



II COLÓQUIO NACIONAL DE PLANTAS AROMÁTICAS E MEDICINAIS

Vila das Caldas do Gerês
Terras de Bouro
28 e 29 de Setembro de 2007

Actas

Influência do tempo de destilação no rendimento, na composição química e na actividade antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial: os casos de *Pterospartum tridentatum* e *Laurus nobilis*

Mariana T. F. Simões¹, Monya M. Costa¹, Graça Miguel^{2*}, Leonor Faleiro², A. Cristina Figueiredo^{1**}, José G. Barroso¹ e Luis G. Pedro¹

¹Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, DBV, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal, **acsf@fc.ul.pt

²Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas, 8005-139 Faro, Portugal, *mgmiguel@ualg.pt

Resumo

Os óleos essenciais foram isolados de flores secas de *Pterospartum tridentatum* e folhas secas de *Laurus nobilis* de origem comercial, por hidrodestilação com diferentes tempos de destilação: 15 min, 30 min, 1 h, 2 h e 3 h. A análise dos óleos essenciais foi realizada por CG e por CG-EM. A actividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em agar e a actividade antioxidante foi avaliada por determinação do poder redutor, capacidade de redução de radicais estáveis (DPPH) e determinação de espécies reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os óleos isolados de *P. tridentatum* foram obtidos com rendimentos de 0,005%-0,01%, e os óleos essenciais de *L. nobilis* com rendimentos de 0,06-1,26%. Ainda que a percentagem relativa dos compostos maioritários (1-octen-3-ol, *n*-nonanal, *trans*-teaspirano e *cis*-teaspirano) tenha variado consoante os tempos de destilação, o 1-octen-3-ol, foi o componente dominante dos óleos isolados de *P. tridentatum*. Este composto mostrou um decréscimo acentuado na sua percentagem relativa com o aumento do tempo de destilação (21-9%). Também no caso do *L. nobilis* se observaram variações na percentagem relativa dos compostos maioritários dos óleos isolados. O 1,8-cineole (38-51%) foi o componente dominante de todos os óleos, seguido do linalol (13-16%), acetato de α -terpenilo (5-9%) e do sabineno (5-6%). Independentemente do tempo de destilação, os óleos essenciais isolados de *P. tridentatum* e de *L. nobilis* não apresentaram qualquer actividade antimicrobiana, dentro das concentrações testadas. A actividade antioxidante do óleo essencial de *P. tridentatum* não foi analisada, devido ao seu reduzido rendimento. O óleo essencial isolado de *L. nobilis* durante 3 h mostrou um poder redutor superior aos restantes, contudo inferior ao BHA e BHT. Na análise em termos de capacidade de captura de radicais livres, o BHA mostrou uma maior aptidão comparativamente às restantes amostras em todas as concentrações testadas. O óleo essencial de *L. nobilis* isolado durante 3 h apresentou uma melhor capacidade de impedir a oxidação lipídica do que os restantes incluindo o BHT, e semelhantes ao BHA.

Palavras-chave: Carqueja, Leguminosae, Louro, Lauraceae, CG, CG-EM

Abstract

Title: Influence of the distillation time in the yield, chemical composition and in the antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil: the cases of *Pterospartum tridentatum* and *Laurus nobilis*. The essential oils were isolated from the dried flowers

of *P. tridentatum* and from the dried leaves *L. nobilis* of commercial source, hydrodistillation with different distillation times: 15min, 30min, 1h, 2h and 3h. The essential oils were analysed by GC and GC-MS. The antibacterial ability was tested by the disc agar diffusion method and the antioxidant activity was assessed by measurement of the reductive potential, by the free radical scavenging (DPPH) and by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) assay. The essential oils isolated from *P. tridentatum* were obtained in a yield of 0,005%-0,01%, and those of *L. nobilis* in a yield of 0,06-1,26%. Although the relative amount of the main components (1-octen-3-ol, *n*-nonanal, *trans*-theaspirane and *cis*-theaspirane) varied over distillation time, 1-octen-3-ol was the dominant component of *P. tridentatum* oils. This compound showed a major decrease in its relative amount with increasing distillation time (21-9%). Also with *L. nobilis* variations were observed in the relative amount of the main components. 1,8-Cineole (38-51%) was the dominant component in all oils, followed by linalool (13-16%), α -terpenyl acetate (5-9%) and sabinene (5-6%). Independently of the distillation times, *P. tridentatum* and *L. nobilis* essential oils did not show antimicrobial activities within the tested concentrations. The antioxidant activity of *P. tridentatum* essential oil was not assessed due to its low yield. The essential oil isolated from *L. nobilis* during 3h showed a reducing power higher than the remaining oils, although lower than that of BHA and BHT. BHA showed higher free radical scavenging capacity than the remaining samples within the tested concentrations. The essential oil isolated from *L. nobilis* during 3h showed a better capacity to prevent lipid oxidation than the remaining samples, including BHT, and similar to that of BHA.

Keywords: *Pterospartum tridentatum*, Leguminosae, *Laurus nobilis*, Lauraceae, GC, GC-MS

Introdução

Pterospartum tridentatum WK. & Lge, vulgarmente conhecida por carqueja, é uma Leguminosae pertencente à subfamília Papilionoideae (Talavera, 1999), que cresce espontaneamente em Portugal. Este arbusto lenhoso (Font Quer, 1981) pode atingir uma altura de 100cm, apresenta ramificações alternadas, aladas e flores amarelas. Além da sua utilização na culinária, a carqueja é também usada tradicionalmente pelas suas propriedades medicinais: é digestiva e facilita a secreção da bÍlis, tem acção antibiótica, é indicada para infecções da bexiga, pedra nos rins, arteriosclerose e hipertensão, é também usada contra doenças do sistema respiratório, sinusite, bronquite, anginas e tosse (Ribeiro, 2000). Segundo estudos recentes, a carqueja pode ser indicada para doentes diabéticos (Vitor, 2004).

Laurus nobilis L. (também conhecido como *L. nobile*), louro ou loreiro, é uma árvore que pode atingir os 15m, apresentando folhagem verde escura e sementes negras (Neves e Valente, 1992; Salgueiro, 2004). Esta planta da família das Lauraceae é usada como antireumática, anti-séptica, diaforética, digestiva e diurética (Simić, 2004). O óleo essencial é ainda usado nas indústrias cosmética e alimentar (Brenness, 1994; Lawless, 2002).

Foi objectivo do presente estudo a identificação da composição química dos óleos essenciais isolados de *P. tridentatum* e de *L. nobilis*. Foi ainda avaliada a influência do tempo de destilação no rendimento e na composição química dos óleos essenciais isolados das duas espécies e bem assim na correspondente actividade antimicrobiana e antioxidante.

Material e métodos

Material vegetal

Nos diferentes ensaios de extracção dos óleos essenciais foram utilizadas flores secas de *Pterospartum tridentatum* WK. & Lge e folhas secas de *Laurus nobilis* L. de origem comercial, adquiridas das firmas Celeiro, Erva Pura e Terra Pura.

Extracção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação num aparelho do tipo Clevenger (Anónimo, 1996). As amostras foram sujeitas a diferentes tempos de destilação, Quadro 1: a) ao normal período de destilação de 3h, e b) a períodos alternativos de destilação de 30min, 1h e 2h. Nestes casos, recolheu-se o óleo ao fim de cada um destes tempos de destilação e o material foi sujeito, de seguida, ao período de destilação remanescente (2h30min, 2h e 1h), sendo estes óleos recolhidos e analisados em separado. No caso do *L. nobilis* fez-se ainda uma destilação de 15min, e uma pelo período remanescente de 2h45min, uma vez que esta espécie apresentou um rendimento em óleo muito superior ao obtido com *P. tridentatum*.

A componente volátil foi isolada com uma velocidade de destilação de 3 ml.min⁻¹ e, sempre que necessário, concentrada a um volume mínimo em “vial”, sob fluxo de azoto. As amostras de óleo foram armazenadas a -20 °C até análise.

Análise dos óleos essenciais

Cromatografia Gasosa e Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa: As análises de Cromatografia Gás-Líquido (CGL) e de Cromatografia Gás-Líquido/Espectrometria de Massa (CGL/EM) foram efectuadas de acordo com o descrito previamente (Grosso *et al.*, 2007).

Análise da actividade antimicrobiana

Na avaliação da actividade antimicrobiana foram utilizadas estirpes de *Bacillus cereus* (1060), *Salmonella* sp., *Listeria innocua* e *Staphylococcus aureus* (ATCC6538). A actividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em agar de acordo com o descrito por Faleiro *et al.* (2003).

Análise da actividade antioxidante

A actividade antioxidante foi avaliada por determinação do poder redutor, capacidade de redução de radicais estáveis, ou redução do radical estável 1.1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH), e determinação de espécies reactivas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), de acordo com o descrito por Bounatirou *et al.* (2007). Os óleos essenciais testados foram dissolvidos em metanol nas concentrações de 100, 250, 500, 750 e 1000 mg.l⁻¹, e os seus resultados comparados com os obtidos com os antioxidantes sintéticos BHT e BHA, nas mesmas concentrações.

Análise dos resultados: Os resultados obtidos, quer relativamente à actividade antimicrobiana, quer à actividade antioxidante, foram indicados sob a forma média \pm desvio padrão de cinco réplicas. A análise de variância foi realizada de acordo com o procedimento ANOVA a dois factores (SPSS 12.0 for Windows). As diferenças significativas foram submetidas ao teste de comparações de Tukey (Tukey Post Hoc tests), sendo considerado significativo $p \leq 0,05$.

Resultados

Rendimento dos óleos

Os óleos isolados de *Pterospartum tridentatum* apresentaram uma coloração amarelada e foram isolados com rendimentos entre 0,005% e 0,01%. A análise do gráfico da Fig. 1a, mostra que o rendimento desta espécie foi muito baixo, sendo que para as destilações mais longas os rendimentos não sofreram alterações.

Os óleos essenciais obtidos de *Laurus nobilis* apresentaram um aspecto claro, quase incolor, com rendimentos entre os 0,06 e 1,26%. O rendimento desta espécie foi elevado, principalmente para as destilações iniciais, Fig. 1b.

Composição dos óleos essenciais

Tempos iniciais de destilação

Pterospartum tridentatum

Nos óleos isolados de *P. tridentatum* foram identificados 60 componentes, totalizando uma percentagem entre 72 e 86%, Quadro 2. Os componentes identificados nas diferentes amostras de óleos essenciais isolados, bem como as suas percentagens relativas, encontram-se listados no Quadro 2, por ordem de eluição numa coluna DB-1.

Ainda que a percentagem relativa dos compostos maioritários (1-octen-3-ol, *n*-nonanal, *trans*-teaspirano e *cis*-teaspirano) tenha variado, para cada amostra, consoante os tempos de destilação, o 1-octen-3-ol, foi, em todos os casos, o componente dominante, Quadro 2. Este composto mostrou um decréscimo acentuado na sua percentagem relativa com o aumento do tempo de destilação (21-9%), efeito também observado, embora de forma menos patente, para os restantes componentes dominantes: *n*-nonanal (11-7%), *trans*-teaspirano (6-4%) e *cis*-teaspirano (6-3%). De forma inversa comportaram-se o linalol (3-7%), *trans*-anetole (1-5%) e o ácido dodecanóico (2-5%).

Laurus nobilis

No caso dos óleos isolados de *L. nobilis* identificaram-se 67 componentes, correspondendo a uma percentagem entre os 96 e os 99%, Quadro 3. Os componentes identificados nas diferentes amostras de óleos essenciais isolados, bem como as suas percentagens relativas, encontram-se listados no Quadro 3, por ordem de eluição numa coluna DB-1.

A fracção monoterpénica (82-93%) dominou claramente os óleos isolados de *L. nobilis*, ocorrendo o grupo dos fenilpropanóides também em percentagens relativas importantes (5-9%).

Também no caso do *L. nobilis* se observaram variações na percentagem relativa dos compostos maioritários. Apesar destas variações, os compostos dominantes mantiveram-se nos diferentes ensaios. O 1,8-cineole (38-51%) foi o componente dominante de todos os óleos, seguido do linalol (13-16%), acetato de α -terpenilo (5-9%) e do sabineno (5-6%).

À semelhança do observado com os óleos de *P. tridentatum*, também nos óleos isolados de *L. nobilis* se observaram compostos cuja percentagem relativa aumentou com o tempo de destilação. Interessante referir que, neste caso, os compostos são apenas do grupo dos fenilpropanóides, o eugenol (1-2%) e metil eugenol (3-7%).

Tempos remanescentes de destilação

Pterospartum tridentatum

Os componentes identificados nas diferentes amostras de óleos essenciais isolados das destilações remanescentes de *P. tridentatum*, bem como as suas percentagens relativas, encontram-se listados no Quadro 2, por ordem de eluição numa coluna DB-1. Nestes óleos os compostos maioritários variam entre as diferentes amostras, sendo que em todas elas houve uma dominância de ácidos gordos, em particular do ácido dodecanóico (11-20%).

O componente dominante dos tempos iniciais de destilação, 1-octen-3-ol, ocorreu, neste caso, em percentagens relativas <4%. De igual modo, também o *n*-nonanal (<2%) ocorreu em percentagem relativa muito inferior à encontrada nos óleos dos tempos iniciais. Já o *trans*-teaspirano ($\leq 5\%$) e o *cis*-teaspirano ($\leq 5\%$) foram detectados em concentrações relativas equivalentes às obtidas com os tempos iniciais de destilação.

Laurus nobilis

Para esta espécie, os resultados das destilações finais variaram, como na espécie anterior, tanto em termos de percentagem relativa como nos compostos maioritários. Os componentes identificados nas diferentes amostras de óleos essenciais isolados das destilações remanescentes de *L. nobilis*, bem como as suas percentagens relativas, encontram-se listados no Quadro 3, por ordem de eluição numa coluna DB-1.

Enquanto para Lnrem2h45min os compostos maioritários foram o 1,8-cineole (13%), o acetato α -terpenilo (12%), o metil eugenol (9%), e o linalol (8%), nas amostras Lnrem2h30min e Lnrem2h o acetato α -terpenilo (16% e 13%, respectivamente) e o metil eugenol (15% e 11%, respectivamente) foram os compostos maioritários. Já na amostra Lnrem1h, o metil eugenol e o acetato α -terpenilo foram igualmente os compostos dominantes, mas em concentrações relativas inferiores (9% e 8%, respectivamente).

Actividade antimicrobiana

Os ensaios de actividade antimicrobiana, realizados pelo método de difusão em agar, com os óleos essenciais isolados de *P. tridentatum* e de *L. nobilis*, isolados por hidrodestilação ao longo de diferentes tempos de destilação, não apresentaram qualquer actividade antimicrobiana, não sendo portanto as estirpes estudadas susceptíveis a estes óleos, dentro das concentrações testadas.

Actividade antioxidante

A actividade antioxidante do óleo essencial de *Laurus nobilis* foi testada relativamente ao seu poder redutor, capacidade de eliminação de radicais livres e pelo método TBARS, nas diversas concentrações em análise. Devido à reduzida quantidade de óleo essencial disponível para as análises, o óleo essencial de *P. tridentatum*, não foi testado relativamente a nenhum dos parâmetros considerados na actividade antioxidante. Também os óleos essenciais de *L. nobilis* resultantes das destilações remanescentes não foram avaliados.

Poder redutor

Os óleos essenciais de *L. nobilis*, obtidos nos diversos tempos de destilação testados e em diversas concentrações, mostraram poder redutor, Quadro 6. Verificou-se

no entanto que esse poder redutor era baixo, quando comparado com o de antioxidantes sintéticos, como o BHA e o BHT, que apresentaram poder redutor superior para todas as concentrações testadas, Quadro 4, sendo esses resultados estatisticamente significativos ($p \leq 0,05$). Comparando apenas os óleos essenciais para as concentrações testadas, verificaram-se diferenças no poder redutor para algumas das concentrações. Assim, a concentrações de 100 e 1000mg.l⁻¹, o óleo essencial isolado durante 3h mostrou um poder redutor superior aos tempos de destilação inferiores, sendo esta diferença estatisticamente significativa em ambos os casos ($p \leq 0,05$). Este óleo essencial foi o que apresentou melhores resultados em termos médios em qualquer das concentrações testadas, ainda que essa superioridade não seja estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

A comparação das cinco concentrações testadas para a mesma amostra indicou que, para os tempos de destilação ensaiados, as concentrações de óleo essencial mais elevadas permitiram melhores resultados em termos de poder redutor. Esta superioridade é significativa para os óleos essenciais isolados durante 15 min (Ln15min), 30 min (Ln30min) e 3 h (Ln3h) ($p \leq 0,05$).

As diferenças de resultados das diversas concentrações não foram tão evidentes no que se refere aos antioxidantes sintéticos BHA e BHT. A concentração mais eficaz em termos médios, no que se refere ao poder redutor foi a de 750 mg.l⁻¹. No entanto para o BHT não foram encontradas diferenças significativas entre essa concentração 250, 500 e 1000 mg.l⁻¹ ($p > 0,05$). A concentração de 750 mg.l⁻¹, no caso da análise com BHA, não mostrou resultados significativamente diferentes das concentrações 250 e 1000mg.l⁻¹ ($p > 0,05$).

Capacidade de redução de radicais estáveis ("scavenging")

Muitas espécies radicalares formam-se durante a oxidação lipídica (Kulisic et al., 2006). O radical orgânico DPPH é relativamente estável e tem sido utilizado na determinação da actividade antioxidante de diversos compostos ou extractos vegetais (Kulisic et al., 2006). No presente trabalho, este método foi utilizado para testar a capacidade de eliminação de radicais livres dos óleos essenciais de *L. nobilis* isolado em diferentes tempos de destilação.

A análise em termos de capacidade de eliminação de radicais livres mostrou algumas diferenças de resposta das amostras de óleo essencial de *L. nobilis* independentemente das concentrações testadas ($p \leq 0,05$). O antioxidante BHA mostrou uma capacidade de eliminação significativamente superior às restantes amostras em todas as concentrações testadas ($p \leq 0,05$). Por outro lado, independentemente da concentração testada, a actividade do BHT não mostrou diferenças significativas comparativamente às actividades dos óleos essenciais Ln1h e Ln2h ($p > 0,05$). Em algumas das concentrações testadas o BHT apresentou resultados semelhantes aos de outros óleos essenciais ($p > 0,05$), Quadro 5, verificando-se ainda que a 250mg.l⁻¹ a capacidade de eliminação do BHT apresentou-se significativamente inferior à dos óleos Ln1h e Ln2h ($p \leq 0,05$).

A análise dos resultados permitiu ainda verificar que, em termos gerais, independentemente das amostras testadas, os melhores resultados foram obtidos a concentrações de 1000mg.l⁻¹ ($p \leq 0,05$). Examinando os resultados por amostra, foi possível verificar que a actividade antioxidante do BHA não apresentou diferenças nas cinco concentrações testadas, sendo total, ou seja de 100%. As actividades obtidas com o BHT foram claramente inferiores ($p \leq 0,05$), não se verificando para esse antioxidante diferenças significativas entre as concentrações 500, 750 e 1000mg.l⁻¹ ($p > 0,05$), com as quais as percentagem de “scavenging” variaram entre 76 e 80%, Quadro 5.

Relativamente aos óleos essenciais, verificou-se que a amostra Ln15min, proveniente da destilação durante 15 min, apresentou resultados inferiores às restantes amostras em todas as concentrações testadas ($p \leq 0,05$). As amostras Ln1h e Ln2h, não apresentaram actividades significativamente diferentes nas concentrações 750 e 1000 mg.l⁻¹ ($p > 0,05$).

TBARS

Os óleos essenciais de *L. nobilis* revelaram capacidade de inibição da oxidação lipídica, Quadro 8. De facto, comparando os resultados obtidos para os diferentes óleos na mesma concentração, Quadro 6, é possível verificar que a 100 mg.l⁻¹, o óleo essencial isolado durante 3h apresenta resultados significativamente superiores aos restantes incluindo ao antioxidante sintético BHT ($p \leq 0,05$). apenas o antioxidante sintético BHA se mostrou resultados semelhantes ao deste óleo ($p > 0,05$). Analisando os resultados obtidos nas restantes concentrações, verificou-se que para todas elas alguns dos óleos essenciais analisados mostraram capacidades de inibição semelhantes à dos antioxidantes sintéticos BHA e BHT, sendo a 1000 mg.l⁻¹, que se encontraram maiores semelhanças entre os antioxidantes sintéticos e os óleos essenciais testados. De facto, para esta concentração não foram encontradas diferenças significativas entre o BHT, o BHA e os óleos essenciais isolados durante 1h e 3h ($p \leq 0,05$), que apresentaram índices de antioxição lipídica próximos de 80%. Também não foram encontradas diferenças significativas entre o BHT e o óleo essencial isolado durante 15 min de destilação ($p \leq 0,05$).

Comparando as concentrações testadas para a mesma amostra, as diferenças não foram muito expressivas, não se verificando diferenças significativas na capacidade de inibição da oxidação lipídica com a utilização das 5 concentrações testadas de óleo essencial isolado durante 30 min ($p > 0,05$). Os óleos isolados durante 15 min, 1 e 3h, mostraram índices de capacidade de inibição da oxidação lipídica semelhantes com as concentrações 500, 750, 1000 mg.l⁻¹ ($p > 0,05$). Relativamente aos antioxidantes sintéticos, verificou-se que para qualquer uma das concentrações testadas, o BHA, apresentou sempre índices de capacidade de inibição da oxidação lipídica superiores ao BHT, ainda que esta superioridade apenas seja estatisticamente significativa para as concentrações 250, 500 e 750 mg.l⁻¹ ($p \leq 0,05$), Quadro 6.

Em termos gerais é ainda possível verificar que independentemente da concentração testada, o índice de capacidade de inibição da oxidação lipídica apresentado pelo óleo essencial isolado durante 3h (Ln3h), foi, de todos os resultados, o que mais se aproximou aos verificados com os antioxidantes sintéticos. Os resultados obtidos com esse óleo essencial, ainda que estatisticamente inferiores aos do BHA ($p \leq 0,05$), não mostraram diferenças significativas, relativamente ao BHT ($p > 0,05$).

Independentemente das amostras testadas, quer em termos de óleo essencial, quer relativamente aos antioxidantes sintéticos, as concentrações que permitiram melhores índices antioxidantes foram 500, 750 e 1000 mg.l⁻¹, não havendo diferenças significativas entre os resultados a que deram origem ($p > 0,05$).

Discussão

A composição química dos óleos isolados de *Pterospartum tridentatum* apresentou algumas diferenças quantitativas em relação ao referenciado em trabalhos anteriores. Com efeito, enquanto no presente estudo o 1-octen-3-ol (9-28%) foi o composto maioritário para todos os tempos de destilação, logo seguido do *n*-nonanal (7-10%), *cis*-teaspirano (3-6%) e *trans*-teaspirano (4-6%), no estudo de Pereira *et al.*

(2002) o *cis*-teaspirano (13%) e *trans*-teaspirano (12%) foram os compostos dominantes. No estudo de Grosso *et al.* (2007) o *cis*-teaspirano (2-14%), o *trans*-teaspirano (2-17%) e o 1-octen-3-ol (2-37%) foram detectados como componentes dominantes dos óleos desta espécie, tendo a análise de cluster dos óleos confirmado uma acentuada variabilidade química dos mesmos.

O reduzido rendimento do óleo de *P. tridentatum* foi igualmente encontrado por Pereira *et al.* (2002) e Grosso *et al.* (2007). Das destilações em que, neste trabalho, se obteve um maior rendimento, Pt1h, Pt2h e Pt3h, o tempo de destilação mais indicado deve ser de 1h, uma vez que foi a destilação que apresentou menor percentagem de ácidos gordos que tendem a tornar o aroma mais “pesado” e desagradável.

No caso do óleo essencial de *Laurus nobilis* o composto maioritário obtido, o 1,8-cineole (38-51%), coincide com o referenciado por Fiorini *et al.* (1997), Roque (1989) e Baratta *et al.* (1998). À excepção do sabineno, todos os outros compostos maioritários coincidem com os resultados obtidos por Fiorini *et al.* (1997). Em Roque (1989) as quantidades de 1,8-cineole, linalol, sabineno e metil eugenol foram idênticas às obtidas no presente estudo.

Os rendimentos obtidos nas destilação desta espécie foram elevados, não havendo variação significativa do rendimento depois da 1h de destilação. Atendendo, por outro lado, que não há variações consideráveis na percentagem relativa dos compostos dominantes entre Ln1h, Ln2h e Ln3h, o tempo ideal de destilação será de 1h. É importante, contudo, referir que, se o objectivo for um óleo rico em 1,8-cineole então, para esse efeito, o tempo de destilação recomendado será de 15min, embora isso corresponda ao rendimento mais baixo obtido.

Os ensaios de actividade antimicrobiana, realizados pelo método de difusão em agar, com os óleos essenciais isolados de *P. tridentatum* e de *L. nobilis*, não apresentaram qualquer actividade antimicrobiana. Considerando que Diğrak *et al.* (2001) observaram susceptibilidade das espécies *B. cereus* e *S. aureus*, a extractos de clorofórmio de *L. nobilis*, sugere-se que a actividade antimicrobiana desta espécie pode estar associada a outros compostos que não os presentes no óleo essencial.

Extractos de folhas de louro obtidos por extracção de fluído supercrítico apresentaram capacidade de redução do radical DPPH, sendo, contudo, uma das fracções mais eficazes (Santoyo *et al.* 2006). Os autores relacionaram esta maior eficácia com a maior riqueza em fenóis da referida fracção.

Estudando diversos óleos essenciais de plantas usadas em culinária, Politeo *et al.* (2006) verificaram uma boa capacidade antioxidante do óleo essencial do louro quando determinado pelos métodos do DPPH, porque pelo método TBARS, os resultados não eram tão evidentes. Contudo, as concentrações do óleo essencial ensaiadas pelos autores eram relativamente mais elevadas (5-50g.l⁻¹) comparativamente às concentrações testadas no presente trabalho (0,1-1g.l⁻¹). Os autores atribuíram a actividade antioxidante à presença de metileugenol (14%), apesar de não ser o composto principal. O poder redutor, determinado pelo mesmo método seguido no presente trabalho, de extractos de louro era significativo de acordo com os resultados obtidos por Hinneburg *et al.* (2006) por comparação com extractos de outras plantas. Os mesmos autores correlacionaram esta actividade com o teor relativamente importante de compostos fenólicos. A actividade antioxidante do óleo essencial de louro foi também encontrada por autores Portugueses (Ferreira *et al.*, 2006) sem contudo relacionarem tal actividade com a composição química do óleo essencial.

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que tempo de destilação é determinante para a actividade antioxidante dos óleos essenciais do louro:

destilações de 15min produzem um óleo com uma menor capacidade antioxidante, o que pode estar relacionado com a percentagem inferior de metileugenol.

Agradecimentos

Estudo parcialmente financiado pelo IFADAP no projecto AGRO 800.

Referências

- Anónimo, 1996. European Pharmacopoeia, 3rd edn. Strasbourg, Council of Europe, pp. 121-122.
- Baratta, M. T., Dorman, H.J.D., Deans, S.G., Biondi, D. M. & Ruberto, G. 1998. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. J. Essent. Oil Res. 10, 618-627.
- Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Faleiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, A.C., Barroso, J. G. & Pedro, L.G. (2007) Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. Food Chemistry (in press),
- Bremness, L. 1994. Herbs, Eyewitness-Handbooks, DK Publishing, New York.
- Faleiro, M.L., Miguel, M. G., Ladeira, F., Venâncio, F., Tavares, R., Brito, J.C., Figueiredo, A.C., Barroso, J. G. & Pedro, L. G. (2003) Antimicrobial activity of essential oils isolated from Portuguese endemic species of *Thymus*. Let. Appl. Microbiol. 36, 35-40.
- Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M.L.M. & Araújo, M.E.M. 2006, The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. J. Ethnopharmacol. 108, 31-37.
- Fiorini, C., Fourasté, I., David, B. & Bessière, J.M. 1997. Composition of the flower, leaf and stem essential oils from *Laurus nobilis* L. Flav. Fragr. J. 12, 91-93.
- Font Quer, P. 1981. Plantas Medicinales, el Dioscorides Renovado, Editorial Labor, Barcelona, pp. 357-359.
- Grosso, A.C., Costa, M.M., Ganço, L., Pereira, A.L., Teixeira, G., Lavado, J.M.G., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. & Pedro, L.G. 2007. Essential oil composition of *Pterospartum tridentatum* grown in Portugal. Food Chem. 102, 1083-1088.
- Hinneburg, I., Dorman, H.J.D. & Hiltunen, R. 2006, Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. Food Chem. 97, 122-129.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V. & Milos, M. 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chem. 85, 633-640.
- Lawless, J. 2002. The Encyclopedia of Essential Oils, Thorsons, London.
- Neves, H.C. & Valente, A.V. 1992. Conheça o Parque Natural da Madeira. Parque Natural da Madeira, Funchal.
- Pereira, A.L., Teixeira, G., Santos, P.A.G., Figueiredo, A.C. & Barroso, J.G. 2002. Essential oils from *Pterospartum tridentatum*, 33rd International Symposium on Essential Oils, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pp. 155.
- Politeo, O., Jukić, M. & Milos, M. 2006, Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. Croatica Chemica Acta 79, 545-552.
- Ribeiro, J.A., Monteiro, A.M. & Silva, M.L.F. 2000. Etnobotânica - Plantas bravias, comestíveis, condimentares e medicinais. Património Natural Transmontano, João Azevedo Editor, Mirandela, pp. 83.
- Roque, O. 1989. Seasonal Variation in oil composition of *Laurus nobilis* grown in Portugal, J.Essent.Oil Res. 1, 199-200.
- Salgueiro, J. 2004. Ervas, Usos e Sabores - Plantas Medicinais no Alentejo e outros Produtos Naturais, Edições Colibri.
- Santoyo, S., Lloriá, R., Jaime, L., Ibañez, E., Señoráns, F.J. & Reglero, G. 2006. Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization. Eur. Food Res. Technol.

222, 565-571.

Simić, A., Soković, M.D., Ristić, M., Grujić-Jovanović, S., Vukojević, J. & Marin, P.D. 2004. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities, *Phytother. Res.* 18, 713-717.

Talavera, S., 1999. *Flora Iberica*, vol. VII (I). Madrid, pp. 44-137.

Vitor, R. F., Mota-Filipe, H., Teixeira, G., Borges, C., Rodrigues, A.I., Teixeira, A. & Paulo, A. 2004. Flavonoids of an extract of *Pterospartum tridentatum* showing endothelial protection against oxidative injury, *J. Ethnopharmacol.* 93, 363-370.

Quadros e figuras

Quadro 1. Tempos iniciais e remanescentes de destilação e respectivas siglas

Espécie	Estado Fenológico	Tempo de Destilação	Siglas
<i>Pterospartum tridentatum</i>	flores	30min	Pt30min
	flores	rem2h30m	Ptrem2h30min
	flores	1h	Pt1h
	flores	rem2h	Ptrem2h
	flores	2h	Pt2h
	flores	rem1h	Ptrem1h
	flores	3h	Pt3h
<i>Laurus nobilis</i>	folhas	15min	Ln15min
	folhas	rem2h45min	Lnrem2h45min
	folhas	30min	Ln30min
	folhas	rem2h30min	Lnrem2h30min
	folhas	1h	Ln1h
	folhas	rem2h	Lnrem2h
	folhas	2h	Ln2h
	folhas	rem1h	Lnrem1h
	folhas	3h	Ln3h

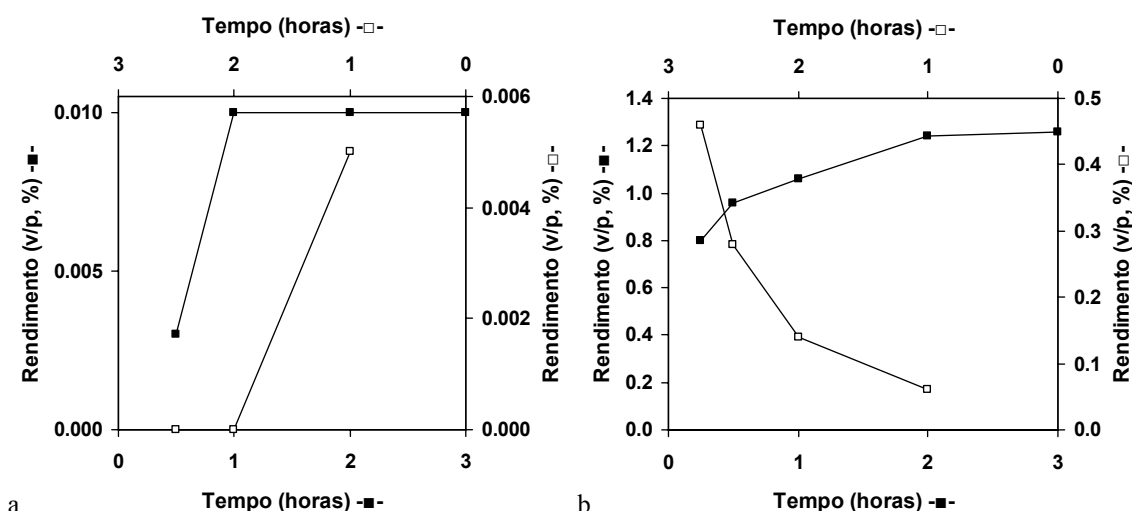


Figura 1. Variação do rendimento dos óleos isolados de a) *Pterospartum tridentatum* e de b) *Laurus nobilis* em função do tempo de destilação inicial (■) e remanescente (□)

Quadro 2. Composição química percentual dos óleos essenciais isolados de *Pterospartum tridentatum* para diferentes tempos de destilação (Tempos iniciais e Tempos remanescentes)

Compostos	RI	Tempos iniciais				Tempos remanescentes		
		Pt 30min	Pt 1h	Pt 2h	Pt 3h	Ptrem 2h30m	Ptrem 2h	Ptrem 1h
<i>trans</i> -2-Hexenal	866	0,3	v	v	0,1	v	0,1	v
<i>n</i> -Heptanal	897	2,0	1,1	1,2	0,9	1,0	0,1	v
Benzaldeído	927	0,4	0,2	0,6	0,3	0,3	0,1	0,2
α -Pineno	930	0,4	0,2	0,6	0,3	0,3	0,1	0,2
1-Octen-3-ol	961	20,7	28,2	19,0	9,2	4,0	1,5	1,2
2-Pentil furano*	972	0,7	0,5	0,5	0,8	1,0	0,8	0,5
<i>n</i> -Octanal	973	0,4	1,2	0,7	0,6	0,5	v	0,5
<i>p</i> -Cimeno	1003	0,4	0,3	v	0,3	0,2	v	v
1,8-Cineole	1005	0,2	0,5	0,9	0,7	0,3	v	0,1
Limoneno	1009	v	v	v	v	v	v	v
<i>n</i> -Octanol	1045	0,6	0,7	1,2	0,7	0,5	0,6	0,2
Fenchona	1050	v	v	0,2	v	v	v	v
Ácido heptanóico	1056	1,4	0,7	1,1	0,6	1,5	0,1	v
<i>n</i>-Nonanal	1073	10,9	9,0	7,4	6,5	1,7	0,4	1,1
Linalol	1074	2,8	3,4	9,6	7,1	1,9	1,5	1,9
Óxido de <i>cis</i> -rosa	1083	0,1	v	v	v	v	v	v
Cânfora	1095	0,5	0,5	1,6	0,7	0,1	v	0,1
<i>trans</i> -Pinocarveol	1106	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	v	v
Nonadienal	1106	0,1	0,2	0,3	0,2	v	v	v
Mentona	1120	0,1	0,2	0,3	0,2	v	v	v
Acetato de benzilo	1123	v	v	v	0,2	v	v	v
Óxido de nerol	1127	v	v	v	v	v	v	v
Borneol	1134	1,1	0,8	1,3	1,1	0,3	v	0,4
Lavandulol	1142	v	0,2	0,3	0,3	v	v	v
Mentol	1148	v	v	0,2	0,5	v	v	v
Terpineno-4-ol	1148	0,3	0,4	0,8	0,7	0,4	v	v
Ácido octanóico	1159	0,4	v	v	0,5	v	v	0,4
α -Terpineol	1159	1,0	0,9	2,1	1,8	1,1	1,6	1,2
Metil chavicol	1163	2,0	1,4	0,4	0,9	2,5	0,5	v
<i>n</i> -Decanal	1180	0,5	0,4	0,3	0,4	0,2	v	v
Pulegona	1210	1,1	1,0	3,0	1,4	0,6	0,8	1,5
Acetato de 2-fenil etilo	1228	0,2	0,1	0,2	v	0,3	v	v
Geraniol	1236	0,5	0,5	0,9	0,6	0,4	0,5	0,2
<i>n</i> -Decanol	1259	0,5	0,5	0,9	0,6	0,4	0,6	0,2
Acetato de linalilo	1245	0,7	0,6	1,6	1,4	0,8	0,4	0,5
<i>trans</i> -Anetole	1254	0,7	0,2	3,0	4,7	1,0	0,9	0,7
Ácido nonanóico	1273	4,3	3,8	2,5	1,5	8,6	4,4	3,0
2-Undecanona	1271	0,5	0,4	1,1	2,2	v	v	3,3
Carvacrol	1286	v	v	0,2	0,3	v	v	v
<i>cis</i>-Teaspirano	1279	5,6	5,8	4,1	3,2	5,3	2,6	2,1
2 <i>trans</i> ,4 <i>trans</i> -Decadienal	1285	1,3	0,7	1,1	1,0	0,7	0,9	v
<i>trans</i>-Teaspirano	1300	6,2	6,2	4,7	3,9	5,3	2,8	1,1
Hexil tiglato	1316	0,3	0,1	v	0,2	0,2	0,4	v
Eugenol	1327	0,6	0,7	1,1	0,8	0,7	0,7	3,4
Acetato de α -terpinilo	1334	0,2	0,2	0,2	0,3	0,7	0,5	1,6
α -Longipineno	1338	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	v	v
Ácido decanóico	1350	0,4	0,6	0,4	0,8	0,8	1,0	0,3
<i>trans</i> - β -Damascenona*	1356	0,4	0,6	0,4	0,8	0,8	1,0	0,3
Acetato de geranilo	1370	0,3	0,1	1,0	0,5	2,7	1,7	5,1
2-Pentadecanona	1390	0,3	0,3	0,2	0,8	0,3	0,9	0,4
β -Cariofileno	1414	0,3	0,2	1,0	1,2	0,5	0,4	1,4
Cetona de geranilo*	1434	1,2	0,9	0,4	0,7	0,9	2,4	0,8
<i>allo</i> -Aromadendreno	1456	0,3	0,3	0,2	0,7	0,4	v	1,0
<i>trans</i> - β -Ionona*	1456	1,0	1,1	1,0	1,1	1,1	0,4	1,3
α -Curcumeno	1475	0,3	0,1	0,0	0,5	0,4	0,4	0,7
Ácido dodecanóico	1551	2,0	3,4	4,3	5,3	10,8	13,3	19,9
Ácido tetradecanóico	1734	1,0	0,5	0,2	0,2	1,8	1,6	1,7
Ácido hexadecanóico	1779	0,5	0,5	v	0,7	1,5	3,3	6,2
Ácido 9,12-octodecanóico	1820	0,5	0,6	v	0,4	0,8	0,5	1,1

Compostos	RI	Tempos iniciais				Tempos remanescentes		
		Pt 30min	Pt 1h	Pt 2h	Pt 3h	Ptrem 2h30m	Ptrem 2h	Ptrem 1h
% de identificação		78,9	81,3	84,7	71,8	65,9	49,8	65,8
Componentes agrupados								
Hidrocarbonetos monoterpênicos		0,8	0,5	0,6	0,6	0,5	0,1	0,2
Monoterpenos oxigenados		10,4	10,4	24,8	18,6	10,4	9,4	13,4
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		1,0	0,7	1,4	2,5	1,4	0,8	3,1
Sesquiterpenos oxigenados		11,8	12,0	8,8	7,1	10,6	5,4	3,2
Fenilpropanóides		3,3	2,3	4,5	6,4	4,2	2,1	4,1
Outros		51,6	55,4	44,6	36,6	38,8	32,0	41,8

IR: Índices de retenção relativos a uma série de *n*-alcanos C₈-C₁₉, numa coluna DB-1; v: vestigial (<0,05%)

*Compostos identificados apenas com base no espectro de massa.

Quadro 3. Composição química percentual dos óleos essenciais isolados de *Laurus nobilis* para diferentes tempos de destilação (Tempos iniciais e Tempos remanescentes)

Compostos	RI	Tempos iniciais					Tempos remanescentes			
		Ln 15min	Ln 30min	Ln 1h	Ln 2h	Ln 3h	Lnrem 2h45m	Lnrem 2h30m	Lnrem 2h	Lnrem 1h
<i>trans</i> -2-Hexenal	866	v	v	v	v	v	v	v	v	v
<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol	868	v	v	v	v	v	v	v	v	v
α -Tujeno	924	0,3	0,3	0,4	0,5	0,3	0,7	0,6	0,7	0,4
α -Pineno	930	2,5	2,9	3,1	3,7	2,7	5,8	6,0	5,8	3,2
Canfeno	938	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,1
Sabineno	958	6,3	6,5	6,1	6,3	5,3	4,1	2,7	2,1	1,9
β -Pineno	963	2,4	2,6	2,7	3,1	2,6	4,1	4,3	4,0	v
Dehidro-1,8-cineole*	973	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Mirceno	975	0,5	0,4	0,6	0,6	0,5	1,0	0,8	1,0	0,6
α -Felandreno	995	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,5	0,5	0,3
δ -3-Careno	1000	0,4	0,4	0,4	0,5	0,4	0,7	0,7	0,7	0,4
α -Terpineno	1002	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	1,0	0,9	1,1	0,7
<i>p</i> -Cimeno	1003	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2
1,8-Cineole	1005	51,2	48,2	42,2	40,1	38,4	13,1	5,9	4,7	5,6
Limoneno	1009	0,1	v	v	v	v	0,1	v	v	v
<i>cis</i> - β -Ocimeno	1017	v	v	v	v	v	v	v	v	v
<i>trans</i> - β -Ocimeno	1027	0,1	v	v	v	0,1	0,3	v	v	v
γ -Terpineno	1035	0,5	0,5	0,6	0,7	0,8	1,7	1,8	2,0	1,4
Hidrato de <i>trans</i> -sabineno	1037	0,7	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	v	v	v
Óxido de <i>cis</i> -linalol	1045	v	v	v	v	0,2	v	v	v	v
2-Nonanona	1058	0,1	v	0,2	v	0,1	0,7	v	v	v
Óxido de <i>trans</i> -linalol	1059	0,1	v	0,2	v	0,1	0,7	v	v	v
Terpinoleno	1064	0,6	0,3	0,5	0,3	0,4	1,8	0,9	0,7	0,9
Hidrato de <i>cis</i> -sabineno	1066	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	1,7	v	0,2	v
Linalol	1074	15,8	15,1	14,9	13,0	14,3	7,5	3,8	2,0	0,9
<i>trans</i> - <i>p</i> -2-Menteno-1-ol	1095	0,2	0,1	0,2	v	0,2	0,5	v	0,1	v
<i>trans</i> -Pinocarveol	1106	0,1	v	v	v	0,1	v	v	v	v
<i>cis</i> - <i>p</i> -2-Menteno-1-ol	1110	0,1	0,1	0,1	v	0,1	0,3	v	v	v
δ -Terpineol	1134	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	v	0,3	0,2
Terpineno-4-ol	1148	1,4	1,6	1,6	1,6	1,8	2,5	2,6	2,2	0,9
α -Terpineol	1159	1,7	1,9	2,0	2,1	2,1	2,7	2,4	2,4	1,3
Metil chavicol	1163	0,1	0,1	v	v	v	0,1	v	v	v
<i>n</i> -Decanal	1180	v	v	v	v	v	0,1	v	v	v
Nerol	1206	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	v	0,1	v
<i>trans</i> -Cinamaldeído	1224	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Geraniol	1236	0,1	0,1	v	v	v	v	v	v	1,4
Acetato de linalilo	1245	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,7	v	0,2	v
Acetato de bornilo	1265	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2	0,3	0,9	0,8	v
2-Undecanona	1271	0,1	0,1	0,1	v	0,1	0,5	0,7	0,4	0,6

Compostos	RI	Tempos iniciais					Tempos remanescentes			
		Ln 15min	Ln 30min	Ln 1h	Ln 2h	Ln 3h	Lnrem 2h45m	Lnrem 2h30m	Lnrem 2h	Lnrem 1h
Acetato de terpineno-4-ol*	1297	0,3	0,7	0,5	0,9	0,5	0,8	0,9	1,2	0,5
Eugenol	1327	1,1	1,1	1,8	1,7	2,2	3,3	6,1	5,3	5,9
Acetato de α-terpinilo	1334	4,9	6,1	7,1	8,0	8,7	11,8	15,5	12,8	7,7
Acetato de geranilo	1370	0,2	v	0,1	v	v	0,2	0,3	0,1	v
Metil eugenol	1377	3,3	3,7	5,4	5,7	6,5	9,3	14,5	11,0	8,5
α -Gurjuneno	1400	v	v	0,2	0,1	0,1	0,1	0,8	0,5	0,8
Acetato de <i>trans</i> -cinamilo	1414	v	0,1	v	v	v	v	v	v	v
β -Cariofileno	1414	0,1	0,2	0,2	0,6	0,7	1,5	3,0	3,1	5,4
Aromadendreno	1428	v	0,1	0,5	0,3	0,2	0,4	1,0	1,0	1,7
α -Humulene	1447	0,1	v	v	0,3	v	0,1	0,1	0,2	0,4
<i>allo</i> -Aromadendreno	1456	v	0,2	v	v	0,1	0,2	0,5	0,5	0,7
<i>trans</i> -Metil-isoeugenol	1471	v	v	v	v	0,1	0,3	0,3	0,5	0,9
Germacreno-D	1474	0,2	0,1	0,2	0,4	0,1	0,4	0,4	0,4	0,9
Valenceno	1477	v	v	v	v	v	v	v	v	v
Biciclogermacreno	1487	0,1	0,5	0,3	0,4	0,5	0,9	1,5	1,6	2,5
α -Muuroleno	1494	v	v	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6
γ -Cadineno	1500	v	v	0,1	0,2	0,1	0,2	0,5	0,6	0,8
7- <i>epi</i> - α -Selineno	1500	0,1	v	v	v	0,1	0,1	0,7	0,3	0,6
δ -Cadineno	1505	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,6	0,7	1,1	1,6
Elemicina	1525	0,1	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	1,0	0,7	1,0
Espatulenol	1551	0,2	0,5	0,4	0,5	0,5	1,1	1,2	1,4	1,9
Óxido de β -cariofileno	1561	0,1	0,3	0,2	0,4	0,5	0,7	1,0	1,3	1,5
Viridiflorol	1569	v	0,2	0,2	0,2	0,2	0,5	0,6	0,7	1,0
Ledol	1580	0,1	v	0,2	0,2	0,3	0,6	0,7	0,8	1,2
<i>trans</i> -Cadinol	1616	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,4	0,5	0,7	1,2
β -Eudesmol	1620	0,1	0,0	0,2	0,4	0,3	0,6	0,8	1,1	1,9
α -Cadinol	1618	0,2	0,3	0,2	0,4	0,4	1,0	1,5	1,7	3,2
% de identificação		99,0	98,8	97,0	96,8	96,4	90,4	90,5	81,6	73,4
Componentes agrupados										
Hidrocarbonetos monoterpênicos		14,6	14,9	15,4	16,9	14,2	22,3	19,8	19,2	10,1
Monoterpenos oxigenados		78,0	75,7	70,2	67,0	68,1	43,7	32,3	27,1	18,5
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		0,8	1,3	2,0	2,6	2,3	4,7	9,5	9,7	16,0
Sesquiterpenos oxigenados		0,8	1,5	1,6	2,5	2,4	4,9	6,3	7,7	11,9
Fenilpropanóides		4,6	5,3	7,5	7,8	9,2	13,5	21,9	17,5	16,3
Outros		0,2	0,1	0,3	v	0,2	1,3	0,7	0,4	0,6

IR: Índices de retenção relativos a uma série de *n*-alcanos C₈-C₁₇, numa coluna DB-1; v: vestigial (<0,05%)

*Compostos identificados apenas com base no espectro de massa.

Quadro 4. Poder redutor das amostras de óleo essencial de *Laurus nobilis*, em diferentes concentrações (100, 250, 500, 750 e 1000mg.l⁻¹)

Amostra	Concentração (mg.l ⁻¹)				
	100	250	500	750	1000
Ln15min	0,2±0,0bc	0,2±0,0b	0,4±0,0c	0,5±0,0e	0,7±0,1d
Ln30min	0,1±0,0c	0,2±0,0b	0,4±0,0c	0,6±0,1e	0,7±0,0cd
Ln1h	0,1±0,0bc	0,3±0,0b	0,5±0,0bc	0,7±0,0d	0,8±0,0cd
Ln2h	0,2±0,0bc	0,3±0,1b	0,6±0,0b	0,8±0,0c	0,9±0,0bc
Ln3h	0,2±0,0b	0,4±0,0b	0,7±0,0b	0,9±0,0cd	1,0±0,1b
BHA	1,3±0,1a	1,7±0,2a	1,6±0,1a	1,9±0,0a	1,7±0,1a
BHT	1,4±0,1a	1,5±0,2a	1,8±0,2a	1,8±0,1b	1,7±0,1a
ANOVA a dois factores					
Concentração (A)			*		
Amostra (B)			*		
A x B			*		

Os valores apresentados representam médias ± desvio padrão de quatro repetições. Valores seguidos da mesma letra, dentro da mesma coluna, não são significativamente diferentes (p>0,05). * diferentes significativamente para p≤0,05; ns, não estatisticamente diferentes (p>0,05).

Quadro 5. Capacidade de redução de radicais estáveis dos óleos essenciais isolados de *L. nobilis*, e dos antioxidantes sintéticos BHT e BHA, dissolvidos em metanol nas concentrações (100, 250, 500, 750 e 1000mg.l⁻¹)

Amostra	Concentração (mg.l ⁻¹)				
	100	250	500	750	1000
<i>Ln15min</i>	14,4±0,9c	18,6±2,3d	47,5±0,4ef	48,8±1,2d	60,6±1,4d
<i>Ln30min</i>	17,6±1,2c	27,1±0,6c	47,0±3,1f	64,5±1,3c	74,6±1,2bc
<i>Ln1h</i>	18,5±3,9c	43,7±1,5b	65,6±1,1c	76,5±1,7b	73,4±4,0c
<i>Ln2h</i>	24,4±0,5bc	45,4±2,0b	62,4±1,2cd	69,1±0,6c	73,0±1,5c
<i>Ln3h</i>	19,3±2,7b	31,0±3,8c	55,6±2,7de	67,3±3,1c	72,3±0,2c
BHA	100,0±0,0a	100,0±0,0 a	100,0±0,0 a	100,0±0,0a	100,0±0,0a
BHT	17,2±2,2c	30,8±1,7c	76,0±6,8b	80,0±4,9b	80,0±2,7b
ANOVA a dois factores					
Concentração (A)			*		
Amostra (B)			*		
A x B			*		

Os valores apresentados representam médias ± desvio padrão de quatro repetições. Valores seguidos da mesma letra, dentro da mesma coluna, não são significativamente diferentes ($p>0,05$). *diferentes significativamente a $p\leq 0,05$; ns não estatisticamente diferentes ($p>0,05$).

Quadro 6. Capacidade de inibição da oxidação lipídica dos óleos essenciais isolados de *Laurus nobilis* e também dos antioxidantes sintéticos BHT e BHA dissolvidos em metanol a diferentes concentrações (100, 250, 500, 750 e 1000mg.l⁻¹)

Amostra	Concentração (mg.l ⁻¹)				
	100	250	500	750	1000
<i>Ln15min</i>	37,5±7,3de	56,6±4,5c	80,2±2,4ab	74,3±2,7c	77,1±1,1b
<i>Ln30min</i>	28,0±4,5e	28,7±12,2d	35,7±13,4c	46,8±2,9e	38,1±7,7d
<i>Ln1h</i>	38,9±7,5de	61,4±2,8c	85,9±1,4ab	76,8±3,0bc	79,6±2,0ab
<i>Ln2h</i>	50,2±2,7cd	77,6±5,0ab	74,4±1,6b	63,1±2,2d	62,7±0,3c
<i>Ln3h</i>	72,8±3,2a	65,6±1,8bc	74,0±3,9b	82,7±1,0b	83,4±1,5ab
BHA	86,6±6,2ab	84,7±0,4a	96,6±3,9a	90,0±1,3a	88,4±3,0a
BHT	62,1±4,7bc	66,7±1,8bc	70,1±6,3b	77,9±1,4bc	80,1±2,4ab
ANOVA a dois factores					
Concentração (A)			*		
Amostra (B)			*		
A x B			*		

Os valores apresentados representam médias ± desvio padrão de quatro repetições. Valores seguidos da mesma letra, dentro da mesma coluna, não são significativamente diferentes ($p>0,05$). *diferentes significativamente a $p\leq 0,05$; ns não estatisticamente diferentes ($p>0$)