

ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM ENCAPSULADO POR *ELECTROSPRAYING*: ATIVIDADE ANTIOXIDANTE FRENTE AOS RADICAIS LIVRES HIDROXILA E ÓXIDO NÍTRICO

ESTEFANI TAVARES JANSEN¹; MARJANA RADÜNZ²; TAIANE MOTA
CAMARGO³; ANDRÉ LUIZ RADÜNZ⁴; JACIR DAL MAGRO⁵; ELESSANDRA DA
ROSA ZAVAREZE⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – estefani_tj@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marjanaradunz@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – taianecamargo@gmail.com

⁴Universidade Federal da Fronteira Sul – andre.radunz@uffs.edu.br

⁵Universidade Comunitária da Região de Chapecó – jacir@unochapeco.edu.br

⁶Universidade Federal de Pelotas – elessandrad@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são compostos por metabólitos secundários voláteis, presentes em diversas partes de plantas, como folhas, caules, raízes e sementes. Geralmente apresentam-se incolores e líquidos, a temperatura ambiente, com alta solubilidade em solventes orgânicos e baixa solubilidade em água (SILVA et al., 2022; SHARMA et al., 2021).

Os óleos essenciais apresentam diversas atividades biológicas, o que têm despertando a atenção de pesquisadores e da indústria de alimentos nos últimos anos. A demanda por essas substâncias tem aumentado e as mesmas podem ser extraídas a partir de diversas fontes botânicas, a exemplo do gengibre, orégano, canela, hortelã-pimenta, tomilho, alecrim, entre outros (BRANDT et al., 2023; YANG; GOKSEN; ZHANG, 2023).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma planta pertencente à família Lamiaceae, cultivada em diversos locais do mundo, especialmente nos países mediterrâneos, e muito utilizada na gastronomia. Apresenta folhas verdes em formato de agulha, sabor amargo e aroma característico. O óleo essencial de alecrim apresenta diversos compostos bioativos, como 1,8-cineol, cânfora, canfeno, α -pineno, β -pineno, limoneno, entre outros, que apresentam efeitos biológicos de interesse, como atividades antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas (AMANI et al., 2022; BRANDT et al., 2023).

Em razão da instabilidade do óleo essencial de alecrim devido a alta volatibilidade e sensibilidade frente a fatores ambientais adversos (como luminosidade, calor e oxigênio), faz-se necessário a utilização de estratégias que visem aumentar a estabilidade do óleo essencial, como o emprego de técnicas de encapsulação. A técnica de *electrospraying* é um exemplo de tecnologia de encapsulação que permite produzir cápsulas de forma simples, versátil, segura e sem o uso de altas temperaturas. Essas estruturas são capazes de proporcionar maior proteção e estabilidade aos compostos encapsulados, preservando suas atividades biológicas. Além de possibilitar uma liberação controlada e mascarar odores e sabores indesejáveis e característicos dos óleos essenciais (AMANI et al., 2022; BAKHSHIZADEH et al., 2023; NIU et al., 2020).

Assim, o objetivo desse trabalho foi extrair e encapsular o óleo essencial de alecrim, bem como avaliar sua capacidade antioxidante, após o processo de encapsulação por *electrospraying*, para inibir os radicais livres hidroxila e óxido nítrico.

2. METODOLOGIA

2.1 Processo de extração do óleo essencial de alecrim

As mudas de alecrim foram cultivadas na cidade de Erechim, Rio Grande do Sul/Brasil (Universidade Federal da Fronteira Sul). Após a colheita, as mesmas foram liofilizadas e moídas em moinho de bolas. Uma amostra de 80 g foi utilizada para obtenção do óleo essencial de alecrim, através da técnica de extração supercrítica com gás carbônico. As condições empregadas no experimento foram: temperatura constante de 25°C, fluxo de gás de 2 L.min⁻¹ e pressão inicial de 80 bar. Após 15 min, a pressão foi elevada em 25 bar e conduziu-se a extração até pressão final igual a 280 bar.

2.2 Encapsulação do óleo essencial de alecrim por *electrospraying*

Soluções poliméricas de zeína 9% (m/v) foram preparadas em etanol 70% (v/v, em água destilada) e submetidas a agitação constante por 1 h. Em seguida, o óleo essencial de alecrim foi adicionado a essas soluções em concentrações iguais a 1 e 2% (m/v, em volume de solução polimérica) e as mesmas foram transferidas para seringas plásticas de 1 mL com agulha de aço inoxidável de diâmetro igual a 0,45 mm. Após, as seringas foram adaptadas em uma estação horizontal de *electrospraying*, utilizando uma fonte de alta tensão, uma bomba de infusão e um coletor metálico envolto com papel alumínio. Adotou-se os seguintes parâmetros durante a produção das cápsulas: tensão elétrica de 16 kV, fluxo de alimentação de 1 mL.h⁻¹ e distância da ponta da agulha até o coletor de 10 cm.

2.3 Atividade antioxidante frente aos radicais hidroxila e óxido nítrico

Inicialmente, 100 mg de óleo essencial de alecrim não encapsulado ou de cápsulas com óleo essencial de alecrim foram diluídas em 2 mL de etanol 70% (v/v), com auxílio de um vortéx durante 1 min, compondo as soluções das amostras.

A atividade antioxidante dessas soluções frente ao radical livre hidroxila foi avaliada conforme Radünz et al. (2021), com modificações. Foram misturados 25 µL de cada solução supracitada com 110 µL de sulfato de ferro II hepta-hidratado 8 mmol.L⁻¹, 50 µL de peróxido de hidrogênio 7,18 mmol.L⁻¹ e 74,2 µL de ácido salicílico 3 mmol.L⁻¹. Esse meio foi agitado por 30 s e incubado a 37°C, em repouso, por 30 min. Posteriormente, procedeu-se a leitura em espectrofotômetro em comprimento de onda igual a 515 nm. Os resultados foram obtidos a partir da Equação 1 e expressos em porcentagem de inibição do radical livre.

$$\text{Inibição do radical livre (\%)} = \frac{\text{ABS}_{\text{branco}} - \text{ABS}_{\text{amostra}}}{\text{ABS}_{\text{branco}}} \cdot 100 \quad (1)$$

Onde $\text{ABS}_{\text{branco}}$ é a absorbância do branco e $\text{ABS}_{\text{amostra}}$ é a absorbância da amostra.

A atividade antioxidante frente ao radical óxido nítrico foi avaliada de acordo com Vinholes et al. (2011), com adaptações. Foram adicionados 50 µL das soluções das amostras e 50 µL de nitroprussiato de sódio 20 mmol.L⁻¹ e a mistura foi incubada a 22°C, em repouso e sob luz direta por 1 h. Em seguida, adicionou-se 50 µL de ácido fosfórico 2% e 50 µL de reagente de Griess, deixando-se novamente em repouso (10 min) a 22°C e ao abrigo da luz. Após, realizou-se a

leitura em espectrofotômetro a 562 nm. Os resultados foram expressos de modo similar ao radical livre óxido nítrico, através da Equação 1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de alecrim puro, não encapsulado, apresentou a maior capacidade de eliminação do radical livre hidroxila entre as amostras analisadas ($p < 0,05$). Enquanto, as cápsulas de zeína incorporadas com 1 e 2% (m/v) de óleo essencial, eliminaram, aproximadamente, 46 e 49% desse radical, respectivamente. Em relação ao radical livre óxido nítrico, maior ação antioxidante foi observada para esse radical em comparação ao radical hidroxila, porém comportamento semelhante foi detectado entre as amostras. As cápsulas de zeína com 1 e 2% (m/v) de óleo essencial de alecrim exibiram menores atividades antioxidantes avaliadas frente ao radical óxido nítrico, iguais a 54,94 e 61,91%, respectivamente, comparadas ao óleo essencial puro não encapsulado (73,08%), possivelmente devido as baixas concentrações de óleo nas cápsulas (Tabela 1).

Tabela 1 – Atividades antioxidante do óleo essencial de alecrim frente aos radicais livres hidroxila e óxido nítrico

Amostra	Óleo encapsulado (%) [*]	Inibição do radical livre (%)	
		Hidroxila	Óxido nítrico
Cápsulas	1	45,93 ^c	54,94 ^c
	2	48,85 ^b	61,91 ^b
Óleo não encapsulado	-	57,56 ^a	73,08 ^a

^{*} Concentração de óleo essencial de alecrim nas cápsulas de zeína produzidas por *electrospraying* expressa em % (m/v, em volume de solução polimérica);

^{a,b} Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os dados pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

O poder antioxidante do óleo essencial de alecrim pode ser atribuído aos diversos compostos presentes em sua composição, como terpenos e hidrocarbonetos, que podem atuar por diferentes mecanismos (como transferência de elétrons e/ou hidrogênios e quelantes de metais de transição) para inibir os radicais livres presentes no meio e que atuam nos processos oxidativos (SILVA et al., 2022; YANG; GOKSEN; ZHANG, 2023).

Em ambas as avaliações, as cápsulas de zeína incorporadas com óleo essencial de alecrim mantiveram elevados percentuais de captura dos radicais livres hidroxila e óxido nítrico, demonstrando que o processo de encapsulação foi capaz de preservar a atividade antioxidante do óleo essencial. Além de proteger e aumentar sua estabilidade, uma vez que o óleo não encapsulado poderia facilmente volatilizar e/ou ser degradado pela exposição às condições ambientais, como altas temperaturas e luminosidade. Ainda, é possível que a diferença entre as concentrações de óleo essencial de alecrim incorporadas nas cápsulas de zeína em relação ao óleo essencial não encapsulado também tenha influenciado nas discrepâncias de resultados.

Além disso, a capacidade antioxidante exigida para as cápsulas de zeína incorporadas com óleo essencial de alecrim deve estar associada a aplicação em que essas estruturas serão utilizadas, podendo os percentuais observados (Tabela 01) serem suficientes para controlar determinados processos oxidativos em alimentos.

4. CONCLUSÕES

As cápsulas de zeína incorporadas com óleo essencial de alecrim mantiveram a atividade antioxidante do óleo essencial não encapsulado frente aos radicais livres hidroxila e óxido nítrico. Assim, pode-se sugerir que a técnica de *electrospraying* apresenta-se como uma alternativa para aumentar estabilidade e preservar as funções biológicas dos compostos bioativos presentes no óleo essencial de alecrim. Ante o exposto, as estruturas produzidas apresentam potencial para serem aplicadas como emissoras de compostos antioxidantes que visem o controle de processo oxidativo indesejado, a exemplo daqueles que ocorrem durante o armazenamento de alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMANI, F.; REZAEI, A.; DAMAVANDI, M.; DOOST, A.; JAFARI, S. Colloidal carriers of almond gum/gelatin coacervates for rosemary essential oil: Characterization and *in-vitro* cytotoxicity. **Food Chemistry**, v. 377, 131998, 2022.
- BAKSHIZADEH, M.; AYASEH, A.; HAMISHEHKAR, H.; KAFIL, H.; MOGHADDAM, T.; HAGHI, P.; TAVASSOLI, M.; AMJADI, S.; LORENZO, J.; Multifunctional performance of packaging system based on gelatin/aloe vera gel film containing of rosemary essential oil and common poppy anthocyanins. **Food Control**, v. 154, 110017, 2023.
- BRANDT, C.; LOBO, V.; FIAMETTI, K.; WANCURA, J.; ORO, C.; OLIVEIRA, J.; Rosemary essential oil microemulsions as antimicrobial and antioxidant agent in tomato paste. **Food Chemistry Advances**, v. 2, 100295, 2023.
- NIU, B.; SHAO, P.; LUO, Y.; SUN, P. Recent advances of electrosprayed particles as encapsulation systems of bioactives for food application. **Food Hydrocolloids**, v. 99, 105376, 2020.
- RADÜNZ, M.; CAMARGO, T.; HACKBART, H.; BLANK, J.; HOFFMANN, J.; STEFANELLO, F.; ZAVAREZE, E.. Encapsulation of broccoli extract by electrospraying: Influence of *in vitro* simulated digestion on phenolic and glucosinolate contents, and on antioxidant and antihyperglycemic activities. **Food Chemistry**, v. 339, 128075, 2021.
- SHARMA, S.; BARKAUSKAIRE, S.; JAISWAL, A.; JAISWAL, S. Essential oils as additives in active food packaging. **Food Chemistry**, v. 343, 128403, 2021.
- SILVA, B.; ROSÁRIO, D.; WEITZ, D.; CONTE-JUNIOR, C.; Essential oil nanoemulsions: Properties, development, and application in meat and meat products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 121, n. 1, p. 1–13, 2022.
- VINHOLES, J.; GROSSO, C.; ANDRADE, P.; GIL-IZQUIERDO, A.; VALENTÃO, P.; PINHO, P.; FERRERES, F. *In vitro* studies to assess the antidiabetic, anti-cholinesterase and antioxidant potential of *Spergularia rubra*. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 454–462, 2011.
- YANG, J.; GOKSEN, G.; ZHANG, W. Rosemary essential oil: Chemical and biological properties, with emphasis on its delivery systems for food preservation. **Food Control**, v. 154, 110003, 2023.