

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Tagetes Minuta* Linn

LIVIA CONCEIÇÃO LIMA VALENTE<sup>1</sup>; RAQUEL GUIMARÃES JACOB<sup>2</sup>; JENIFER FETTER<sup>3</sup>; LUCIELLI SAVEGNAGO<sup>4</sup>; DANIELA HARTWIG DE OLIVEIRA<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPeL) – livia.valente32@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPeL) – raquelgjacob@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPeL) – jenifer.fetter@gmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPeL) - luciellisavegnago@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPeL) – daniela.hartwig@ufpel.edu.br

### 1. INTRODUÇÃO

Muito se discute à cerca de plantas com caráter medicinal, sendo utilizadas pelo ser humano desde os tempos antigos para a cura e tratamento de patologias. É de conhecimento histórico e científico a diversidade de propriedades medicinais de diversas espécies de plantas que podem ser aplicadas para estes fins. A *Tagetes Minuta* Linn vem se destacando devido sua ampla composição química e diferentes propriedades bioativas e terapêuticas. Devido à sua fácil adaptabilidade, é amplamente cultivada em vários países ao redor do mundo, com composição química variável à cerca da localização geográfica no qual foi cultivada. (Walia et al., 2020).

O estudo das potencialidades biológicas de óleos essenciais (EOs) extraídos de plantas medicinais e aromáticas vem crescendo nos últimos anos, onde esses compostos, provenientes do metabolismo secundário, despertam interesse por sua potencialidade em se tornar um produto terapêutico (Bakkali et al., 2008).

Os constituintes químicos presentes em alguns OEs apresentam propriedades antioxidantes. Esses compostos com ação antioxidante possuem a capacidade de neutralizar as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio que estão presentes ou que são produzidas em desequilíbrio nos diferentes organismos (estresse oxidativo), as quais podem causar severos danos às biomoléculas que constituem as porções celulares levando ao surgimento de mutações e desenvolvimento de patologias (Cavalcante et al., 2022).

Nesse sentido, relacionando as propriedades biológicas da planta *Tagetes Minuta* e o interesse no desenvolvimento de novos compostos com potencial antioxidante, o presente estudo visa avaliar a capacidade antioxidante do óleo essencial das folhas utilizando técnicas *in vitro*.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 Extração do Óleo Essencial e Caracterização Química

O material vegetal foi coletado em Pelotas-RS. Após, foi extraído o OE das folhas de *Tagetes Minuta*, utilizando-se de 200 g de material vegetal, a partir da técnica de destilação por arraste a vapor por um período de 4h em triplicata. O material usado na extração foi seco por um período de sete dias à temperatura ambiente e umidade controlada. A identificação dos componentes do OE foi realizada através da comparação dos seus espectros de massas com os armazenados na biblioteca NIST/EPA/NIH presentes no software do equipamento

e através da comparação dos índices de retenção de Kovats (KI) encontrados na literatura (Adams, 1995).

## **2.2 Avaliação do Efeito Antioxidante *in vitro***

### **2.2.1 Ensaio do Radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfônico) (ABTS)**

Para avaliar a capacidade antioxidante através da captura dos radicais ABTS foi utilizado o método descrito por Re et al. (1999) com algumas modificações. Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido em diferentes concentrações (50 µg/mL - 3000 µg/mL), e posteriormente foram incubados em duplicata juntamente com a solução ABTS previamente diluída em solução tampão de fosfato de potássio, por um período de 30 minutos, à temperatura ambiente e no escuro. A análise é realizada em um espectrofotômetro medindo-se a absorbância a um comprimento de onda de 734 nm.

### **2.2.2 Ensaio do Radical 2,2'-difetil-1-picril-hidrazil (DPPH)**

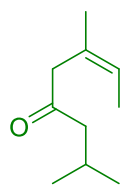
Para avaliar a atividade sequestrante frente ao radical DPPH, utilizou-se o método adaptado descrito por Sharma et al. (2009). Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido e posteriormente incubados em diferentes concentrações (50 µg/mL - 3000 µg/mL) juntamente com a solução DPPH diluída em metanol, em duplicata, por um período de 30 minutos, à uma temperatura de 30 °C, no escuro. A análise é realizada em um espectrofotômetro medindo-se a absorbância a um comprimento de onda de 517 nm.

### **2.2.3 Ensaio do Potencial Redutor do Íon Férrico (Fe<sup>3+</sup>) (FRAP)**

Com o intuito de avaliar o potencial de redução do íon férrico, o composto foi incubado juntamente com a solução, previamente preparada, contendo um tampão de acetato de sódio, triazina e cloreto de ferro, por um período de 40 minutos, à uma temperatura de 37 °C e no escuro. A análise é realizada em um espectrofotômetro medindo-se a absorbância a um comprimento de onda de 593 nm.

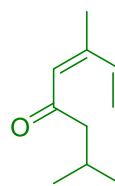
## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O rendimento obtido a partir da técnica de destilação por arraste a vapor para o OE das folhas de *Tagetes minuta* foi de 0,33% (m/m). Após a obtenção do OE, seus constituintes químicos foram analisados e quantificados por CG-MS, seguido por determinação do índice de Kovats. Foram identificados como constituintes majoritários a di-hidrotagetona (57%) e a (*Z*)-tagetona (22%), Figura 1.



Di-hidrotagetona

$$IK_{\text{Teor.}} = 1054 - IK_{\text{Exp.}} = 1054$$



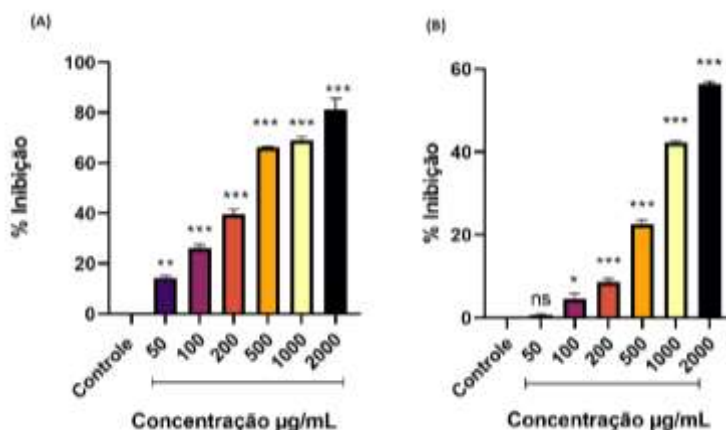
(Z)-Tagetona

$$IK_{\text{Teor.}} = 1153 - IK_{\text{Exp.}} = 1158$$

**Figura 1** – Estrutura química dos compostos majoritários identificados.  $IK_{\text{Teor.}}$ : Índice de Kovats teórico e  $IK_{\text{Exp.}}$ : Índice de Kovats experimental.

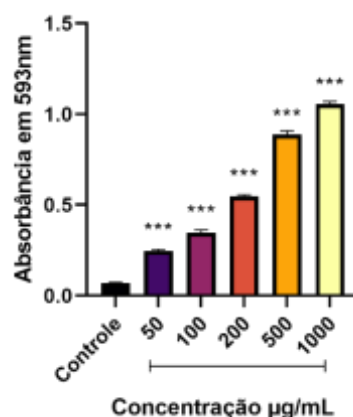
Após a caracterização química, o potencial antioxidante do OE foi explorado. Nesse contexto, considerando que a neutralização de espécies radicalares é um mecanismo de defesa antioxidante muito importante, a qual pode atuar prevenindo a degradação de alimentos e dos diferentes sistemas biológicos, realizou-se ensaios químicos para avaliar se o OE apresenta efeito antioxidante.

Nesse contexto, ao realizar os ensaios antioxidantes *in vitro*, evidenciou-se que o óleo essencial das folhas apresentou notável efeito antioxidante, sendo possível constatar sua capacidade de neutralizar tanto as espécies radicalares sintéticas de ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), quanto de DPPH (2,2'-difênil-1-picril-hidrazil), Figura 2 (A) e (B). Além disso, destaca-se que essas espécies atuam por diferentes mecanismos de neutralização de radicais.



**Figura 2.** Atividade antioxidante frente a captura dos radicais sintéticos (A) ABTS e (B) DPPH apresentada pelo óleo essencial das folhas *Tagetes Minuta*. Os dados são apresentados como a média  $\pm$  desvio padrão da média dos valores de absorvância a (A) 734 nm e (B) 517 nm ( $n = 3$ ). (\*)  $p < 0,05$  e (\*\*\*)  $p < 0,001$  expressa níveis de significância quando comparado ao grupo controle.

Diferentes estudos têm demonstrado que a capacidade de doar elétrons de um substrato para outro a partir de reações de oxirredução podem estar associados à capacidade antioxidante em organismos vivos. Nesse contexto, foi realizado um estudo para avaliar a capacidade antioxidante do OE por meio do experimento que avalia o potencial redutor do íon férrico ( $Fe^{3+}$ ) a íon ferroso ( $Fe^{2+}$ ), também conhecido como (FRAP). Neste contexto, resultados promissores foram obtidos (Figura 3).



**Figura 3:** Avaliação do potencial redutor do íon férrico apresentada pelo óleo essencial das folhas *Tagetes Minuta*. Os dados são apresentados como a média  $\pm$  desvio padrão da média dos valores de absorbância a 593 nm ( $n = 3$ ). (\*)  $p < 0,05$  e (\*\*\*)  $p < 0,001$  expressa níveis de significância quando comparado ao grupo controle.

A partir desses três experimentos, podemos inferir que os mecanismos de ação antioxidante dos compostos presentes no óleo essencial, envolvem tanto a capacidade em compartilhar prótons, como evidenciado no ensaio DPPH (Figura 2B), quanto o compartilhamento de elétrons, conforme observado nos ensaios ABTS (Figura 2A) e FRAP (Figura 3).

#### 4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados, é possível concluir que o óleo essencial obtido a partir das folhas de *Tagetes Minuta* apresenta resultados promissores quanto a sua capacidade antioxidante. Entretanto, estudos complementares são ainda necessários para compreender melhor o seu mecanismo de ação.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectroscopy**. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 1995.
- Bakkali, F. A.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food Chemical Toxicology**, v. 46, p.446-475, 2008.
- Cavalcante, K. L.; Calegari, G.; Orsato, A.; Pereza, C. C. Estresse Oxidativo e Nox: Doenças relacionadas e principais classes de inibidores sintéticos e naturais. **Revista Virtual de Química**, v.15, p. 248-261, 2022.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 26, p.1231-1237, 1999.
- Sharma, O. P.; Bhat T. K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, v. 113, p.1202-1205, 2009.
- Walia, S.; Srijana, M.; Bhatt, V.; Kumar, R. Variability in Chemical composition and antimicrobial activity of *Tagetes minuta* L. essential oil collected from different locations of Himalaya. **Industrial Crops and Products**, v. 150, p. 112449, 2020.