



Efecto de extractos de oregano (*Origanum vulgare* L.) ante la oxidación en aceite vegetal comestible

Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts before oxidation in edible vegetable oil

D.R. Belén-Camacho*¹, I. López¹, C. Sojo¹, O. Linares², C. Medina-Martínez¹,
D. García-Pantaleón¹ y M.J. Moreno-Álvarez¹

¹Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, Núcleo
Canoabo-Venezuela, Ingeniería de Alimentos: Laboratorio de
Biomoléculas. ²Empresa COPOSA, Acarigua-Venezuela.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue evaluar la acción ante la oxidación lipídica de extractos orgánicos de orégano (*Origanum vulgare* L.). Se utilizaron dos muestras de hojas de orégano: hojas frescas y hojas desecadas al sol. Ambas fueron molidas y extraídas con 100 mL de propilenglicol (PG), empleando dos proporciones de hojas: E1 (3 g de hojas frescas) y E2 (0,35 g de hojas desecadas). Los extractos fueron adicionados a aceite de soya desodorizado en proporciones de: 0,5%; 1,0% y 1,5%. El extracto E2 (concentración total de fenoles 0,124 mg equivalentes de ácido tánico) mostró acción antioxidante ($P < 0,05$). El orégano es una alternativa para producción de antioxidantes naturales.

Palabras clave: antioxidantes naturales, aceite de soya, oxidación lipídica.

Abstract

The aim of this research was to evaluate the effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) organic extracts before lipid oxidation. Two samples of oregano leaves were used: fresh and solar dried leaves. Both were ground and extracted with 100 mL of propylene glycol (PG), using two proportions of leaves: E1 (3 g of fresh leaves) and E2 (0.35 g of dried leaves). The extracts were added to deodorized soybean oil in the following proportions: 0.5%, 1.0% and 1.5%. E2 extracts (total phenolic contents 0.124 mg of tannic acid equivalent) showed antioxidant activity ($P < 0.05$). Oregano is an alternative for natural antioxidants production.

Key words: natural antioxidants, soybean oil, lipid oxidation.

Recibido el 30-6-2010 ● Aceptado el 5-9-2011

*Autor de correspondencia e-mail: douglas.belen@gmail.com,
biomoleculasdrbc@hotmail.com.

Introducción

La oxidación lipídica es uno de los problemas de mayor preocupación en el área de alimentos debido a los efectos adversos que ocasiona en la calidad de los productos y en la salud humana. La adición de antioxidantes sintéticos es una de las formas más empleadas para la prevención de la oxidación de los componentes grasos. Sin embargo, se ha cuestionado el uso de estas sustancias debido a que su ingesta se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades cancerígenas, situación que ha aumentado el interés por fuentes naturales con capacidad antioxidante (Yanishlieva *et al.*, 2006).

El orégano (*Origanum vulgare* L.) es un ejemplo de estos recursos. Tanto las hojas de orégano como los extractos obtenidos de éstas, han inhibido la oxidación lipídica en sistemas alimentarios, atribuyéndose la acción a la presencia de varios compuestos fenólicos entre los que destacan: ácido rosmarínico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido protocatechuico, derivados de estos ácidos, flavonoides, carvacrol y timol; adicionalmente, se han identificado algunos tocoferoles. Para la extracción de estos compuestos, se ha utilizado como disolvente metanol y otras sustancias que suelen ser tóxicas, lo que limita la aplicación de estos extractos en alimentos (Yanishlieva *et al.*, 2006). Esta desventaja obliga a la búsqueda de solventes de aceptación en alimentos. El propilenglicol puede servir de vehículo y de agente extractor alternativo para antioxidantes de naturaleza fenólica.

Introduction

Lipid oxidation is one of problems of higher concern in feeding area because the adverse effect that cause in products quality and on human health. The addition of synthetic antioxidants is one of more used ways to prevent oxidation of fatty components. However, the use of these substances has been questioned because its consumption have been related to development of carcinogen diseases, which has increased the interest for natural sources with antioxidant capacity (Yanishlieva *et al.*, 2006).

The oregano (*Origanum vulgare* L.) is an example of these resources. Both oregano leaves and extracts obtained from them, have inhibit the lipid oxidation in food systems, being the action attributed to the presence of several phenolic compounds like: rosmarinic acid, galic acid, caffeic acid, protocatechuic acid, derivates from these acids, flavonoids, carvacrol and thymol; additionally, some tocopherols have been identified. For the extraction of these compounds, methanol have been used like solvent just like other substances usually toxic, which limit the application of these extracts in foods (Yanishlieva *et al.*, 2006). This disadvantage forces to looking the acceptance of solvents in foods. The propylene glycol can function as vehicle and like alternative extractor agent for antioxidants of phenolic nature.

The purpose of this research was to evaluate the behavior of oregano leaves extracts obtained with propylene glycol, like possible

El objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de extractos de hojas de orégano obtenidos con propilenglicol, como posibles agentes antioxidantes en aceite desodorizado de soya.

Materiales y métodos

Muestra de orégano

Se recolectaron aleatoriamente dos muestras de 1 kg de hojas de orégano, cada una, cultivado en la Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, municipio Canoabo, estado Carabobo, República Bolivariana de Venezuela.

Aceite vegetal

Se empleó aceite de soya recién desodorizado donado por la Empresa COPOSA (Acarigua, estado Portuguesa).

Procesamiento de las hojas de orégano

Una de las muestras de hojas se mantuvo fresca y la otra fue secada en un prototipo de secador solar artesanal. Se les determinó el contenido de humedad (AOAC, 1990). Las hojas fueron molidas en un procesador de alimentos doméstico marca Oster.

Extracción con propilenglicol

Con base en ensayos previos, se procedió a obtener dos extractos de orégano, definidos por la relación hoja/propilenglicol:

- E1: 3 g de hojas frescas/100 mL de propilenglicol.

- E2: 0,35 g de hojas desecadas/100 mL de propilenglicol.

El orégano fue colocado en el propilenglicol, se mantuvo en reposo durante 21 días, tapado el recipiente a temperatura ambiente ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

antioxidants agents in soybean deodorized oil.

Materials and methods

Orégano samples

Two samples of 1 kg of oregano leaves were collected, each of them cultivated in the Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, Canoabo municipality, Carabobo state, República Bolivariana de Venezuela.

Vegetal oil

Soybean recently deodorized supplied by the COPOSA Enterprise (Acarigua, Portuguesa state) was used.

Oregano leaves processing

One of leaves samples was kept fresh and the other one was dried in a prototype of handmade solar drier. The humidity content was determined (AOAC, 1990). Leaves were grounded in a processor of domestic food, mark Oster.

Extraction with propylene glycol

Based on previous studies, two oregano extracts were obtained, defined by the relationship leaf/propylene glycol:

- E1: 3 g of fresh leaves/100 mL of propylene glycol.

- E2: 0.35 g of desiccate leaves/100 mL of propylene glycol.

The oregano was placed on propylene glycol; it was kept into rest during 21 days, closed to the recipient to environmental temperature ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Then, it was filtered through filter paper, filtrates (extracts) were kept into amber glass flasks provided with screw top and stored into

Luego, se filtró a través de papel de filtro, guardándose los filtrados (extractos) en frascos de vidrio ámbar provistos de tapas con rosca y almacenados en refrigeración ($10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Cada extracción se realizó por triplicado.

Contenido total de compuestos fenólicos y de clorofilas en los extractos obtenidos

Se determinó el contenido total de fenólicos (Arroyo *et al.*, 2007) y las concentraciones de clorofila A y clorofila B (Casas-Forero *et al.*, 2007).

Medición de la estabilidad oxidativa

A muestras del aceite de soya desodorizado se les adicionó extractos de orégano en propilenglicol en cantidades en las siguientes proporciones: 0,5%; 1,0% y 1,5% (m/m). Una muestra de aceite no fue adicionada de antioxidante ni de extractos. A cada muestra de aceite se le determinó la estabilidad a la oxidación, expresada en horas, en un equipo Rancimat marca Metrohm modelo 743, operado a 120°C y flujo de aire $20 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$.

Análisis estadístico

Se aplicó un diseño de bloques al azar, análisis de varianza y prueba de Tukey ($P < 0,05$), utilizando el programa SAS versión 2,0.

Resultados y discusión

Humedad de las hojas de orégano

Las hojas frescas de orégano presentaron un contenido de humedad de $89,52\% (\pm 0,83\%)$, mientras que en las hojas sometidas a secado este valor fue $8,45\% (\pm 0,16\%)$.

refrigeration ($10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). Each extraction was done by triplicate.

Total content of phenolic compounds and of chlorophyll in extracts obtained

Total phenolic content was determined (Arroyo *et al.*, 2007) and concentrations of chlorophyll A and chlorophyll B (Casas-Forero *et al.*, 2007).

Measurement of oxidative stability

Oregano extract were added to the samples of deodorized soybean oil on propylene glycol into quantities in the following proportions: 0.5%; 1.0% and 1.5% (m/m). One oil sample was not added to antioxidant or extracts. To each of oil sample the stability to the oxidation was determined, expressed in hours, on an equipment Rancimat mark Metrohm model 743, operated to 120°C and air flux of $20 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$.

Statistical analysis

A design of at random blocks was applied, analysis of variance and Tukey test ($P < 0.05$), by using the program SAS version 2.0.

Results and discussion

Humidity in orégano leaves

Oregano fresh leaves showed an humidity content of $89.52\% (\pm 0.83\%)$, while in leaves subdue to dry this value was $8.45\% (\pm 0.16\%)$.

Total contents of phenolic compounds in the extracts

Phenols total contents of extracts obtained (table 1), showed significant differences ($P < 0.05$). The extract 1 (fresh leaves), showed the higher concentration of these

Contenidos totales de compuestos fenólicos en los extractos

Los contenidos totales de fenoles de los extractos obtenidos (cuadro 1), presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$). El extracto 1 (hojas frescas), mostró la mayor concentración de estos compuestos ($0,301 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de extracto, referidos a ácido tánico). Estos resultados evidencian que el propilenglicol puede emplearse como solvente para la extracción de componentes fenólicos de las hojas de orégano. Por otra parte, este solvente mostró ser más eficiente con hojas frescas, lo cual puede ser un efecto del alto contenido de humedad en las hojas que favoreció la migración de componentes de naturaleza química afín con el agua hacia la fase propilenglicol, originando una mayor proporción de fenoles en el producto final. Un comportamiento similar fue señalado por Arroyo *et al.* (2007), en la extracción de hojas de orégano mexicano con etanol. La disminución en las proporciones de fenoles en los extractos de orégano seco puede ser un efecto del secado aplicado.

Efecto de los extractos en el aceite de soya

La incorporación de los extractos en el aceite de soya exhibió com-

puestos ($0.301 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ of extract, referred to tannic acid). These results show that propylene glycol can be used as a solvent for the extraction of phenolic compounds on oregano leaves. On the other hand, this solvent showed to be more efficient with fresh leaves, which can be an effect of the high humidity content in leaves that favored the migration of chemical nature compounds similar to water toward phase propylene glycol, originating a higher proportion of phenols in final product. A similar behavior was observed by Arroyo *et al.* (2007), in extraction of Mexican oregano leaves with ethanol. Diminish of phenol proportions in dry oregano extracts can be an effect of applied dried.

Effect of extracts in soybean oil

The incorporation of extracts into soybean oil showed antioxidants and pro-oxidant behaviors (figure 1). Extract E1 served as pro-oxidant in all the concentrations evaluated, since showed stability values lower than oil value without antioxidant (control). Extract E2 act like antioxidant to concentrations 0.5% and 1.00%, with stability of 3.30 h and 3.51 h. The

Cuadro 1. Fenoles totales en los extractos de orégano (*Oreganum vulgare* L.).

Table 1. Total phenols in oregano (*Oreganum vulgare* L.) extract.

Extracto	Fenoles totales ($\text{mg EAT}\cdot\text{mL}^{-1}$ de extracto)*
1	$0,301 \pm 0,015^a$
2	$0,124 \pm 0,006^b$

*Valores promedio ($n = 3$) \pm desviación estándar. EAT: equivalente a ácido tánico. Letras diferentes en los superíndices indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

portamientos antioxidantes y pro-oxidantes (figura 1). El extracto E1 actuó como pro-oxidante en todas las concentraciones evaluadas, ya que aportó valores de estabilidad menores que el valor del aceite sin antioxidante (control). El extracto E2 actuó como antioxidante a las concentraciones 0,5% y 1,00%, con estabilidad de 3,30 h y 3,51 h. Los aumentos en la estabilidad del aceite de soya por la acción de los extractos de orégano en propilenglicol fueron significativos ($P < 0,05$). Igual situación observaron Arroyo *et al.* (2007) con extractos de la especie conocida como orégano mexicano.

La oxidación lipídica está influenciada por la presencia de especies de oxígeno reactivas capaces de iniciar dicha reacción. Entre estas especies reactivas se encuentran radicales peróxidos e hidroperóxidos, así como especies no radicales como el oxígeno triplete y singlete; esta última especie pudo ser un factor influyente en la acción pro-oxidante del extracto E1. Esta forma de oxígeno no radical es formada por la excitación del oxígeno triplete, que es la forma de oxígeno más común en alimentos, en presencia de un sensibilizador y la luz; entre los sensibilizadores capaces de favorecer esta conversión se encuentran las clorofilas (Choe y Min, 2005). El extracto E1 fue el que presentó la mayor concentración de clorofilas A y B (cuadro 2) y, por lo tanto, se debe considerar su acción favorable para el desarrollo de la oxidación del aceite de soya analizado. La concentración de clorofila, tanto A como B, fue significativamente diferente ($P < 0,05$) en comparación con la

increases on soybean oil stability by the oregano extract action in propylene glycol were significant ($P < 0.05$). Arroyo *et al.* (2007) reported same situation with extracts of specie known like Mexican oregano.

Lipid oxidation is influenced by the presence of reactive oxygen species capable of beginning this reaction. Among these reactive species there are peroxide and hydroperoxide radicals, just like no radical species as treble and singlet oxygen; this specie could be an influent factor in the pro-oxidant action of extract E1. This form of no radical oxygen is formed by the excitation of treble oxygen, that is the more common oxygen form in foods, in presence of a sensitizer and light; between the sensitizers capable of favoring this conversion are the chlorophyll (Choe and Min, 2005). Extract E1 showed the higher concentration of chlorophyll A and B (table 2) and therefore, its favorable action has to be considered for soybean oil development analyzed. The concentration of chlorophyll, both A and B, was significantly different ($P < 0.05$) in comparison to the extract E2. The lower chlorophyll concentration in desiccate oregano extracts is related to deteriorative changes experiment these compounds as a consequence of thermal treatment applied during drying.

Conclusions

The propylene glycol is an appropriate solvent for the extraction of phenolic compounds present in oregano that function as a vehicle for

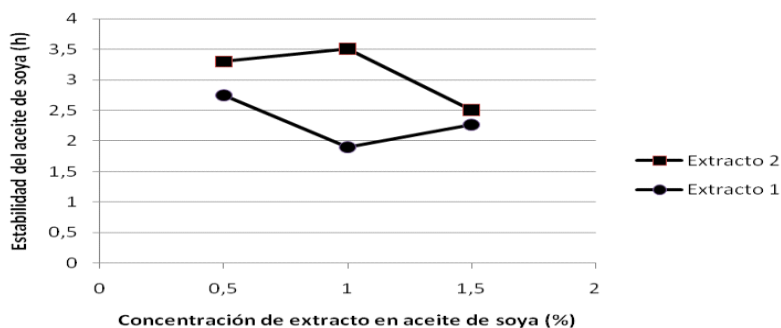


Figura 1. Estabilidad oxidativa del aceite de soja adicionado de extractos de orégano en propilenglicol.

Figure 1. Oxidative stability of soybean oil additioned of oregano extract with propylene glycol.

Cuadro 2. Clorofilas A y B en los extractos de orégano*.

Table 2. Chlorophyll A and B in oregano extract*.

Extracto	Clorofila A (mg.mL ⁻¹)	Clorofila B (mg.mL ⁻¹)
1	10,29±0,52 ^a	4,27±0,23 ^a
2	1,92±0,12 ^b	0,34±0,03 ^b

*Valores promedios (n = 3) ± desviación estándar. Letras diferentes en los superíndices de una misma columna indican diferencias significativas (P<0,05).

del extracto E2. La menor concentración de clorofilas en los extractos de orégano desecado está asociada a los cambios deteriorativos que experimentan estos compuestos como consecuencia del tratamiento térmico aplicado durante el secado.

Conclusiones

El propilenglicol es un solvente apropiado para la extracción de compuestos de naturaleza fenólica presentes en el orégano, sirviendo de vehí-

the addition of these substances in lipid systems, where they act like antioxidants. To obtain extracts from oregano with antioxidant activity have to be used desiccate leaves, if its concentration in oil not be higher than 1.0%.

End of english version

culo para la adición de estas sustancias en sistemas lipídicos, donde actúan como antioxidantes. Para la obtención de extractos de orégano con

actividad antioxidante se debe utilizar hojas desecadas, siempre que su concentración en el aceite no sea mayor de 1,0%.

Literatura citada

AOAC. 1990. Oficial Methods of Análisis. 15 th ed. Association of Oficial Analytical Chemists, Washington DC.

Arroyo, I.J., H. Y. Hernández y M. T. Cruz. 2007. Determinación de la relación entre el contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante en extractos de orégano mexicano (*Limpia* spp.) seco y fresco. Alimentos Ciencia e Ingeniería. 16(2):179-180.

Casas-Forero, N., I. Sotelo-Díaz y G. Caez-Ramírez. 2007. Efecto del tratamiento térmico sobre la degradación de la clorofila y la pérdida de color en una mezcla de vegetales. Alimentos Ciencia e Ingeniería. 16(3):2 11-213.

Choe, E. and D. B. Min. 2005. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. Journal of Food Science. 70(9):R142-R159.

Yanishlieva, N.V., E. Marinova and J. Pokorny. 2006. Natural antioxidants from herbs and spices. European Journal of Lipid Science and Technology. 108(9):776-793.