

## Empleo de aceites esenciales como antioxidantes naturales

Por J.A. Zygadlo (1), A.L. Lamarque (1), D.M. Maestri (1) y N.R. Grosso (2)

(1) Cátedra de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Universidad Nacional de Córdoba. Avda. Vélez Sarsfield 299. 5000 Córdoba, Argentina.

(2) Cátedra de Química Biológica, Facultad de Ciencias Agropecuarias (UNC),

### RESUMEN

#### Empleo de aceites esenciales como antioxidantes naturales

Los objetivos de este estudio fueron determinar y comparar el efecto antioxidante de los aceites esenciales de *Thymus vulgaris*, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Tagetes minuta*, *Satureja parvifolia* y *Lippia polystachya* en el aceite de soja. Las concentraciones de las esencias en el aceite de soja fueron 0.1% y 0.02%. La actividad antioxidante fue medida por los valores de peróxido. Los aceites esenciales de *T. vulgaris* y *L. nobilis* exhibieron una significativa acción antioxidante seguidos, en orden decreciente, por *F. vulgare* y *E. globulus*. Las esencias de *T. minuta*, *S. parvifolia* y *L. polystachya* no mostraron efecto antioxidante y su contribución a la estabilidad oxidativa del aceite de soja fue despreciable.

PALABRAS-CLAVE: Aceite de soja — Aceite esencial — Efecto antioxidante.

### SUMMARY

#### Use of essential oils as natural antioxidants

The aims of this study were to determine and compare the antioxidant effect of essential oils from *Thymus vulgaris*, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare*, *Eucalyptus globulus*, *Tagetes minuta*, *Satureja parvifolia* and *Lippia polystachya* in soybean oil. The concentrations of volatile oils in soybean oil were 0.1% and 0.02%. The antioxidant activity was measured by peroxide values. *Thymus vulgaris* and *L. nobilis* essential oils exhibited a significant antioxidant activity, followed by *F. vulgare* and *E. globulus* in a decreasing order. *Tagetes minuta*, *S. parvifolia* and *L. polystachya* had not effect, and their contribution to the stability of soybean oil was negligible.

KEY-WORDS: Antioxidant effect — Essential oil — Soybean oil.

## 1. INTRODUCCIÓN

Recientemente, existe un creciente interés en la industria alimenticia y en la medicina preventiva en el desarrollo de "antioxidantes naturales". En un principio, Chipault et al (1956) y luego otros (Sheabar y Neeman, 1988; Papadopoulos y Boskou, 1991; Svoboda and Deans, 1992; Deighton et al. 1993; Kanner et al, 1994; Hall et al. 1994; Six, 1994) evaluaron las propiedades antioxidantes de varios extractos vegetales y encontraron que *Rosmarinus officinalis* L. y *Salvia officinalis* L. proveían los más eficientes.

En los extractos ensayados, las fracciones con mayor actividad antioxidante son aquellas que presentan tocoferoles (Jung and Min, 1990; Bruun-Jensen et al., 1994), carotenoides (Jung and Min, 1991) y compuestos fenólicos

(Budowski, 1964; Chimi et al., 1991; Duve and White, 1991; Kanner et al., 1994; Wu et al. 1994).

Si bien los extractos de muchas especies aromáticas se han ensayado como antioxidantes naturales (Economou et al., 1991; Svoboda and Deans, 1992; Kim et al., 1994), existe escasa información de la actividad que podrían tener los aceites esenciales (Deighton et al., 1993; Deighton et al., 1994; Six, 1994).

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto antioxidante de algunos aceites esenciales.

## 2. MATERIAL Y METODOS

### 2.1. Material vegetal.

Se utilizó el siguiente material: *Foeniculum vulgare* Miller subespecie *capillaceum* (Galib.) Holmboe variedad *dulce* Miller, *Laurus nobilis* L., *Thymus vulgaris* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Tagetes minuta* L., *Satureja parvifolia* (Phil.) Epl. y *Lippia polystachya* Gris.

### 2.2. Obtención de los aceites esenciales .

Las hojas de *L. nobilis* y *E. globulus* y plantas completas de *T. minuta*, *S. parvifolia*, *L. polystachya*, *F. vulgare* y *T. vulgaris* fueron hidrodestiladas durante 4 hs. en un aparato tipo Clevenger.

### 2.3. Cromatografía gas-líquido

Los aceites esenciales se analizaron en un cromatógrafo Shimadzu GCR1A, equipado con detector de llama (FID). Se utilizó una columna capilar CBP1 (30m x 0.25mm), con el siguiente programa: desde 60°C a 240°C (3°C/min.). Las temperaturas del inyector y del detector fueron 270°C. El gas portador fue nitrógeno con un caudal de 1 ml/min. Los componentes se identificaron con el empleo de estándares obtenidos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) y de Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI) y datos bibliográficos (Lawrence, 1981; Zygadlo et al., 1990; Zygadlo et al., 1993; Velasco-Negueruela, 1993). El contenido de cada uno de los compuestos que constituyen la esencia se expresó en porcentajes con respecto al total de la misma.

#### 2.4. Obtención del aceite de soja.

Con objeto de emplear un método estandarizado para medir la actividad antioxidante de los aceites esenciales (Frankel, 1993; Meyer, 1994; Frankel, 1994), las pruebas de actividad se realizaron sobre aceite de soja (*Glycine max* Merrill) libre de tocoferoles, ácidos grasos libres, peróxidos y carotenoides. El aceite se obtuvo por extracción con Soxhlet durante 12 hs empleando n-hexano, para luego purificarlo por cromatografía de acuerdo a Jung and Min (1991).

#### 2.5. Método de análisis de oxidación.

El deterioro oxidativo fue estudiado colocando las muestras de aceite y de compuestos volátiles en frascos abiertos a una temperatura de 60°C. Se utilizó como un valor de referencia al BHT (2,6-diterbutil-4-metilfenol) a una concentración de 0.02%, porque este es el nivel más alto permitido en aceites, grasas y alimentos con lípidos (Economou et al., 1991). Una muestra control fue preparada colocándola en las mismas condiciones, sin adicionar ningún antioxidante. El valor de peróxido fue determinado por el método Cd 8-53 de la American Oil Chemists' Society (Walker, 1986). Se realizaron cinco repeticiones de cada una de las muestras y las mediciones se efectuaron cada 48 horas. Para establecer la eficacia de los aceites esenciales ensayados se utilizó también el factor de estabilización F (Marinova et al., 1994).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I se muestra la composición en volátiles de los aceites esenciales utilizados. *Foeniculum vulgare* variedad *dulce* se caracteriza por una elevada concentración de trans-anetol (70.0%); *L. nobilis* tiene como componentes mayoritarios al eugenol (30.0%), 1,8-cineol (13.3%) y linalol (12.2%). En *T. vulgaris* el timol (30.3%) y el carvacrol (15.0%) son los principales constituyentes, en tanto que en *E. globulus* lo es el 1,8-cineol (80.0%). En *S. parvifolia* los óxidos de piperitona y de piperitenona representan el 45.0%. Las cetonas son los principales componentes en *T. minuta* y *L. polystachya*. En la primera especie, la ocimona es el compuesto mayoritario (67.2%) mientras que la  $\alpha$ -tuyona (69.0%) lo es para la segunda.

La principal ventaja que presentan los aceites esenciales sobre los extractos etanólicos es su elevada solubilidad en el aceite haciendo innecesario el agregado de aditivos para mejorar la misma.

El deterioro oxidativo del aceite de soja conteniendo distintas concentraciones de las esencias ensayadas, se presenta en la Fig. 1. Existe abundante bibliografía en donde se afirma que los compuestos fenólicos presentan actividad antioxidante (Economou et al., 1991; Papadopoulos y Boskou, 1993; Six, 1994) y su posible mecanismo de acción ha sido discutido por Jung y Min, 1991; Deighton et al., 1993; y Six, 1994. Los aceites esenciales de *T. vulgaris* y *L. nobilis*, cuyos componentes principales son fenoles, son los que presentan mayor actividad antioxidante, le siguen en orden decreciente las esencias de *F. vulgare* y *E.*

*globulus*. La ausencia de una relación lineal entre la concentración del antioxidante y el factor de estabilización (F), indicaría además la participación de los aceites esenciales en otras reacciones que no están relacionadas con procesos antioxidativos (Marinova et al., 1994; Denisov y Khudyakov, 1987).

Tabla I  
Composición de los aceites esenciales utilizados en el estudio. Se describen los componentes principales (>1.0%). Esta elección es arbitraria.

|   |  |
|---|--|
| <i>Laurus nobilis</i>                       | Canfeno (1.5 %) $\beta$ -pineno (15.3%), $\gamma$ -terpineno (1.4%), terpinen-4-ol (4.1%), linalol (12.2%), 1,8-cineol (13.3%), eugenol (30.0%), linalil acetato (5.1 %) $\alpha$ -terpineol (4.3%). |
| <i>Foeniculum vulgare</i> var. <i>dulce</i> | $\alpha$ -pineno (3.2%), fenchona (1.1%), metil chavicol (5.0%), citral (1.5%), trans-anetol (70.0%), anisaldehído (1.5%), carvacrol (1.3%) $\alpha$ -felandreno (2.9%), limoneno (2.0%).            |
| <i>Thymus vulgaris</i>                      | $\alpha$ -pineno (2.6%), canfeno (2.7%), limoneno (3.4%) $\beta$ -pineno (4.2%), mirceno (4.3%), carvacrol (15.0%), $\gamma$ -terpineno (10.1%), timol (30.3%), p-cimeno (1.0%), linalol (2.2%).     |
| <i>Eucalyptus globulus</i>                  | $\alpha$ -pineno (10.4%), 1,8-cineol (80.0%).  |
| <i>Tagetes minuta</i>                       | $\beta$ -ocimeno (17.0%), (Z)ocimona (32.1%), (E)ocimona (35.1%), (E)tagetona (3.0%), (Z)tagetona (1.6%).  |
| <i>Satureja parvifolia</i>                  | limoneno (5.5%), mentol (15.6%), citronelol (1.2%), $\alpha$ -terpineol (3.1%), dodecanal (4.5%), mentona (7.9%), pulegona (5.1%), óxido de piperitona (31.0%), óxido piperitenona (14.0%).          |
| <i>Lippia polystachya</i>                   | $\beta$ -pineno (2.4%), sabineno (3.5%), limoneno (2.1%), $\alpha$ -tuyona (69.0%), carvona (11.4%).   |

Los otros aceites esenciales presentaron acción prooxidante (Tabla II), razón por la cual no están incluidos en la Fig. 1. Por último, la acción antioxidante que muestran las esencias de *F. vulgare* y de *E. globulus* en donde los componentes mayoritarios son el anetol y el 1,8-cineol respectivamente (Tabla I); plantea la posibilidad de que algunos compuestos de características no fenólicas provenientes de aceites esenciales podrían ser utilizados como antioxidantes de alimentos en reemplazo de los compuestos de síntesis como el BHT o similares.

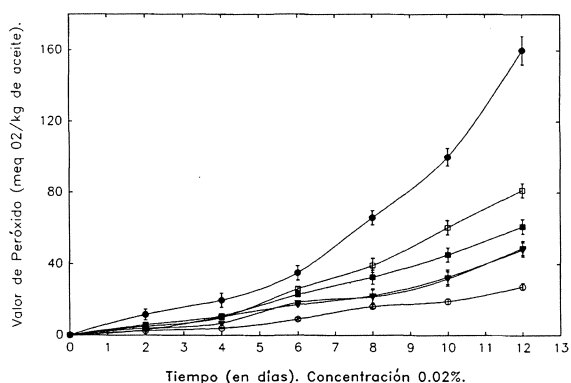
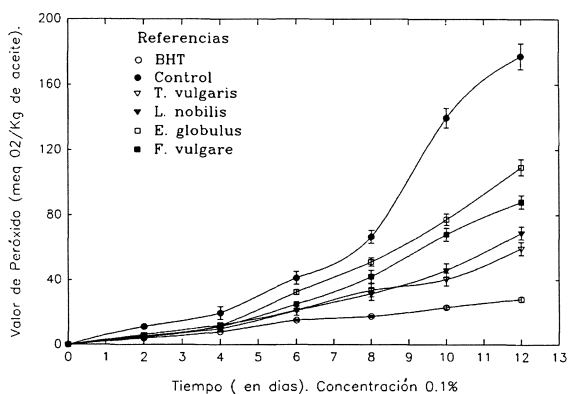


Fig. 1  
Autooxidación de muestras de aceite de soja.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Provincia de Córdoba (CONICOR) y a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SECYT) por el apoyo económico.

## BIBLIOGRAFIA

Bruun-Jensen L., Skovgaard M., Skibsted L.H. and Bertelsen G. (1994).- "Antioxidant synergism between tocopherols and ascorbyl palmitate in cooked, minced turkey".- *Z. Lebensm Unters Forsch.* **199**, 210-213.  
Budowski P. (1964).- "Recent research on sesamin, sesamol and related compounds".- *J. Am. Oil Chem. Soc.* **41**, 441-445.

Tabla II  
Factores de estabilización que caracterizan la inhibición de la oxidación del aceite de soja a 60°C.

| Antioxidante   | Concentración (%) | Factor de estabilización (F) |
|----------------|-------------------|------------------------------|
| BHT            | 0.02              | 3.0                          |
| T. vulgaris    | 0.1               | 1.5                          |
|                | 0.02              | 1.9                          |
| L. nobilis     | 0.1               | 1.6                          |
|                | 0.02              | 1.8                          |
| E. globulus    | 0.1               | 1.2                          |
|                | 0.02              | 1.3                          |
| F. vulgare     | 0.1               | 1.3                          |
|                | 0.02              | 1.4                          |
| T. minuta      | 0.1               | 0.4                          |
|                | 0.02              | 0.7                          |
| S. parvifolia  | 0.1               | 0.5                          |
|                | 0.02              | 0.8                          |
| L. polystachya | 0.1               | 0.6                          |
|                | 0.02              | 0.8                          |

Chimi H., Cillard J., Cillard P. and Rahmani M (1991).- "Peroxy and hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidants".- *J. Am. Oil Chem. Soc.* **68**, 307-312.  
Chipault J.R., Mizuno G.R., Lundberg W.O. (1956).- "The antioxidant properties of species in foods".- *Food Technol.* **10**, 209-211.  
Deighton N., Glidewell S.M., Deans S.G. and Goodman B.A. (1993).- "Identification by EPR spectroscopy of carvacrol and thymol as the major sources of free radicals in the oxidation of plant essential oils".- *J. Sci. Food Agric.* **63**, 221-225.  
Deighton N., Glidewell S.M., Goodman B.A. and Deans S.G. (1994).- "The chemical fate of the endogenous plant antioxidants carvacrol and thymol during oxidative stress".- *Proc. Royal Soc. Edinburgh* **102B**, 247-252.  
Denisov E. and Khudyakov I. (1987).- "Mechanisms of action and reactivities of the free radicals of inhibitors".- *Chem. Rev.* **87**, 1313-1357.  
Duve K.J. and White P.J. (1991).- "Extraction and identification of antioxidants in Oats".- *J. Am. Oil Chem. Soc.* **68**, 365-370.  
Economou K.D., Oreopoulou V. and Thomopoulos C.D. (1991).- "Antioxidant activity of some plant extracts of the family Labiatae".- *J. Am. Oil Chem. Soc.* **68**, 109-113.  
Frankel E.N. (1993).- "In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids".- *Trends in Food Sci. & Technol.* **4**, 220-225.  
Frankel E.N. (1994).- "Methods of evaluating food antioxidants: reply".- *Trends in Food Sci. & Technol.* **5**, 57.  
Hall III C., Cuppett S., Wheeler D. and Fu X. (1994).- "Effects of bleached and unbleached rosmaray oleoresin and rosmariquinone on light-sensitized oxidation of soybean oil".- *J. Am. Oil Chem. Soc.* **71**, 533-535.  
Jung M.Y. and Min D.B. (1990).- "Effects of  $\alpha$ -,  $\gamma$ , and  $\Delta$ -tocopherols and oxidative stability of soybean oil".- *J. Food Sci.* **55**, 1464-1465.  
Jung M.Y. and Min D.B. (1991).- "Effects of quenching mechanisms of carotenoids on the photosensitized oxidation of soybean oil".- *J. Am. Oil Chem. Soc.* **68**, 653-658.

- Kanner J., Frankel E., Granit R., German B. and Kinsella J.E. (1994).- "Natural antioxidants in grapes and wines".- J. Agr. Food Chem. **42**, 64-69.
- Kim S.Y., Kim J.H., Kim S.K., Oh M.J. and Jung M.Y. (1994).- "Antioxidant activities of selected oriental herb extracts".- J. Am. Oil Chem. Soc. **71**, 633-640.
- Lawrence B.M. (1981).- "Essential Oils 1979-1980".- Allured Ed., Ill., USA.
- Marinova E.M., Nedjalka VI Y. and Kostova I.N (1994).- "Antioxidative action of the ethanolic extract and some hydroxycoumarins of *Fraxinus ornus* bark".- Food Chem. **51**, 125-132.
- Meyer A.S. (1994).- "Methods of evaluating food antioxidants".- Trends in Food Sci. & Techn. **5**, 56-57.
- Papadopoulos G. and Boskou D. (1991).- "Antioxidant effect of natural phenols on olive oil".- J. Am. Oil Chem. Soc. **68**, 669-671.
- Sheabar F.Z. and Neeman I. (1988).- "Separation and concentration of natural antioxidants from the rape of olives".- J. Am. Oil Chem. Soc. **65**, 990-993.
- Six P. (1994).- "Current research in natural food antioxidants, INFORM".- J. Am. Oil Chem. Soc. **5**, 679-688.
- Svoboda K.P. and Deans S.G. (1992).- "A study of the variability of Rosemary and Sage and their volatile oils on the British Market: their antioxidative properties".- Flav. and Frag. J. **7**, 81-87.
- Velasco-Negueruela A., Perez-Alonso M.J., Guzmán C.A., Zygadlo J.A., Ariza-Espinar L., Perucha J.S. and Vallejo M.C.G. (1993).- "Volatile constituents fo four *Lippia* species from Córdoba (Argentina)".- J. Essent. Oil Res. **5**, 513-524.
- Walker R. (1986).- (ed) Official and Tentative Methods of the American Oil Chemists' Society".- American Oil Chemists' Society, Champaign, IL.
- Wu K., Zhang W., Addis P.B., Epley R.J., Salih A.M. and Lehrfeld J. (1994).- "Antioxidant properties of wild rice".- J. Agric. Food Chem. **42**, 34-37.
- Zygadlo J.A., Grosso N.R., Abburrá R.E. and Guzmán C.A. (1990).- "Essential oil variation in *Tagetes minuta* populations".- Biochem. Syst. Ecol. **18**, 405-409.
- Zygadlo J.A., Merino E.F., Guzmán C.A. and Ariza-Espinar L. (1993).- "The essential oil of *Satureja odora* and *S. parvifolia* from Argentina".- J. Essent. Oil Res. **5**, 549-551.

Recibido: Junio 1995

Aceptado: Agosto 1995