

# AVERIGUAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO ÁQUOSO DO ORÉGANO, *Origanum vulgare*

**João Paulo Silva NUNES (1); Lucas Pinheiro DIAS (2)**

(1) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí - IFPI, Praça da Liberdade nº 1597, Centro – Teresina - PI, 3215-5224, 3215-5206, e-mail: [jp.gen.ws@live.com](mailto:jp.gen.ws@live.com)

(2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, e-mail: [lpinheirodias@hotmail.com](mailto:lpinheirodias@hotmail.com)

## RESUMO

Radical livre é qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos. Isto os torna altamente reativos, capazes de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons. O consumo de antioxidantes naturais (compostos fenólicos presentes na maioria das plantas inibidoras de radicais livres) associa-se a uma menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, pois estes garantirão a principal linha de defesa do organismo contra a ação prejudicial dos radicais livres, por meio da inibição ou inativação destes. A presente pesquisa experimental propõe-se analisar a capacidade antioxidante do orégano (*Origanum vulgare*) utilizando como radical livre para captura o DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Fundamentados em Brand-Williams et al. (1995) o método DPPH baseia-se na redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 517 nm do radical DPPH por antioxidantes. O extrato de orégano foi testado nas concentrações de 25, 50, e 100 µg.mL<sup>-1</sup>. O resultado foi satisfatório, pois na menor concentração do teste (25 µg/mL) o radical livre DPPH alcançou o EC<sub>50</sub> nos 30 minutos de teste, garantindo-o então como uma alternativa de reagente antioxidante natural para manutenção de alimentos ou mesmo para prevenção de enfermidades substituindo, então, os antioxidantes sintéticos.

**Palavras-chave:** DPPH, radical livre, oxidação, antioxidante natural.

## 1 INTRODUÇÃO

Responsáveis, em parte, pela degradação do ácido desoxirribonucleico, por danos nas células e tecidos com a etiologia de várias doenças, incluindo as degenerativas (cânceres e aterosclerose) os radicais livres são moléculas orgânicas ou inorgânicas, ou mesmo átomos que contém um ou mais elétrons não pareados (DIAS, 2009). Essa configuração torna-os altamente instáveis, quimicamente muito reativos e com meia vida brevíssima (HALLIWELL, 1995).

Considera-se o consumo de alimentos com características antioxidantes, pois estes garantirão a principal linha de defesa do organismo contra a ação prejudicial dos radicais livres, por meio da inibição ou inativação destes (BIANCHI & ANTUNES, 1999).

Por tal característica, o presente trabalho objetiva-se em analisar a capacidade antioxidante do orégano (*Origanum vulgare*) utilizando como radical livre, para neutralização, o DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A denominação orégano engloba várias espécies. A mais comum está presente no gênero *Origanum*, nativa da Europa. Entre as várias espécies de *Origanum*, os mais importantes componentes são o limoneno,  $\beta$ -cariofileno,  $p$ -cimeneno, canfeno, linalol,  $\alpha$ -pineno, carvacrol e timol (compostos fenólicos). Sendo que sua composição química varia dependendo da espécie, clima, altitude, tempo de colheita e estágio de crescimento. Vários estudos estão focando as capacidades químicas do extrato desse gênero devido ao alto interesse na substituição dos aditivos sintéticos na conservação de alimentos (LOZANO, et al. 2004).

A definição de antioxidante pode ser expressa como substâncias capazes na retardação ou inibição da oxidação de substratos oxidáveis, podendo ser, ou não, enzimático tais como:  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno, ascorbato (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides) (HALIWELL, 2001; SOUSA et al., 2007).

Droge (2002) destacou que o consumo de antioxidantes naturais (compostos fenólicos presentes na maioria das plantas inibidoras de radicais livres) associou-se a uma menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo. O estresse oxidativo ocorre como um desequilíbrio entre o balanço pró-oxidante/antioxidante, em favor da situação pró-oxidante, promovendo um dano potencial. O dano oxidativo que as biomoléculas sofrem está relacionado com as patologias de um grande número de doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas (WISEMAN et al., 2001; LIAO et al., 2001).

Almeida-Doria (2000) cita que muitas especiarias foram estudadas e foi observado que o alecrim, orégano e sálvia, da família *Labiatae*, possuía forte atividade antioxidante (BRACCO, 1981; CHANG, 1977). Vários compostos fenólicos antioxidantes têm sido isolados do orégano (glicosídeos, ácidos fenólicos e derivados terpênicos) (KIKUZANI, 1989). Antioxidantes fenólicos doam hidrogênio para os radicais livres, produzindo radicais estáveis de pouca energia. São capazes de proteger as células contra o dano oxidativo, o qual provoca envelhecimento e enfermidades crônico-degenerativas, tais quais os cânceres, doenças cardiovasculares e diabetes (LOZANO, 2004).

Radical livre é qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos. Isto os torna altamente reativos, capazes de reagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de elétrons. As principais fontes de radicais livres são as organelas citoplasmáticas que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro, gerando grande quantidade de metabólitos, além disso, estes também podem ser formados em processos inflamatórios, por exposição a radiação gama e ultravioleta e pelo uso de drogas como medicamentos e cigarro (VANNUCCHI et al, 1998).

DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é uma das moléculas frequentemente mais usadas para medir atividade antioxidante em espectroscopia óptica como também em EPR (Ressonância Paramagnética

Eletrônica). Outra vantagem está no custo e acessibilidade do DPPH em relação a outros radicais no mercado (SANTOS, 2009).

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Aquisição do material vegetal e infusão do extrato

Foram adquiridos 120g de folhas do *Origanum vulgare* já secas de forma comercial em uma rede de supermercados na região central da cidade de Teresina-PI. A preparação do extrato aquoso realizou-se no Laboratório de Biologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – IFPI. As folhas foram maceradas com o auxílio de um almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino que foi totalmente imerso em 300 ml água destilada e agitadas por meio de um agitador magnético por 20 minutos. Após a agitação, toda a mistura foi centrifugada por 01 minuto a 2.000 rpm e filtrada para a completa remoção de qualquer resíduo sólido do meio. Em seguida, foi armazenada em um recipiente de vidro escuro e guardada ao abrigo da luz.

#### 3.2 Avaliação da capacidade antioxidante – Método DPPH

Com fundamentação em Brand-Willams et al. (1995) o método DPPH baseia-se na redução da absorbância na região visível de comprimento de onda de 517 nm do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) por antioxidantes. O extrato de orégano foi testado nas concentrações de 25, 50 e 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Uma quantidade de 1,5 mL de DPPH foi adicionada a 0,5 mL de cada concentração do extrato. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro OLEMAN 33D a 517nm, transcorridos 05 e 30 minutos do início da reação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante). A queda na leitura da densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle e estabelecida à percentagem de descoloração do radical DPPH. Usou-se como controle positivo, os reagentes com capacidade antioxidante padrão o ácido gálico (3,4,5-triidroxibenzóico) e a rutina.

### 4 ANÁLISE E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Devido à presença dos componentes químicos flavonóides e ácidos fenólicos, o extrato aquoso de orégano mostrou-se um potente antioxidante reduzindo fortemente o radical DPPH em concentrações extremamente baixas em poucos minutos. Na tabela 01 podemos observar que a menor taxa de redução do radical DPPH foi de 33,86% aos 05 minutos a concentração de 25  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  (dose de 18,32  $\mu\text{L}$  para 25 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada). Aos 30 minutos e na menor concentração testada, a redução chega ao  $\text{EC}_{50}$ , denominação representativa da quantidade de concentração do extrato necessária para reduzir em 50% o radical.

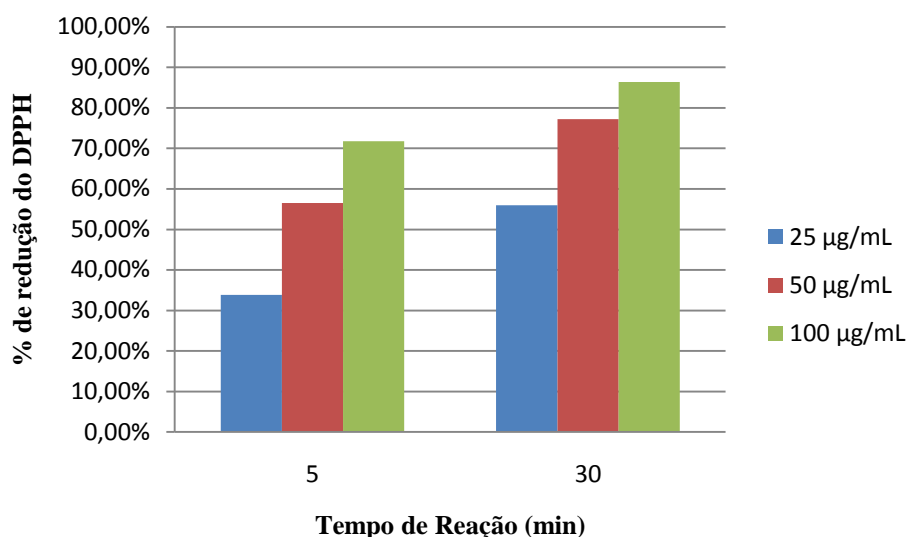
De acordo com Sies & Stahl (1995) a caracterização de um bom antioxidante está na sua capacidade de ter uma ótima atuação sobre os radicais livres mesmo que em baixas concentrações.

**Tabela 01: % de redução do radical em função do tempo e da concentração do extrato**

| Tempo<br>(min) | Concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ ) |        |        |        |
|----------------|------------------------------------|--------|--------|--------|
|                | 25                                 | 50     | 100    | Branco |
| 5              | 33,86%                             | 56,50% | 71,77% | -      |
| 30             | 55,97%                             | 77,21% | 86,35% | 2,71%  |

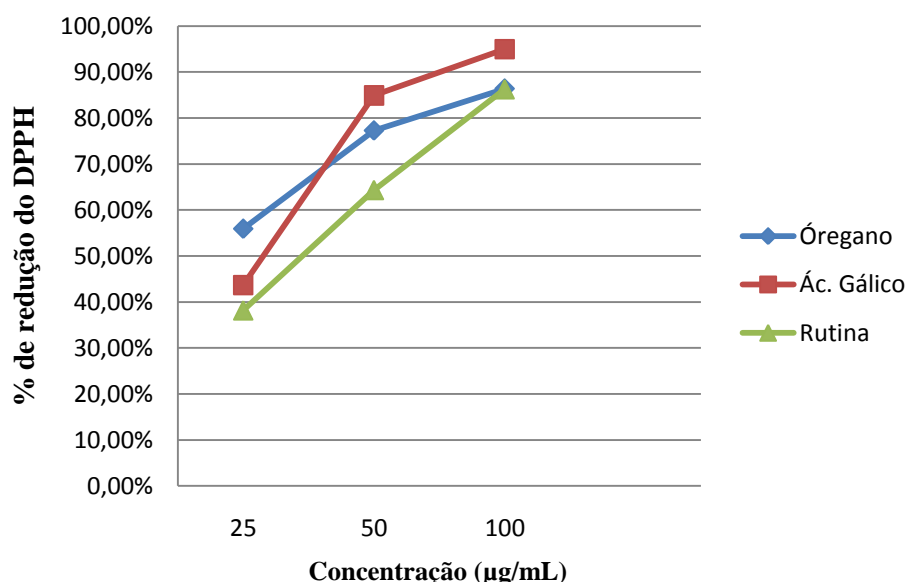
No gráfico 01, temos a representação da elevação na redução do radical livre DPPH em função do tempo. Pode-se observar uma redução de quase 90% do radical na maior concentração do teste (80 µg/mL) ao final dos 30 minutos.

**Gráfico 01: representação esquemática da atuação do extrato de orégano sobre o radical DPPH**



Almeida e Regitano (2000) verificaram que uma mistura entre o extrato etanólico de orégano e alecrim tem eficiência equivalente a uma mistura de dois potentes antioxidantes sintéticos: BHT (hidroxitolueno butil) e BHA (hidroxianisol butil). Entretanto, adicionando os antioxidantes naturais à composição do sintético TBHQ (butilhidroquinone terciário) o resultado não será uma melhor atividade antioxidante.

**Gráfico 02: esquematização comparativa da atividade antioxidante de diferentes agentes**



Como observado no gráfico 02, a ação antioxidante do orégano mostrou-se bem considerável comparados aos reagentes, cuja atuação na redução do DPPH é conhecida e reconhecida na literatura como agentes eficazes na alta promoção da atividade antioxidante.

Morais et al. (2009) reforça que o bom desempenho de alguns extratos vegetais na atividade antioxidante, como o orégano, é proveniente de flavonóides, catequinas e outros compostos fenólicos já relatados na literatura como capazes de inibir os radicais livres presentes no organismo.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Constatou-se que o extrato aquoso de *Origanum vulgare* apresentou-se como um potente agente antioxidante, descolorindo quase que totalmente o radical livre DPPH, garantindo, então, uma possível fonte natural que venha a ser somada à composição de fármacos antioxidantes, certificando a conservação de alimentos, ou mesmo, como na medicina caseira, a busca nos alimentos naturais como fonte de prevenção de doenças ocasionadas pela degradação do organismo pela ação dos radicais livres do meio.

## 6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA-DORIA, R. F.; REGITANO-D'ARCE, Marisa A. B. **Antioxidant activity of rosemary and oregano ethanol extracts in soybean oil under thermal oxidation.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, v.20, n.2, Aug., 2000.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. **Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta.** Rev. Nutr., Campinas, v.12, n.2, p.123-130, maio/ago., 1999.
- BRACCO, V.; LÖLIGER, J.; VIRET, J.L. **Production and use of natural antioxidants.** Journal of the American Oil Chemists' Society, v. 58, n. 6, p. 686-690, 1981.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.** Lebensm-Wiss Technol, v.22, p.25-30. 1995.
- CHANG, S.S.; OSTRIC-MATIJASEVIC, B.; HSIEH, O.A.L.; HUANG, C. **Natural antioxidants from rosemary and sage.** Journal of Food Science, v. 42, n. 4, p. 1102-1106, 1977.
- DIAS, L.P et al. **Determinação da Atividade Antioxidante do Extrato Metanólico da Alfavaca (*Ocimum grantissimum* L.).** IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica – CONNEPI. Belém – PA, 2009.
- DROGE W. **Free radicals in the physiological control of cell function.** *Physiol Rev* 82: 47-95, 2002.
- HALLIWELL, B., et al. **The characterization on antioxidants.** Food and Chemical Toxicology, Oxford, v.33, n.7, p.601-617, 1995.
- HALLIWELL, B 2001. Free radicals and other reactive species in disease. In: *Encyclopedia of Life sciences*. Nature Publishing Group, p. 1-7
- KIKUZANI, H.; NAKATANI, N. **Structure of a new antioxidative phenolic acid from oregano (*Origanum vulgare* L.).** Agricultural and Biological Chemistry, v. 53, n. 2, p. 519-524, 1989.
- LIAO S. et al. **Green tea: biochemical and biological basis for health benefits.** Vitam Horm 62: 1-94.
- LOZANO, C. C., et al. **El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes.** ALAN. [online], vol.54, no.1, p.100-111, 2004.

MORAIS, Selene M. de et al . **Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil.** Rev. bras. fármacos, João Pessoa, v. 19, n. 1b, Mar. 2009.

SANTOS, A. B. et al . **Antioxidant properties of plant extracts: an EPR and DFT comparative study of the reaction with DPPH, TEMPOL and spin trap DMPO.** J. Braz. Chem. Soc., São Paulo, v. 20, n. 8, 2009.

SIES, H.; STAHL, W. **Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene, and other carotenoids as antioxidants.** American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda, v.62, n.6, p.1315-1321, 1995.

SOUSA C.M et al. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais.** *QuimNova*30: 351-355.

VANNUCCHI, H., et al. **Papel dos nutrientes na peroxidação lipídica e no sistema de defesa antioxidante.** Rev. Medicina, Ribeirão Preto, v.31, p.31-34, 1998.

WISEMAN S., WATERHOUSE A., KORVER O. 2001. **The health effects of tea and tea components: Opportunities for standardizing research methods.** Crit Rev Food Sci Nutr 41: 387-412.