

Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico)

Antioxidant activity of the essential oil from *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. by different antioxidants assays (ABTS, DPPH, FRAP, β -carotene/linoleic acid)

DOI 10.5935/2446-4775.20180011

Silva, Leomara Andrade da^{1*}; Raposo, Juliana Divina Almeida²; Campos, Laila Portil Garcino³; Conceição, Edemilson Cardoso da³; Oliveira, Ricardo Bezerra de⁴; Mourão, Rosa Helena Veras⁴.

¹Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas-INPA. Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia. Av. André Araújo, 2.936, Petrópolis, CEP: 69067-375, Manaus, Amazonas, Brasil.

²Universidade Federal de Minas Gerais, Pampulha, CEP: 31270-901, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

³Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Av. Universitária com 1ª Avenida s/n, Setor Universitário, CEP: 74605-220, Caixa-postal: 31, Goiânia, GO, Brasil.

⁴Universidade Federal do Oeste do Pará, Laboratório de Bioprospecção e Biologia Experimental (LabBBEx), Unidade Amazônia, Av. Vera Paz s/n, Salé, 68040-070, Santarém, PA, Brasil.

*Correspondência: andrade.biologia@hotmail.com

Resumo

Entre as várias espécies que possuem ampla diversidade para atividades biológicas, estão as da família Myrtaceae, que apresentam alto teor de óleo essencial. Em virtude da carência de estudos com atividade antioxidante do gênero *Myrcia* (Myrtaceae), o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante do óleo essencial de folhas frescas de *Myrcia sylvatica* (OEMS) por meio dos métodos de captura de radical livre (DPPH e ABTS) e pela auto-oxidação do FRAP e do sistema β -caroteno/ácido linoleico, comparando a padrões trolox e BHA como referências. A capacidade antioxidante pelo método DPPH apresentou IC₅₀ de 1,94 ± 0,12 mg/mL em 60 minutos de reação. Pelo método ABTS, apresentou atividade antioxidante correspondente a 32,85 ± 0,86 μ M de trolox/g de OEMS. Pelo método FRAP apresentou Z de 193,47 ± 2,63 de μ M de sulfato ferroso/g de OEMS, em 45 minutos de reação. No teste de β -caroteno/ácido linoleico, o OEMS (4 mg/mL) inibiu 26,1% da oxidação do β -caroteno em 120 min de reação. O óleo essencial de *M. sylvatica* apresentou baixa atividade antioxidante, sendo pouco eficaz comparativamente às referências, mesmo que testado por mais de um mecanismo.

Palavras-chave: Atividade antioxidante. Óleo essencial. DPPH. ABTS. FRAP. β -caroteno/ácido linoleico. *Myrcia sylvatica*.

Abstract

Among the various species that possess wide diversity for biological activities, are those from the Myrtaceae family, which have high content of essential oil. Due to the lack of studies with *Myrcia* (Myrtaceae) antioxidant activity, the aim of this work was to evaluate the antioxidant capacity of essential oil from fresh leaves of *Myrcia sylvatica* (OEMS) by free radical capture methods (DPPH and ABTS) and by autoxidation of the FRAP and the β -carotene/linoleic acid system, comparing trolox and BHA standards as references. The antioxidant capacity by the DPPH method showed IC 50 of 1.94 ± 0.12 mg/mL in 60 minutes of reaction. By the ABTS method, OEMS presented antioxidant activity corresponding to 32.85 ± 0.86 μ M trolox/g. By the FRAP method, Z showed 193.47 ± 2.63 μ M of ferrous sulfate/g of OEMS in 45 minutes of reaction. In the β -carotene/linoleic acid test, the OEMS (4 mg/mL) inhibited 26.1% of β -carotene oxidation in 120 min of reaction. The essential oil from *M. sylvatica* presented low antioxidant activity, being less effective compared to the references, even when it was tested by more than one mechanism.

Keywords: Antioxidant activity. Essential oil. DPPH. ABTS. FRAP. β -caroteno/linoleic acid. *Myrcia sylvatica*.

Introdução

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, quando ocorre a produção excessiva de radicais de oxigênio durante processos patofisiológicos ou devido a fatores ambientais (1). Através de um ou mais mecanismos, os antioxidantes têm como função reduzir a oxidação, como por exemplo, por meio da inibição de radicais livres e complexação de metais (2).

Naturalmente, os radicais livres são produzidos endogenamente ou adquiridos de forma exógena, e seu excesso gera o estresse oxidativo (3). Essas substâncias são cada vez mais conhecidas, incitando um maior interesse para o uso em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos, capazes de substituir antioxidantes sintéticos suspeitos de induzir câncer (4-5). Há um crescente interesse pelos antioxidantes naturais provenientes dos extratos vegetais (6), principalmente a partir de plantas aromáticas e medicinais, consideradas fontes de antioxidantes naturais. Metabólitos secundários, como os compostos fenólicos têm ação antioxidante, que agem inibindo a formação de radicais livres (7-9). Dessa forma, os óleos essenciais e seus constituintes têm proporcionado aceitação devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas, incluindo ação antioxidante (9).

Entre as várias espécies que possuem ampla diversidade para atividades biológicas, estão as da família Myrtaceae, que apresentam alto teor de óleo essencial (10). Algumas espécies da família Myrtaceae foram testadas quanto ao potencial antioxidante, a exemplo de: *Eucalyptus citriodora*, pelos métodos FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e de captura de radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) (11); *Eugenia stipitata*, testada pelas metodologias Folin-Ciocalteu e DPPH (12); *Eucalyptus rostrata* testada *in vitro* com membrana de coelhos (13); *Myrciaria dubia*, pelos métodos ABTS (ácido 2,2'-azinobis 3-etilbenzenotiazolina-6-sulfônico) e FRAP (14); e *Myrtus comunis* L., pelos métodos DPPH, FRAP e Folin-Ciocalteu (15).

No entanto, devido ao grande número de representantes de Myrtaceae, existe uma ampla investigação a ser realizada, principalmente ao que se refere às suas propriedades biológicas. Entre as espécies, destaca-se *Myrcia sylvatica*, conhecida popularmente por "murtinha" ou "pedra-ume-caá", usualmente comercializada e utilizada na medicina popular para o controle da diabetes, diarreia, aftas, inflamação

intestinal e hemorragias, sendo as folhas a principal região vegetativa utilizada em forma de chá ou em banhos (16).

Pesquisas recentes mostram que o óleo essencial de *Myrcia sylvatica* apresenta atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* e *Enterococcus faecalis* (17). Além disso, o óleo essencial da espécie é também recomendado para anestesia e sedação em peixes, sendo eficaz na prevenção de uma resposta ao estresse e excesso de formação de espécies reativas de oxigênio (18-19).

No entanto, em virtude da carência de estudos com atividade antioxidante do gênero *Myrcia*, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antioxidante do óleo essencial de folhas frescas de *Myrcia sylvatica* (G.Mey.) DC., pelos métodos DPPH, ABTS, FRAP e β -caroteno/ácido linoleico.

Material e Métodos

Folhas de *Myrcia sylvatica* foram coletadas em uma área de savana (coordenadas 02° 30' 31,7"S e 54° 50' 59,9"W), perto da Comunidade São Pedro, estrada Everaldo Martins, Km 21, cidade de Santarém, Pará, Brasil. A coleta foi realizada no período da manhã em agosto de 2012. A amostra testemunha foi depositada no Herbário da Embrapa Amazônia Oriental (Belém - PA), sob o número IAN 184696. Foram utilizadas na proporção de 1:10 (massa vegetal/água destilada), 100 g de folhas frescas cortadas manualmente e submetidas à hidrodestilação, usando um aparelho do tipo Clevenger (3 h), para obtenção do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (OEMS). O rendimento do OEMS foi de 0,9%, calculado em porcentagem, através da relação entre o volume de óleo obtido (0,9 mL) e a biomassa vegetal utilizada na extração (100 g).

Determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do radical livre DPPH

A atividade antioxidante do OEMS pela captura do radical livre DPPH foi determinada de acordo com o método de Kondo (20), com modificações. A amostra de OEMS foi solubilizada em etanol nas concentrações de 8, 20, 40 e 80 mg/mL. Preparou-se uma solução etanólica de DPPH (60 μ M) com absorvância inicial entre 0,6 e 0,7 à temperatura ambiente. A leitura das absorvâncias foi analisada a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (NOVA 3300 UV). Realizou-se a mistura reacional pela adição de 1950 μ L da solução de DPPH e 50 μ L da solução do OEMS, em etanol. A reação controle (branco) foi realizada substituindo a amostra por 50 μ L de etanol. Para a comparação dos resultados utilizou-se trolox (Sigma) como padrão antioxidante, substituindo o branco por 50 μ L da solução trolox 1 mM em etanol. O controle e o padrão trolox foram testados nas concentrações de 0,04, 0,08, 0,12, 0,16 e 0,20 mg/mL. A mistura reacional foi agitada, protegida da luz e oxigênio e a absorvância monitorada a cada 15 min a partir de 30 min de incubação até o ponto final de cada reação, quando a absorvância se manteve constante. A atividade de captura do radical DPPH foi expressa por meio da porcentagem de inibição (%I), onde Ac é a absorvância do controle e Aam a absorvância da amostra, segundo a equação: $\%I = (Ac - Aam) / Ac \times 100\%$. A concentração mínima da amostra que inibiu 50% do radical DPPH (IC₅₀), no meio reacional, foi obtida por regressão linear utilizando-se os valores de concentração versus porcentagem de inibição.

Determinação da atividade antioxidante pelo método de captura do cátion radical livre ABTS

A atividade antioxidante do OEMS, através da captura do cátion radical ABTS, foi determinada conforme descrição de metodologia ⁽²¹⁾. Utilizou-se o trolox como padrão antioxidante e os resultados foram expressos em termos da capacidade antioxidante do composto equivalente ao trolox, expresso em valor de TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*, capacidade antioxidante total do composto equivalente ao trolox). A solução do cátion radical foi preparada pela reação do ABTS 3,5 mM com persulfato de potássio 140 mM. Para completa reação e estabilização do radical, a solução radical ABTS permaneceu ao abrigo de luz, à temperatura ambiente, por um período de 16 horas. Diluiu-se a solução de ABTS em etanol até obter uma absorbância de $0,7 \pm 0,05$ a 734 nm. A curva de calibração do padrão trolox foi feita nas concentrações de 100, 250, 500 e 1000 μ M. As concentrações utilizadas para construção da curva de calibração para capacidade antioxidante do OEMS foram de 1000, 2000, 4000, 6000, 8000 e 10000 μ g/mL. Em ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 μ L de cada solução padrão, para tubos de ensaio e adicionados 3,0 mL da solução de radical ABTS. As absorbâncias foram medidas a 734 nm após 6 min de reação, utilizando-se o etanol como branco. Realizou-se o mesmo procedimento para as soluções de OEMS. A atividade em capturar o cátion radical ABTS foi expressa em μ M trolox/g de OEMS (Z), obtida a partir das equações das retas das curvas: concentração de trolox versus absorbância e concentração da amostra versus absorbância ⁽²¹⁾.

Determinação da atividade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)

A atividade antioxidante do OEMS, pela redução do ferro conhecida como método FRAP, foi determinada conforme descrição de metodologia. ⁽²²⁾ Obteve-se o reagente FRAP a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato de sódio - ácido acético 0,3 M, (pH 3,6), 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM (2,4,6-tris (2-piridil)-triazina) e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, usado imediatamente. Como padrão utilizou-se sulfato ferroso e a curva de calibração foi feita nas concentrações de 250, 500, 1000, 1500 e 2000 μ M.

Para avaliação da capacidade antioxidante foram testadas diferentes concentrações do OEMS, solubilizadas em etanol (1000, 2000, 4000, 6000, 8000 e 10000 μ g/mL). Trolox foi testado nas concentrações de 25, 62,5, 125 e 250 mg/L. O ensaio foi realizado através da adição em tubos de ensaio de uma alíquota de 90 μ L da solução padrão de sulfato ferroso, 270 μ L de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. A mistura foi homogeneizada, mantida em banho-maria a 37 °C durante 30 min, e a leitura da absorbância foi medida a 595 nm. O mesmo procedimento foi realizado para as soluções de OEMS e de trolox. O poder antioxidante do OEMS em reduzir o ferro foi expresso em μ M sulfato ferroso/g de amostra (Z), obtido a partir das equações das retas das curvas concentração de sulfato ferroso versus absorbância e concentração da amostra versus absorbância ⁽²²⁾.

Determinação da atividade antioxidante no sistema β -caroteno/ácido linoleico

O método de oxidação do sistema β -caroteno/ácido linoleico está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pela sua atividade de inibição de radicais livres, gerados durante a peroxidação do ácido linoleico ⁽²⁾. Assim, a habilidade do OEMS em prevenir o descoloramento do β -caroteno foi avaliada conforme descrito pela literatura ⁽²³⁻²⁴⁾.

As amostras de OEMS e dos padrões antioxidantes BHA (2,3-terc-butil-4-hidroxianisol) e trolox foram solubilizadas em etanol em três concentrações (0,5, 1,0 e 4,0 mg/mL). Uma solução de β -caroteno e ácido linoleico foi preparada a partir de 0,2 mg de β -caroteno dissolvido em 1 mL de clorofórmio e adicionado a 20 μ L de ácido linoleico e 265 μ L de Tween 40. O clorofórmio foi completamente evaporado com auxílio de oxigenador. Em seguida, adicionou-se cerca de 100 mL de água ultrapura previamente saturada com oxigênio por 30 minutos. Agitou-se vigorosamente a mistura, apresentando uma coloração amarelo-alaranjada e com absorvância entre 0,6 e 0,7 a 470 nm. Realizou-se o ensaio por meio da adição em tubos de ensaio de uma alíquota de 2,5 mL da mistura reativa, e 0,2 mL da amostra de OEMS nas diferentes concentrações e a leitura realizada imediatamente no tempo zero a 470 nm. Os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria à temperatura de 50 °C, e a absorvância monitorada por 120 min em intervalos contínuos de 15 min. Realizou-se o mesmo procedimento para o controle (etanol), e os padrões BHA e trolox. A atividade antioxidante (AA%) foi expressa como porcentagem de inibição da oxidação calculada em relação ao decaimento da absorvância do controle (A_0-A_{120}) e da amostra (B_0-B_{120}) conforme a equação: $AA\% = [(A_0-A_{120}) - (B_0-B_{120})] / [A_0-A_{120}] \times 100$. Onde: 0 e 120 correspondem a absorvância no tempo 0 e 120 minutos de reação, respectivamente.

Resultados e Discussão

Determinação da atividade antioxidante pelo método captura do radical livre DPPH

O óleo essencial de *M. sylvatica* reagiu com radical DPPH com estabilização da absorvância em 60 min. A inibição variou de 8,6 a 52,0% nas concentrações de 0,2 a 2,0 mg/mL, com IC_{50} de $1,94 \pm 0,12$ mg/mL, na mistura reacional. A curva de concentração versus inibição exibiu boa correlação linear com coeficiente de determinação R^2 de 0,99. O padrão antioxidante trolox foi testado de maneira análoga ao OEMS. A curva de inibição do trolox foi feita nas concentrações de 1,0 a 5,0 μ g/mL, com variação na inibição de 10,7 a 63,2%, na mistura reacional ($R^2 = 0,99$). A reação foi bastante rápida em torno de 10 min. O OEMS reduziu o radical DPPH, porém apresentou baixo potencial antioxidante frente ao padrão trolox. Os valores de IC_{50} de OEMS, determinados em diferentes tempos de reação, assim como o do trolox, encontram-se na

TABELA 1.

TABELA 1: Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (OEMS) pelo método DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). * IC_{50} : concentração do antioxidante na mistura reacional que reduz 50% o radical DPPH.

Amostra	IC_{50}
OEMS 30 min	$2,55 \pm 0,25$ mg/mL
OEMS 45 min	$2,17 \pm 0,15$ mg/mL
OEMS 60 min	$1,93 \pm 0,12$ mg/mL
Trolox 10 min	$0,003 \pm 0,30$ mg/mL

Determinação da atividade antioxidante pelo método do ABTS

O óleo essencial de *M. sylvatica* apresentou atividade antioxidante pela captura do radical ABTS. Os resultados, expressos como valor TEAC, corresponderam a $32,85 \pm 0,86$ μ M de trolox/g.

Determinação da atividade antioxidante pelo método redução do ferro (FRAP)

A atividade antioxidante pela redução do ferro para o OEMS foi calculada a partir da equação da reta obtida pela curva padrão de sulfato ferroso ($R^2= 0,99$), onde foi possível quantificar a concentração de Fe^{2+} presente em solução. Realizou-se um estudo do tempo de reação para a redução do ferro pelo OEMS, realizando-se a leitura da absorbância das amostras nos tempos de 30, 45 e 60 min e concluiu-se o melhor tempo de reação de 45 min, sendo Z de $193,47 \pm 2,63$ de μM de sulfato ferroso/g de OEMS. O trolox apresentou maior poder antioxidante com Z de $3735,9 \pm 0,007$ μM , no tempo de reação de 10 min.

Determinação da atividade antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoleico

Os padrões trolox, BHA e o OEMS foram testados em diferentes concentrações, contudo, com exceção dos padrões do OEMS, que apresentou valor percentual positivo de inibição somente após a segunda concentração testada (1 mg/mL). Comparado aos padrões, a inibição do OEMS foi baixa, inibindo 26,1% da oxidação do β -caroteno em 120 min de reação, na concentração de 4 mg/mL (concentração testada mais eficaz).

Não há um método único que avalie satisfatoriamente a atividade antioxidante de um extrato ou OEMS, pois alguns critérios devem ser levados em consideração, como: técnica de extração, tipo de amostra, componentes químicos presentes, além de parâmetros metodológicos, como tempo, temperatura, tempo de oxidação, mecanismo de ação, presença de componentes interferentes, entre muitos outros (25-26).

De acordo com a literatura, são poucas as pesquisas que descrevem a capacidade antioxidante de espécies do gênero *Myrcia*. Mas, além da carência de pesquisas, alguns trabalhos têm apontado à deficiência de padronização dos testes antioxidantes *in vitro* realizados, o que dificulta a comparação ou análise dos resultados relatados por diferentes pesquisadores (27-28). No entanto, há estudos sobre a atividade antioxidante de outros gêneros da família Myrtaceae, a exemplo de: *Eucalyptus citriodora*, a qual apresentou no óleo essencial das folhas frescas, moderada a forte, atividade antioxidante (11), para o óleo essencial das folhas de *Psidium guajava* L. frente ao teste com DPPH e β -caroteno, observou-se uma moderada atividade antioxidante (29). E o óleo essencial de folhas de *Psidium guineense* Sw. apresentou alta atividade antioxidante quando comparado aos padrões (30). E com aproximadamente 89,0 – 89,5% de redução do padrão DPPH, o óleo essencial das folhas de três espécies de *Melaleuca* apresentaram forte atividade antioxidante (31).

Nos ensaios realizados com o OEMS foram encontrados resultados distintos entre as metodologias, com maior ou menor eficiência. No ensaio de captura do radical DPPH, por exemplo, o óleo essencial, mesmo apresentando a capacidade de agir como doador de átomos de hidrogênio ou elétrons para que ocorresse a redução do radical DPPH, não se mostrou tão eficaz quando comparado ao padrão trolox. Da mesma forma ocorreu no ensaio de captura do cátion radical ABTS.

No método FRAP, o OEMS apresentou capacidade antioxidante de redução do ferro, porém com redução de 5,2% equivalente ao padrão trolox. No sistema β -caroteno/ácido linoleico, o OEMS não foi capaz de inibir os radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico nas concentrações 0,5 e 1 mg/mL, no entanto, na concentração de 4 mg/mL o OEMS apresentou capacidade de inibir a oxidação do β -caroteno. Esses resultados podem ser decorrentes possivelmente pela composição das substâncias químicas presentes na *M. sylvatica*, em atuar como antioxidante. Em particular, alguns hidrocarbonetos monoterpenos, ou seja, terpinoleno, α -terpineno e γ -terpineno, mostram uma ação antioxidante protetora

significativa (32). No entanto, a atividade antioxidante de hidrocarbonetos sesquiterpênicos no geral é baixa, sendo os sesquiterpenos oxigenados mais ativos. Conforme estudos, o OEMS apresenta maior porcentagem de sesquiterpenos oxigenados (43,9%) e de hidrocarbonetos sesquiterpênicos (32,3%) em sua composição química (17).

Conclusão

Desta forma, para os ensaios realizados neste trabalho provavelmente os compostos sesquiterpenos oxigenados são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante do óleo essencial de *M. sylvatica*. Portanto, nos diferentes ensaios realizados com o OEMS observou-se que tanto a porcentagem de inibição, a IC₅₀ quanto o valor equivalente ao trolox do OEMS mostram capacidade antioxidante, porém, com valores baixos comparados aos padrões trolox e BHA.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES/Pró-Amazônia e FAPESPA pelo apoio financeiro.

Referências

1. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J Agric Food Chem.** 2005; 53(6): 1841-1856. ISSN: 0021-8561. [[CrossRef](#)].
2. Duarte-Almeida JM, Santos RJ, Genovese MI, Lajolo FM. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoleico e método de sequestro de radicais DPPH. **Ciênc Tecnol Aliment.** Campinas. 2006; 26(2): 446-452. ISSN: 0101-2061. [[CrossRef](#)].
3. Núñez-Sellés AJ. Antioxidant therapy: Myth or reality?. **J Braz Chem Soc.** São Paulo. 2005; 16(4): 699-710. ISSN: 1678-4790. [[CrossRef](#)].
4. Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. **Mutat Res.** 2002; 519(1-2):103-119. ISSN: 1383-5718. [[CrossRef](#)].
5. Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chem.** 2006; 97(4): 654-660. ISSN: 0308-8146. [[CrossRef](#)].
6. Wolfe K, Wu X, Liu RH. Antioxidant activity of apple peels. **J Agric Food Chem.** 2003; 51(3): 609-614. ISSN: 0021-8561. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
7. Singer AC, Crowley DE, Thompson IP. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. **Trends Biotech.** 2003; 21(3): 123-130. ISSN: 0167-7799. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)].

8. Lapornik B, Prošek M, Wondra AG. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. **J Food Eng.** 2005; 71(2): 214-22. ISSN: 0260-8774. [[CrossRef](#)].
9. Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S. Eucalyptus essential oil as a nature pesticide. **For Ecol Manag.** 2008; 256(12): 2166-2174. ISSN: 0378-1127. [[CrossRef](#)].
10. Vieira TR, Barbosa LCA, Maltha CRA, Paula VF, Nascimento EA. Constituintes químicos de *Malaleuca alternifolia* (Myrtaceae). **Quim Nova.** 2004; 27(4): 536-539. ISSN: 0100-4042. [[CrossRef](#)].
11. Singh HP, Kaur S, Negi K, Kumari S, Saini V, Batish DR, Kohli RK. Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. **Food Sci Technol.** 2012; 48(2): 237-241. ISSN: 0101-2061. [[CrossRef](#)].
12. Neri-Numa IA, Carvalho-Silva LB, Pinto MJ, Gomes ML, Muramoto MT, Ferreira JEM, Carvalho JE, Ruiz ALTG, Maróstica Junior MR, Pastore GM. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh - Myrtaceae) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Res Inter.** 2013; 50(1): 70-76. ISSN: 0963-9969. [[CrossRef](#)].
13. Okamura H, Mimura A, Niwano M, Yokahara Y. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. **Phytoch.** 1993; 33(3): 557-561. ISSN: 0031-9422. [[CrossRef](#)].
14. Villanueva-Tiburcio JE, Condezo-Hoyos LA, Asquiere ER. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh). **Ciência Tecnol Aliment.** 2010; 30(Supl.1): 151-160. ISSN: 0101-2061. [[CrossRef](#)].
15. Gardeli C, Vassiliki P, Athanasias M, Kibouris T, Komaitis M. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. **Food Chem.** 2008; 107(3): 1120-1130. ISSN: 0308-8146. [[CrossRef](#)].
16. Silva FKS, Rosário AS, Secco RS, Zoghbi MGB. Levantamento das espécies conhecidas como pedra-ume-caá (Myrtaceae), com ênfase nas comercializadas na cidade de Belém, Pará, Brasil. **Biota Amaz.** 2015; 5(1): 7-15. ISSN: 2179-5746. [[CrossRef](#)].
17. Silva LA, Sarrazin SLF, Oliveira RB, Suemitsu C, Maia JGS, Mourão RHV. Composition and antimicrobial activity of leaf essential oils of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. **Europ J Med Plants.** 2016; 13(3): 1-9. ISSN: 2231-0894. [[CrossRef](#)].
18. Saccol EMH, Londero EP, Bressan CA, Salbego J, Gressler LT, Silva LVF, Oliveira RB, Llesuy SF, Baldisserotto B, Pavanato MA. Oxidative and biochemical responses in *Brycon amazonicus* anesthetized and sedated with *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils. **Vet Anaesth Analg.** 2017; 44(3): 1467-2987. ISSN: 555-566. [[CrossRef](#)].
19. Saccol EMH, Jerez-Cepa I, Ourique GM, Pês TS, Gressler LT, Mourão RHV, Martínez-Rodríguez G, Mancera JM, Baldisserotto B, Pavanato MA, Martos-Sitcha JA. *Myrcia sylvatica* essential oil mitigates molecular, biochemical and physiological alterations in *Rhamdia quelen* under different stress events associated to transport. **Res Vet Sci.** 2018; 117: 150-160. ISSN: 0034-5288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

20. Kondo S, Tsuda K, Muto N, Ueda J. Antioxidant activity of apple skin or flesh extracts associated with fruit development no selected apple cultivars. **Sci Hortic.** 2002; 96(1-4): 177-185. ISSN: 0304-4238. [[CrossRef](#)].
21. Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG, Pérez-Jiménez J, Saura-Calixto FD. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. EMBRAPA. **Comunicado Técnico on-line** nº 127. Fortaleza. 2007. ISSN: 1679-6535. [[Link](#)].
22. Rufino MSM, Alves RE, Brito ES, Morais SM, Sampaio CG. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP). EMBRAPA. **Comunicado Técnico on-line** nº 125. Fortaleza. 2006. ISSN: 1679-6535. [[Link](#)].
23. Koleva II, van Beek TA, Linssen JPH, Groot A, Evstatieva LN. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochem Anal.** 2002; 13(1): 8-17. ISSN: 1099-1565. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
24. Rufino MSM, Alves RE, Brito, ES, Mancini FJ, Moreira AVB. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema β -caroteno/ácido linoléico. EMBRAPA. **Comunicado Técnico on-line** nº 126. Fortaleza. 2006. ISSN: 1679-6535. [[Link](#)].
25. Bertoldi MC. **Atividade antioxidante *in vitro* da fração fenólica, dos óleos resinas e do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi)**. 116 f. 2006. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos], Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2006. [[Link](#)].
26. Becker EM, Nissen LR, Skibsted LH. Antioxidant evaluation protocols: food quality or health effects. **Eur Food Res Technol.** 2004; 219(6): 561-571. ISSN: 1438-2377. [[CrossRef](#)].
27. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **J Agric Food Chem.** 2005; 53(10): 4290-4302. ISSN: 0021-8561. [[CrossRef](#)].
28. Frankel EN, Meyer AS. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **J Sci Food Agric.** 2000; 80(13): 1925-1941. [[CrossRef](#)].
29. Lee WC, Mahmud R, Pillai S, Perumal S, Ismail S. Antioxidant activities of essential oil of *Psidium guajava* L. leaves. **APCBEE Proc.** 2012; 2: 86-91. ISSN: 2212-6708. [[CrossRef](#)].
30. Nascimento KF, Moreira FMF, Santos JA, Kassuya CAL, Croda JHR, Cardoso CAL, Vieira MC, Ruiz ALTG, Foglio MA, Carvalho JE, Formagio ASN. Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **J Ethnopharmacol.** 2018; 210: 351-358. ISSN: 0378-8741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
31. Siddique S, Parveen Z, Bareen F, Mazhar S. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oils from leaves of three *Melaleuca* species of Parkistani flora. **Arab J Chem.** 2017. ISSN: 1878-5352. [[CrossRef](#)].

32. Ruberto G, Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. **Food Chem.** 2000; 69(2): 167-174. ISSN: 0308-8146. [[CrossRef](#)]

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Histórico do artigo: Submissão: 15/01/2018 | Aceite: 29/05/2018 | Publicação: 05/07/2018

Como citar este artigo: Silva LA, Raposo JDA, Campos LPG, Conceição EC, Oliveira RB, Mourão RHV. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β -caroteno/ácido linoleico). **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2018; 12(2): 117-126. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/598>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.
