diminuindo proporcionalmente aos volumes dos óleos. Com esses resultados podemos afirmar que os óleos essenciais produzidos por essas duas espécies de *Baccharis* possuem atividade antioxidante.

**PALAVRAS-CHAVE:** Óleo essencial; Antioxidante; *Baccharis* spp.

### ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OILS PRODUCED BY *BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA* D.C. AND *BACCHARIS UNCINELLA* D.C. (ASTERACEAE)

FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; BEDNARSKI, F.; ALENCAR, S. M.; ONOFRE, S. B. Antioxidant activity of the essential oils produced by *baccharis dracunculifolia* D.C. and *baccharis uncinella* D.C. (Asteraceae). **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 10, n. 2, p. 67-72, mai./ago., 2006.

**ABSTRACT:** Reactive species of potentially harmful oxygen are continually produced in the cells as a consequence of the normal aerobic metabolism as well as the external factors. Studies with the *Baccharis* gender present antioxidant properties of extracts and essential oils produced by the species of this gender. This work was developed aiming to evaluate the antioxidant activity of essential oils produced by *B. uncinella* and *B. dracunculifolia*. The methodology used to evaluate the antioxidant activity was described by Pratt; Watts (1964); Hammerschmidt; Pratt (1978) and Pratt; Birac (1979), which consists of assessing the oxidation attached to  $\beta$ -carotene and linoleic acid through reactions. The results showed that both essential oils evaluated might inhibit the formation of oxygen reactive species in 65,66% for *B. dracunculifolia* and 52,18% for *B. uncinella* in the presence of 50  $\mu$ L of both oils. These results were decreasing proportionally to the oil volumes. Due to these results, we can affirm that the essential oils produced by these two species of *Baccharis* have antioxidant activity.

**KEY WORD:** Essential oil; Antioxidant; *Baccharis* spp.

#### Introdução

O oxigênio é uma molécula altamente reativa e pode ser parcialmente reduzido para formar um número de agentes quimicamente reativos. O processo de transferência de elétrons, ou a absorção de energia pode levar o oxigênio a

gerar as Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) (OGA, 2003), as quais abrangem moléculas com um elétron desemparelhado no último orbital, ou seja, ocupando um orbital atômico ou molecular sozinho, também conhecidas como Radical Livre (RL), tornando-o muito instável, extraordinariamente reativo, e com uma enorme capacidade para combinar-se

\*Bolsistas PIBIC/UNIPAR. Acadêmicos do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR.

\*\*Bolsista PIBIC/UNIPAR. Acadêmicas do Curso de Biomedicina da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR.

\*\*\*Eng. Agrônomo, Doutor em Ciências de Alimentos, Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALQ/USP, Piracicaba - SP.

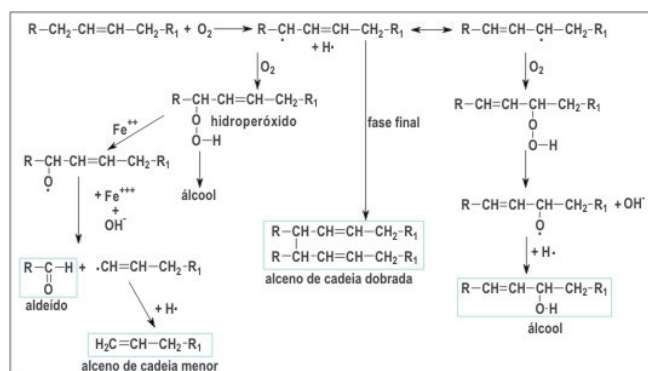
\*\*\*\*Biólogo, Doutor em Processos Biotecnológicos, Professor Titular de Microbiologia da Universidade Paranaense - UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão - PR e da União de Ensino Superior do Sudoeste do Paraná - UNISEP - Dois Vizinhos - PR.

Endereço para Correspondência: Sideney Becker Onofre, Av. Júlio Assis Cavalheiro, 2000, CX Postal 255 - 85601-000 - Francisco Beltrão - PR.

com diversas moléculas integrantes da estrutura celular e derivados de cada uma delas (DREWNOWSKI; GOMEZ-CARNEROS, 2000; BERRRINO; KROGH; RIBOLI, 2003).

ERO é um termo freqüentemente usado para incluir também espécies que não são radicais livres, mas algumas moléculas derivadas de O<sub>2</sub> (Oxigênio), capazes de gerar radical livre, como por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000). O O<sub>2</sub> envolvido no processo respiratório, em certas condições no organismo, pode ser transformado em ânion superóxido, radical hidroxil, oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio, e todas essas variações estão muitas vezes associadas a circunstâncias patológicas, incluindo reações inflamatórias. Entretanto, também estão relacionadas a processos fisiológicos, como a resposta imune (FRANKEL, 1980; ARUOMA, 1993; DONNELLY; ROBINSON, 1995).

Estas formas de oxigênio são altamente prejudiciais para os constituintes celulares, incluindo o DNA, os lipídios, ácidos graxos e as proteínas (WOLFF; GARNER; DEAN, 1986; STORZ et al., 1987). O oxigênio atmosférico é o principal agente responsável pela deterioração de materiais orgânicos e alimentos expostos ao ar. Diversas classes de moléculas são susceptíveis ao ataque de O<sub>2</sub> e acabam formando hidroperóxidos (Figura 1). Tais hidroperóxidos contribuem para a deterioração e disfunção em células e membranas celulares (LARSON, 1988; HSIEH; KINSELLA, 1989).



**Figura 1 - Reação de Oxidação, responsável pela formação de hidroperóxidos em sistemas celulares (YUTING et al., 1990).**

As ERO podem direcionar a produção de mais espécies reativas, particularmente através de processos endógenos, acontecendo em muitas células como consequência dos processos metabólicos. Também podem ser formadas pela exposição de células à radiação ionizante, pelo ciclo-redox químico presente no ambiente ou pela exposição a metais pesados (AMES, 1983; BRENNAN; SCHIEST, 1996; BRENNAN; SCHIEST, 1998). Apesar destes mecanismos, todos os organismos aeróbios estão continuamente expostos a oxidantes reativos, ocorrendo estresse oxidativo, onde a concentração destes oxidantes aumenta a capacidade de tamponamento antioxidante da célula. Dadas as obliquidades naturais das ERO, a maioria, se não todos os organismos, têm seus meios desenvolvidos para proteção dos seus constituintes celulares contra os oxidantes

reativos.

As células possuem sistemas de defesa enzimáticos e não-enzimáticos para proteger seus constituintes celulares e manter o estado redox celular. O sistema de defesa enzimático consiste tipicamente de pequenas moléculas que são solúveis em qualquer meio aquoso ou como em alguns exemplos, em meios lipídicos. Eles agem em geral como varredores de radicais, substância oxidada pelas ERO e assim removem os oxidantes da solução (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

Entre os antioxidantes não enzimáticos pode-se citar a vitamina C, a vitamina E, os carotenóides e os flavonóides (MACHLIN; BENDICH, 1987). Os flavonóides são potentes antioxidantes capazes de atuar como aceptores de radicais livres ou de íons metálicos (HUSAIN; CILLARD; CILLARD, 1987; YUTING et al., 1990). Os fitoquímicos fenólicos constituem a maior categoria de fitoquímicos de espécies vegetais. Os três grupos mais importantes são os flavonóides, ácidos fenólicos e polifenóis (ANGELIS, 2001).

Pascual, Gonzalez e Torricella (1994), relataram que a propriedade antioxidante de óleos essenciais que pode ser atribuída a sua atividade anti-radical livre contra radicais alquil e em um grau menor contra o ânion superóxido.

As espécies do gênero *Baccharis*, são no geral arbustos que medem em média de 0,5 a 4,0 m de altura. Apresentam elevado valor sócio-econômico, são consumidas principalmente na forma de chás com indicações para males do estômago, fígado, anemias, inflamações, diabetes, doenças na próstata, sendo também descritas como remédio para o processo de desintoxicação do organismo (CORRÊA, 1984; KORBES, 1995; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

O estudo de espécies do gênero *Baccharis*, tem mostrado grandes avanços devido ao seu reputado uso na medicina caseira na América Latina. Sua fitoquímica destaca a ocorrência de flavonóides, diterpenos e triterpenos, sendo nitidamente observado maior acúmulo de flavonas, flavonóis e de diterpenos labdanos e clerodanos (VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005). Nos estudos de atividades biológicas destacam-se os efeitos alelopáticos, antimicrobianos, citotóxicos, antioxidantes e antiinflamatórios. Entre as espécies mais pesquisadas quanto à composição química e/ou atividade biológica, encontram-se *B. megapotamica*, *B. incarum*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. salicifolia*, *B. crispa*, *B. coridifolia*, *B. dracunculifolia*, *B. grisebachii* e *B. uncinella* (CORRÊA, 1984; KORBES, 1995; VERDI; BRIGHENTE; PIZZOLATTI, 2005).

Estudos realizados por Mongelli et al. (1997) e Las Heras, Slowing e Benedí (1998), mostraram atividade antioxidante em várias espécies de *Baccharis*. Entre elas destacam-se *B. trinervis* e *B. coridifolia* em inibir a peroxidação lipídica e o sequestro dos radicais hidroxila e superóxido, onde tais atividades estão associadas a presença de flavonóides.

Uma variedade de métodos está correntemente sendo utilizada para se determinar a capacidade antioxidante, por exemplo, a medida da prevenção do dano oxidativo a biomoléculas como lipídeos e DNA e métodos para avaliar a degradação de radicais. Tanto ensaios in vivo quanto in

vitro são utilizados e todos têm suas próprias vantagens e limitações (BERG et al., 1999). Porém deve-se ter em mente que não existe um método universal simples pelo qual esta atividade possa ser medida de forma precisa e quantitativa (NIKI, 2002). Dentre esses métodos destacamos o descrito por Pratt e Watts (1964), Hammerschmidt e Pratt (1978) e Pratt e Birac (1979), que consiste na oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno e do ácido linolêico. Esse método é largamente utilizado para se determinar a capacidade antioxidante de matrizes biológicas, como o plasma humano, assim como compostos simples, componentes de alimentos ou extratos de alimentos (BERG et al., 1999).

Buscando avaliar a atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *B. uncinella* e *B. dracunculifolia* com a metodologia descrita por Pratt e Watts (1964), Hammerschmidt e Pratt (1978) e Pratt e Birac (1979) é que foi realizado este trabalho.

### Material e Método

#### Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos utilizados neste trabalho foram obtidos pelo processo de hidrodestilação (arraste a vapor), utilizando para isso um extrator do tipo Clevenger. As espécies de *Baccharis* utilizadas para a obtenção dos óleos essenciais foram a *Baccharis dracunculifolia* D. C. e a *Baccharis uncinella* D. C. (Asteraceae), as quais foram coletadas na região Sudoeste do Estado do Paraná no período de janeiro a junho de 2005. As exsiccatas com esse material estão arquivadas no Laboratório de Botânica da Universidade Paranaense- UNIPAR - Campus de Francisco Beltrão, sob nº 28-A e B.

#### Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pela oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno e do ácido linolêico conforme metodologia descrita por Pratt e Watts (1964), Hammerschmidt e Pratt (1978) e Pratt e Birac (1979). Em um balão de fundo redondo, foram adicionados 60 mg de ácido linolêico, 200 mg de Tween 40 e 5 mg de  $\beta$ -caroteno foram dissolvidos em 5 mL de clorofórmio que, posteriormente, foi retirado utilizando rota- evaporador a 50°C. Após a remoção do clorofórmio, o resíduo foi dissolvido com a adição de 50 mL de DMSO (Dimetil Sulfoxido) e oxigenado sob vigorosa agitação. Aliquotas de 5 mL desta emulsão foram transferidas para tubos de ensaio contendo 50  $\mu$ L, 40  $\mu$ L, 30  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 10  $\mu$ L, 5  $\mu$ L e 1  $\mu$ L dos respectivos óleos obtidos e a absorbância foi medida imediatamente em espectrofotômetro a 470 nm. Os tubos foram incubados a 40°C para a reação de oxidação e a leitura da absorbância foi medida em intervalos de 60 minutos. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

#### Análise Estatística

A análise estatística foi realizada por meio de análise de variância. As diferenças significativas entre as médias foram determinadas pelo teste de Tukey.

### Resultados e Discussão

A determinação da atividade antioxidante dos óleos

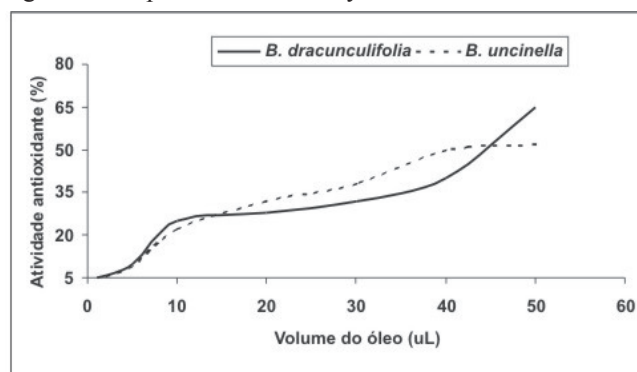
essenciais produzidos por *B. uncinella* e *B. dracunculifolia*, estão apresentados na Tabela 2 e na Figura 2.

**Tabela 1 - Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis uncinella*.**

Volume do óleo ( $\mu$ L)	<i>B. dracunculifolia</i> (%)	<i>B. uncinella</i> (%)
50	65,66 $\pm$ 5,24 a	52,18 $\pm$ 4,76 a*
40	40,05 $\pm$ 3,12 b	50,11 $\pm$ 4,39 a
30	32,55 $\pm$ 2,01 b	38,15 $\pm$ 3,76 b
20	28,32 $\pm$ 1,07 b	32,11 $\pm$ 2,12 b
10	25,12 $\pm$ 1,87 b	22,10 $\pm$ 2,05 c
5	10,11 $\pm$ 1,02 c	09,45 $\pm$ 1,78 d
1	05,23 $\pm$ 0,43 d	04,15 $\pm$ 0,24 e

\*Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si em nível de 5% pelo teste de Tukey.

Com os resultados obtidos, podemos observar que os dois óleos avaliados, isto é tanto o óleo obtido de *B. uncinella* e *B. dracunculifolia* apresentaram atividade antioxidante, no entanto, os melhores resultados foram observados nos volumes de 40 e 50  $\mu$ L de ambos os óleos, porém esses resultados não diferem estatisticamente dos resultados obtidos com o volume de 40  $\mu$ L ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.



**Figura 2 - Atividade antioxidante dos óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* e *Baccharis uncinella*.**

Os dados obtidos em ambas as avaliações coincidem com resultados obtidos por NIKI (2002), onde se observa que a atividade antioxidante in vivo é determinada por vários fatores, tais como sua reatividade frente ao radical, o número de radicais que consegue seqüestrar, a destruição do radical gerado pelo antioxidante, a concentração e a mobilidade, a interação com outros antioxidantes e o sítio de geração e reatividade do radical.

Podemos observar que em todos os volumes dos óleos utilizados nos ensaios, verificou-se algum resultado, esses dados podem ser vistos com o volume de 1,0  $\mu$ L, com valores de 5,23 e 4,15 para *B. dracunculifolia* e *B. uncinella*, respectivamente.

A atividade antioxidante (capacidade ou potencial antioxidante), é um parâmetro utilizado vastamente (em conjunto com outros) para caracterizar diferentes materiais

biológicos. Esta atividade está relacionada com compostos capazes de proteger um sistema biológico contra os efeitos danosos de processos ou reações que causam oxidação excessiva, envolvendo espécies reativas de oxigênio (ARNAO, 2000).

Durante a medida da atividade antioxidante dois fatores devem ser levados em consideração. O primeiro é que a eficiência do seqüestro do radical, que é determinada não apenas pela reatividade do antioxidante contra o radical, mas também pela sua concentração. O segundo fator está relacionado com o espectro de ação do antioxidante, por sua vez modulado pela solubilidade; por exemplo, a vitamina C (ácido ascórbico), é um potente seqüestrador de radicais hidrofílicos, mas não de radicais lipofílicos (NIKI, 2002).

### Conclusão

Após a análise dos resultados obtidos neste trabalho com os óleos essenciais obtidos de *B. uncinella* e *B. dracunculifolia*, pode-se concluir que os óleos de *B. dracunculifolia* e *B. uncinella*, possuem atividade antioxidante quando avaliados pela oxidação acoplada do  $\beta$ -caroteno e do ácido linoléico.

### Referências

- AMES, B. N. Dietary carcinogens and anticarcinogens. **Science**, v. 221, n. 2, p. 1256-1263, 1983.
- ANGELIS, R. C. **Importância de alimentos vegetais na proteção da saúde**: fisiologia da nutrição protetora e preventiva de enfermidades degenerativas. São Paulo: Atheneu, 2001. 295 p.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends Food Sc. Techn.** v. 11, n. 3, p. 419-421, 2000.
- ARUOMA, O. I. Free radicals and food. **Chemistry in Britain**, v. 29, n. 3, p. 210-214, 1993.
- BERG, R. V. D.; HAENEN, G. R. M. M.; BERG, H. V. D.; BAST, A. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. **Food Chem.** v. 66, n. 2, p. 511-517, 1999.
- BERRRINO, F.; KROGH V.; RIBOLI, E. Epidemiology studies on diet and cancer. **Tumori**, v. 8, n.1, 581-585, 2003.
- BRENNAN, R. J.; SCHIEST, R. H. Cadmium is an inducer of oxidative stress in yeast. **Mutat. Res.** (Fund. Mol. Mech. Mutagen), v. 356, n. 3, p. 46-54, 1996.
- \_\_\_\_\_. Free radicals generated in yeast by the Salmonella test-negative carcinogens benzene, urethane, thiourea and auramine. **O. Mutat. Res.** v. 403, n. 2, p. 65-73, 1998.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro Imprensa Nacional, v. 1, n. 1, p. 1-6, 1984.
- DREWNOWSKI, A.; GOMEZ-CARNEROS, C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 72, n. 2, p. 1424-1435, 2000.
- DONNELLY, J. K.; ROBINSON, D. S. Invited review. Free radical in foods. **Free Radical Research**, v. 22, n. 2, p. 147-176, 1995.
- FRANKEL, E. N. Lipid oxidation. **Progress in Lipid Research**, v. 19, n. 1, p. 1-22, 1980.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3. ed. Oxford, New York, 2000. 370 p.
- HAMMERSCHMIDT, P. A.; PRATT, D. E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **J. Food Scienc.** v. 43, n. 3, p. 556-559, 1978.
- HSIEH, R. J.; KINSELLA, J. E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids: mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. **Adv. Food Nutr. Res.** v. 33, n. 4, p. 233-341, 1989.
- HUSAIN, S. R.; CILLARD, J.; CILLARD, P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, v. 26, n. 2, p. 2489-2491, 1987.
- KORBES, C. V. **Manual de plantas medicinais**. 48. ed. Francisco Beltrão: Grafit, p.15-23, 1995.
- LAS HERAS, B. de; SLOWING, K.; BENEDÍ, J. Inhibitory effects of flavonóides. **J. of Ethnopharm.** v. 61, n. 4, p. 161-172, 1998.
- LARSON, R. A. The antioxidants of higher plants. **Phytochemistry**, v. 27, n. 3, p. 969-978, 1988.
- MACHLIN, L. J.; BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **The FASEB Journal**, v. 1, n. 2, p. 441-445, 1987.
- MONGELLI, E. et al. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonóides. **J. Ethnopharm.** v. 58, n. 4, p. 157-169, 1997.
- NIKI, E. Antioxidant: are we measuring it correctly? **Nutrition**, v. 18, n. 2, p. 524-525, 2002.
- OGA, Z. **Fundamentos de toxicologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 39-44.
- PASCUAL, C.; GONZALEZ, R.; TORRICELLA, R. G. Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. **J. Ethnopharm.** v. 41, n. 2, p. 9-13, 1994.
- PRATT, D. E.; BIRAC, P. M. Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. **J. Food Science**, v. 44, n. 3, p. 1720-1722, 1979.
- PRATT, D. E.; WATTS, B. M. The antioxidant activity of vegetable extracts. I: Flavone aglycones. **J. Food Sci.** v. 29, n. 2, p. 27-31, 1964.
- SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants: CRC critical **Rev. Food Sci. Nutr.** v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.
- STORZ, G. et al. Spontaneous mutagenesis and oxidative damage to DNA in *Salmonella typhimurium*. **Proceedings of the National Academy of Science**, v. 84, n. 2, p. 8917-8921, 1987.
- VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. O gênero *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Química Nova**, v. 28, n. 1, p. 85-94, 2005.
- WOLFE, S. P.; GARNER, A.; DEAN, R. T. Free radicals, lipids and protein degradation. **Trends in biochemical sciences**, v. 11, n. 2, p. 27-31, 1986.
- YUTING, C. et al. Flavonoids as superoxide scavengers and antioxidants. **Free Ra. Biol. & Méd.** v. 9, n. 4. p. 19-21, 1990.

Recebido em: 14/12/2005

Aceito em: 13/12/2006

Received on: 14/12/2005

Accepted on: 13/12/2006