

## O USO DE COMPOSTOS ANTIOXIDANTES NATURAIS E SEU EFEITO GENOTÓXICO/CITOTÓXICO

**PERES, PRISCILA RODRIGUES<sup>1</sup>; MUNHOS, ALISON ACOSTA<sup>2</sup>; UGOSKI, LUISA REINHARDT<sup>3</sup>; FREITAG, ROGÉRIO ANTONIO<sup>4</sup>; BOBROWSKI, VERA LUCIA<sup>5</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, CCQFA- [pri\\_peres27@hotmail.com](mailto:pri_peres27@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, IB- [alisonmunhos@gmail.com](mailto:alisonmunhos@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas, Biotec- [luisaugoski@gmail.com](mailto:luisaugoski@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas, CCQFA- [rafreitag@gmail.com](mailto:rafreitag@gmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas, IB, DEZG, - [vera.bobrowski@gmail.com](mailto:vera.bobrowski@gmail.com)

### 1 INTRODUÇÃO

A contaminação por patógenos em alimentos é um problema de Saúde Pública que corrobora com o desencadeamento de doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Assim, o uso de conservantes sintéticos visa inibir ou retardar o processo de oxidação e decomposição dos produtos. Porém, tais substâncias podem causar efeitos negativos à saúde. Em virtude disso, crescem alternativas para reduzir o uso de aditivos químicos por compostos naturais com potencial antioxidante. Diversos estudos têm demonstrado que o consumo dessas substâncias tem ação protetora contra processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo. A preparação e o uso apropriado desses compostos trazem muitos benefícios, porém, seus efeitos genotóxicos e mutagênicos necessitam de maiores investigações (NUNES; ARAUJO, 2003). De acordo com (RAJALAKSHIMI et al., 1996) os grupos mais importantes são os tocoferóis, flavonóides e ácidos fenólicos.

*Origanum vulgare*. L, orégano, é rico em compostos fenólicos, muito utilizado como condimento e seu sabor e odor são muito apreciados em todo o mundo, além de possuir propriedades antimicrobianas e antioxidantes (YANISHLIEVA-MASLAROVA, 2001). De acordo com (DUARTE, 2006) extratos e óleos essenciais de plantas mostraram-se eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Neste sentido, fez-se a avaliação do efeito citotóxico do extrato etanólico e aquoso de orégano nas concentrações de 0, 1 mg/mL e 5 mg/mL, com o objetivo de verificar alterações cromossômicas e no ciclo utilizando *Lactuca sativa* (alface) como bioindicador.

### 2 METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Genética do Departamento de Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas – RS.

Para montagem dos bioensaios foram utilizadas sementes de alface

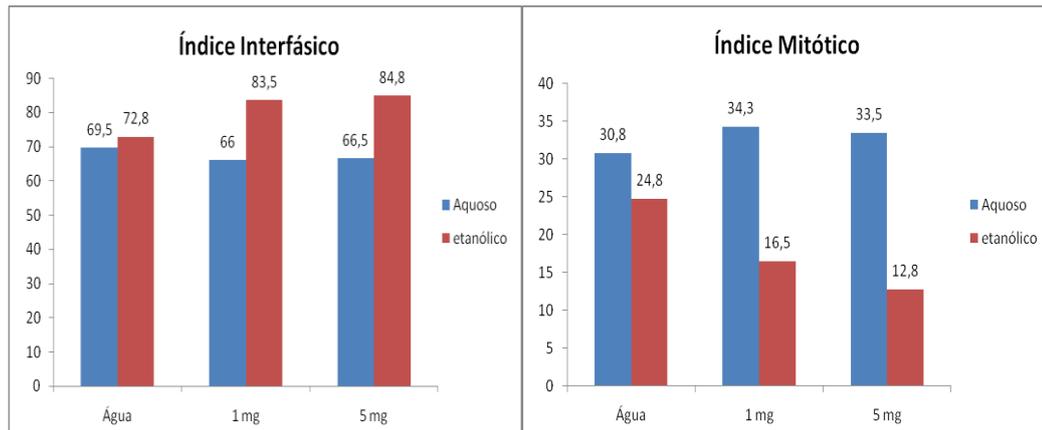
aconditionadas em caixas gerbox forradas com papel germiteste. Nas quais foram testadas as concentrações do extrato aquoso e etanólico de orégano (0 ; 1 mg/mL; 5 mg/mL), mantidas em câmara de germinação a uma temperatura controlada de 25<sup>0</sup> C. O efeito citotóxico/genotóxico foi verificado pela contagem das fases de divisão mitótica das amostras obtidas do sistema meristemático das pontas de raiz. As radículas foram coletadas aos quatro dias após a germinação na presença do extrato e fixadas em Carnoy (3:1, etanol: ácido acético glacial) para proceder à técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002), hidrolisados em HCL 5 N durante quinze minutos, lavados em água destilada e coradas comorceína acética 2%. Cada tratamento constituiu por quatro lâminas observadas 100 células/lâmina pela técnica de varredura. Para as variáveis de índice interfásico e índice mitótico foram realizadas análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tuckey 5%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

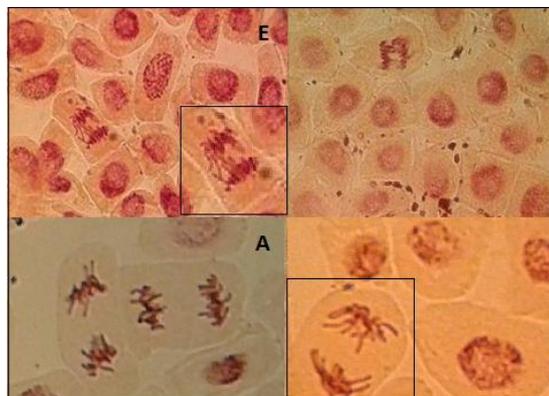
Conforme Figura 1, as concentrações testadas tanto do extrato aquoso quanto do etanólico de orégano não diferiram significativamente em relação ao controle quanto ao índice interfásico. Porém, houve uma diferença estatisticamente significativa quando comparamos os extratos aquoso e etanólico. Mostrando que no processo de extração em que se utiliza o etanol como solvente extrator pode haver um composto majoritário que não se encontra presente no solvente aquoso. Já na análise do índice mitótico, observou-se uma diferença significativa dos resultados obtidos nas concentrações de 0, 1 e 5 mg/mL do extrato etanólico de orégano em comparação ao aquoso, mostrando uma redução no número de células em divisão.

Ao observarmos o gráfico podemos notar uma diferença entre os resultados de citotoxicidade do extrato aquoso e do extrato etanólico, havendo uma redução do processo de divisão celular conforme aumento da concentração do extrato etanólico.

Na observação de presença ou ausência de aberrações cromossômicas, houve ausência no extrato aquoso de orégano, porém, apresentou-se presente no extrato etanólico de orégano, conforme (Fig.2), em que se pode observar a presença de pontes anafásicas. Portanto, o extrato etanólico de orégano teve efeito citotóxico sobre as células de meristemas radiculares da alface, o que pode ser observado através da redução do índice mitótico e presença de pontes anafásicas. A citotoxicidade e genotoxicidade de substâncias podem ser avaliadas, respectivamente, através de alterações no processo de divisão celular sobre o organismo-teste e pela incidência de mutações cromossômicas, como quebras cromatídicas, pontes anafásicas, perda de cromossomos inteiros ou formação de micronúcleos (SOUZA *et al.*, 2005).



**Figura 1:** Gráfico do índice interfásico e índice mitótico dos extratos aquoso e etanólico de orégano.



**Figura 2:** Células meristemáticas de alfaca (400x)– A, E, respectivamente extrato aquoso e extrato etanólico de orégano nas concentrações do extrato observadas. Observando-se a presença de pontes anafásicas em E.

Os compostos antioxidantes apresentam capacidade protetora às células. Mas, o uso de solventes é fundamental para extração dos compostos majoritários. Pois, Segundo Chou e Kuo (1986), a fitotoxicidade de extratos vegetais sobre outras plantas é atribuída à diversidade de aleloquímicos presentes em sua composição, originados do metabolismo secundário dos vegetais.

#### 4 CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo indicam que a escolha do solvente na extração dos compostos majoritários é fundamental, pois, o etanol por ser um solvente não seletivo pode extrair compostos causadores de dano a célula, portanto, sugerimos testes com outros tipos de solvente para comparação. Além de testes de condutividade elétrica para análise de dano de membrana como também a caracterização da atividade antimicrobiana.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHOU, C.H.; KUO, Y.L. *Allelopathic exclusion of understory by Leucaena leucocephala (Lam.)*. **Journal of Chemical Ecology**, v.12, n.1, p.1434-1448, 1986.

DUARTE, T.M.C. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Revista Multiciência**; Construindo a história dos produtos naturais. v 7,n.1, p.1-5, 2006.

GUERRA, M. & SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Funpec, 2002. 131p.

NUNES, A.P.M.; ARAUJO, A.C. Ausência de genotoxicidade do esteviosídeo em *E. coli*. In. **Semana de Iniciação Científica da UERJ, X, 2003**, Rio de Janeiro, Anais da X Semana de Iniciação Científica da UERJ, 2003, p.15.

RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S. *Food antioxidants: sources and methods of evaluation*. In: MADHAVI, D. L.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKE, D. K. **Food antioxidants – technological, toxicological and health perspectives**. USA: Marcel Dekker Inc, 1996. cap. 3, p. 65-157

SOUZA, S.A.M.; STEIN, V.C.; CATTELAN, L.V.; BOBROWSKI, V.L.; ROCHA, B.H.G. Utilização de sementes de alface e de rúcula como ensaios biológicos para avaliação do efeito citotóxico e alelopático de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n.1, p.3-9, 2005.

YANISHLIEVA-MASLAROVA, N. V. *Sources of natural antioxidants: vegetables, fruits, herbs, spices and teas*. In: POKORNY, J; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. **Antioxidants in food: practical application**. USA: CRC Press, 2001b. cap. 10, p. 210-263.