

AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CITOTOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO

**DAIANE EINHARDT BLANK¹; GABRIELA HÖRNKE ALVES¹; TAIANE MOTA
CAMARGO¹; SILVIA DE OLIVEIRA HÜBNER²; ROGÉRIO ANTONIO
FREITAG¹; MARLETE BRUM CLEFF²**

¹CCQFA-Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – daiane_blank@yahoo.com.br

²FV-(UFPel)- emebrum@bol.com.br

1. INTRODUÇÃO

O orégano (*Origanum vulgare* L.) é um dos condimentos mais populares do mundo, muito utilizado na culinária, pois fornece um sabor característico, além disso, essa planta tem sido objeto de estudo, devido ao potencial biológico de seus componentes presentes no óleo essencial (LORENZI, 2002; SOUZA, 2005). O óleo essencial das plantas é constituído por misturas químicas complexas, em sua grande maioria composto por derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo que esses últimos preponderam (SIMÕES, 2002; CLEFF, 2008; ALVES, 2010).

Óleo essencial tem sido designado segundo a ISO (International Standard Organization) como sendo misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, normalmente odoríferas e líquidas, formados a partir do metabolismo secundário da planta, extraídos por alguns métodos específicos (SIMÕES, 2002). Pesquisas têm sido realizadas quanto a composição química dos óleos essenciais, no entanto, pouco tem sido apresentado na literatura com relação a citotoxicidade desses óleos essenciais (QUIROGA, 2011).

A verificação da citotoxicidade de substâncias é avaliada por uma gama de bioensaios que são considerados mais ou menos sensíveis, expressando assim, resultados satisfatórios para utilização como triagem em relação a toxicidade de extratos vegetais (SOTELO-FÉLIX, 2002; SILVA, 2003). Sendo assim, este trabalho teve por objetivo realizar a identificação das substâncias químicas por cromatografia gasosa (GC/FID) do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. e avaliar as concentrações não tóxicas do óleo essencial em células MDBK (Madin-Darby bovine kidney).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A determinação da umidade e a extração foram realizadas segundo metodologia descrita na, sendo realizadas em triplicata (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988). As folhas secas de orégano foram adquiridas comercialmente. A determinação da umidade foi realizada pesando-se 1 g das folhas em cápsula de alumínio, sendo esta colocada em estufa de circulação de ar (Marconi MA 035) a 105 °C por 5 horas. Na extração dos óleos essenciais de orégano foram utilizadas 100 g das folhas, sendo estes submetidos à extração com arraste de vapor em aparelho tipo Clevenger, durante 4 horas. Após a extração, o óleo obtido foi seco com sulfato de sódio anidro e mantido sob refrigeração até a sua identificação. O óleo essencial obtido, conforme descrito anteriormente foi submetido à análise cromatográfica em um equipamento CG/FID (Schimadzu, modelo 2010) equipado com uma coluna de sílica DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), nas seguintes condições cromatográficas: a temperatura

inicial foi de 40 °C, ocorrendo um aumento na temperatura na taxa de 10 °C min⁻¹ até atingir 80 °C, a partir desta temperatura a taxa foi de 2 °C min⁻¹ até atingir 90°C e finalmente 5 °C min⁻¹ até a temperatura de 280 °C, permanecendo nesta temperatura por 10 min; Td =300°C; Tinj = 300°C; Tcol = 40°C; Split = 1:50. Foram preparadas uma solução do óleo a 5000 mg L⁻¹ em hexano e uma solução de 40 mg L⁻¹ de um mix de padrões cromatográficos, dos quais foram injetadas 1 µL. Os constituintes foram identificados por comparação entre o tempo de retenção dos padrões e das amostras.

Para analisar a toxicidade as linhagens celulares MDBK (Madin-Darby bovine kidney) foram cultivadas em microplaca a 37 °C com 5% de CO₂ durante 24 horas. Meio essencial mínimo de Eagle (E-MEM) foi usado como controle negativo. Monocamadas das linhagens celulares foram tratadas com diferentes concentrações óleo essencial de orégano e, após 72 horas, a viabilidade foi mensurada através do ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio), sendo os resultados lidos em espectrofotômetro (540 nm).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através da determinação de umidade da amostra utilizada na extração, foi obtido como resultado 12,1% de umidade. O rendimento dos óleos da amostra de orégano foi 0,65% de massa seca. A concentração dos terpenos encontrados nas amostras de óleos essenciais de orégano foi calculada em relação à área normalizada dos picos, cujos tempos de retenção eram iguais aos tempos dos padrões. A Figura 1 os picos identificados em comparação com os padrões para a análise da composição química do óleo essencial estão numerados de acordo com a Tabela 1, na qual são demonstrados os picos com seus respectivos tempos de retenção.

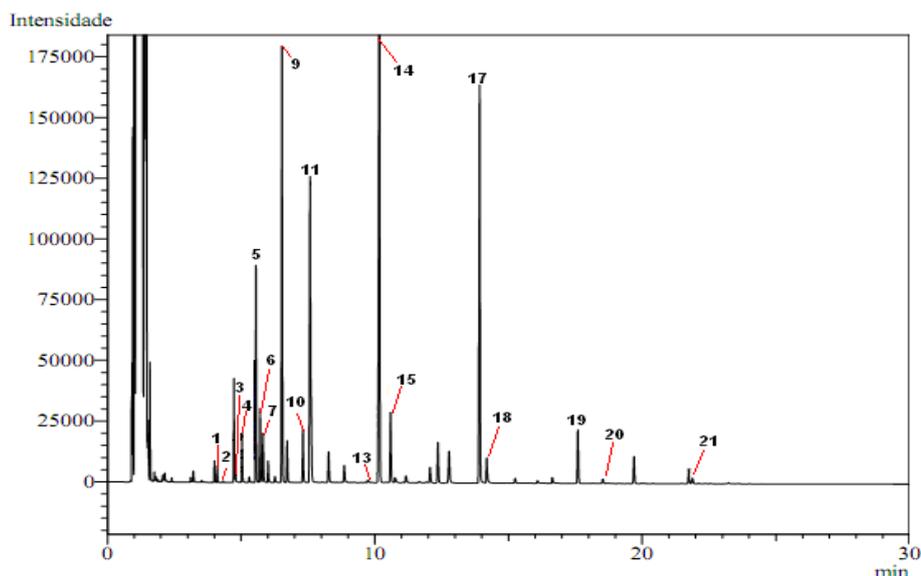


Figura 1. Cromatograma da amostra do óleo essencial de orégano obtidos via (GC/FID).

A Tabela 1 apresenta os padrões terpênicos e os seus respectivos tempos de retenção utilizados para a identificação dos compostos no óleo essencial de orégano.

Tabela 1. Relação dos padrões terpênicos submetidos à cromatografia gasosa (GC/FID)

	Composto	Tempo de Retenção
1	α -pineno	4.119
2	Canfeno	4.330
3	β -pineno	4.813
4	Mirceno	5.035
5	α -terpineno	5.573
6	p-cimeno	5.709
7	Limoneno	5.816
8	1,8-cineol	5.886
9	γ -terpineno	6.544
10	Terpinoleno	7.308
11	Linalol	7.623
12	Cânfora	9.022
13	Borneol	9.774
14	4-terpineol	10.140
15	α -terpineol	10.615
16	Acetato de bornyl	13.706
17	Timol	13.901
18	Carvacrol	14.177
19	Trans-cariofileno	17.627
20	α -humoleno	18.559
21	Óxido de cariofileno	21.909

De acordo com os resultados obtidos a partir dos cromatogramas do padrão em comparação e da amostra analisada pode-se constatar os compostos majoritários representados pelos picos 5, 9, 11, 14 e 17, que respectivamente correspondem ao α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol e timol.

Ao longo dos anos tem-se estudado que a composição química dos óleos essenciais é muito variável, pois é influenciada por uma série de fatores como, por exemplo, clima, variedade de espécie, região, estação do ano, solo, época de colheita e método de extração (GOBBO-NETO, 2006).

Em um estudo visando a obtenção do perfil cromatográfico de um óleo de orégano testado frente a fungos de interesse veterinário foi constatado que os constituintes majoritários da amostra foram o γ -terpineno, 4-terpineol e timol (CLEFF, 2008).

HUSSAIN, A. I., e colaboradores, realizaram um estudo recentemente com óleos essenciais da família Lamiaceae através de análises de cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa de *Origanum majorana* L. e *Origanum vulgare* L. tendo como resultados de componentes majoritários, respectivamente, 4-terpinenol, linalol, limoneno, α -terpineol, e para o segundo, timol, carvacrol, α -cimeno e α -terpineol.

Já na análise dos resultados da citotoxicidade do óleo essencial de orégano, observou-se que a partir da diluição 1/6000, o óleo essencial não apresentou efeito tóxico para as células MDBK.

De acordo com um estudo realizado por HUSSAIN, A. I. e colaboradores, pode-se verificar o efeito citotóxico de óleo essencial de *Origanum vulgare* e *Origanum manjerona*, utilizando o ensaio de MTT em diferentes células e constatou-se que o óleo essencial de *Origanum manjerona* foi mais citotóxico que *Origanum vulgare*.

Em outro estudo também utilizando método do MTT para verificação da viabilidade celular, observou-se que na concentração de 0,32 μ L/mL o óleo essencial de *Thymus*, espécie pertencente a família Lamiacea, foi citotóxica as células. Já nas concentrações de 0,16 e 0,08 μ L/mL, o óleo essencial não apresentou citotoxicidade (GONÇALVES, 2010).

4. CONCLUSÃO

Através deste trabalho pode-se concluir é de extrema importância não apenas a extração de óleo essencial de orégano para utilização em diversas atividades biológicas, porém a identificação dos constituintes químicos bem como a citotoxicidade são etapas muito relevantes visto que não existem muitos trabalhos fazendo essa relação. Portanto, conclui-se que composição química do óleo de orégano condiz com os resultados encontrados na literatura e existem relativamente poucos estudos avaliando citotoxicidade de alguns extratos e óleos essenciais, mas estes representam um ótimo meio de triagem de toxidez.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, M. M.; **Avaliação da influência sazonal na composição química do óleo essencial de duas espécies do gênero *Baccharis*: *B. articulata* e *B. trimera* via cromatografia gasosa mono e bidimensional.** 2010. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

Bussata, C.; Mossi, A. J.; Rodrigues, M. R. A.; Cansian, R. L.; Oliveira, J. V. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 610-616, 2007.

Cleff, M. B. **Avaliação da Atividade Antifúngica do Óleo Essencial de *Origanum vulgare* L. Frente a Fungos de Importância em Veterinária com Ênfase em *Candida SPP.*** 2008. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Farmacopéia Brasileira. 4 ed., São Paulo: Atheneu, 1988. Parte 1, v.4.

Gobbo-Neto, L.; Lopes, N.P. **Química Nova**, v.30, n.2, p.374-381, 2006.

Gonçalves, M.J., Cruz, M.T., Cavaleiro, C., Lopes, M.C., Salgueiro, L. **Industrial Crops and Products** v.32 , p.70–75, 2010.

Hussain, A. I., Anwar, F., Rasheed, S., Nigam, P. S., Janneh, O., Sarker, S. -D., **Brazilian Journal of Pharmacognosy** v.21, n.6, p.943-952, 2011.

Lorenzi, H.; Matos, F. J. A.; **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas;** São Paulo:, Instituto Plantarum:, 2002. 56-57p..

Silva, J.; Erdtmann, B.; Henriques, J.A.P.; **Genética Toxicologia.** Porto Alegre, Alcance, 2003. 422p..

Simões, C. M. O.; Spitzer, V. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**, 4 ed. Porto Alegre: UFRGS/ UFSC, 2002. 397- 423p..

Sotelo-Félix JI, Martinez-Fong D, Muriel P, Santillán RL, Castillo D, Yahuaca P. J **Ethnopharmacol.** V.81, n. 2, p.145-54, 2002.

Souza, E. L.; Stamford, T. L.M.; Lima, E. O.; Trajano, V. N.; Filho, J. M. B. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, p.40-45, 2005.

Quiroga, P.R.; Riveros, C.G.; Zygadlo, J.A. Grosso, N.R.; Nepote, V. **International Journal of Food Science and Technology** , v.46, p.2648–2655, 2011.