



CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OZONIZADOS

Palavras-Chave: Óleos essenciais, Cromatografia Gasosa, Caracterização

Autores/as:

Gustavo Veronezi Volpato [UNICAMP]

Prof. Dr. Fábio Augusto (orientador) [UNICAMP]

INTRODUÇÃO:

Este projeto tem como objetivo geral o estudo da composição de óleos essenciais ozonizados, com foco na detecção de compostos com potencial atividade antimicrobiana ou alergénica, usando ferramentas com alto poder de separação, elevada sensibilidade e detectabilidade como Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente.

Ozônio, O₃, é uma molécula instável, altamente reativa, tóxica e um contaminante ambiental importante. Considerados os danos conhecidos provocados por esse gás ao sistema respiratório, não há aplicação médica segura, eficaz ou efetivamente comprovada de ozônio com excessão do seu uso como desinfetante hospitalar [1]. Entretanto, mesmo assim a chamada “ozonioterapia” (quando ar contendo concentrações de até 5 % em ozônio produzido *in situ* é administrado via retal ou por infusão extracorporal em de sangue de pacientes) tem sido oferecida como prática terapêutica aplicável a patologias que vão de problemas dermatológicos a AIDS [2]. Entretanto, essa prática não é reconhecida pela comunidade médica, sendo explicitamente vetada por órgãos regulatórios como a FDA (Food and Drug Administration dos EUA) e Health Canada; no Brasil, o CFM determinou que ozonioterapia é “procedimento experimental” e que só pode ser aplicado no contexto de pesquisa clínica obedecidos protocolos éticos restritos [3].

A ozonização dos óleos vegetais é feita através da passagem de ar ou oxigênio ozonizados produzidos por geradores de ozônio [10] em condições controladas. O ozônio reage com triacilglicerídeos insaturados, ocorrendo clivagem oxidativa das duplas ligações produzindo aldeídos, cetonas, ácidos carboxílicos e derivados peroxidados (ozonídeos primários e secundários, peróxidos, hidroperóxidos, diperóxidos e poliperóxidos – Figura 1) de acordo com o chamado mecanismo de Crigee [6].

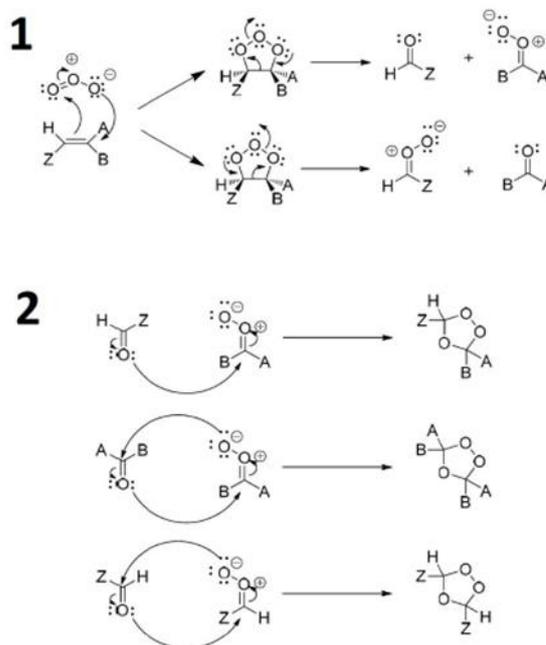


Figura 1. Possíveis produtos primários (cetonas, aldeídos e óxidos de carbonila, **1**) e secundários (ozonídeos, **2**) formados pela ozonização de compostos insaturados de acordo com os mecanismos de Crigee (modificado de [6]).

Um amplo levantamento [12] mostrou que dos ca. 3000 óleos essenciais já descritos, 300 eram comercialmente relevantes e empregados como aditivos alimentares e ingredientes na indústria de perfumes (fragrâncias) e em materiais farmacêuticos. Este último campo de aplicação é frequentemente relacionado com as propriedades antimicrobianas exibidas por vários óleos, alguns deles tendo amplo espectro de atividade antibacteriana, antimicótica, antiparasital e inseticida [13]. Estas propriedades de óleos essenciais têm sido conhecidas durante muito tempo, e o assunto tem sido exaustivamente tratado na literatura [14].

As propriedades biológicas de óleos essenciais são obviamente dependentes da sua composição química. A maioria dos óleos, usualmente, têm apenas alguns componentes majoritários (em concentrações relativamente mais elevadas), sendo o restante dos constituintes presentes em concentrações residuais [15]. No entanto, a determinação destes componentes vestigiais nos óleos essenciais é crítica em estudos de composição e propriedades bioquímicas, uma vez que é muito frequente que a simples soma das atividades dos constituintes majoritários puros de óleos essenciais seja normalmente menor do que a do próprio óleo essencial [16], indicando o papel relevante desses componentes-traço nas propriedades antibióticas de óleos.

METODOLOGIA:

1. Montagem do sistema de ozonização.

De início foi desenvolvido um protótipo do sistema de ozonização de acordo com as figuras 2 e 3 abaixo.

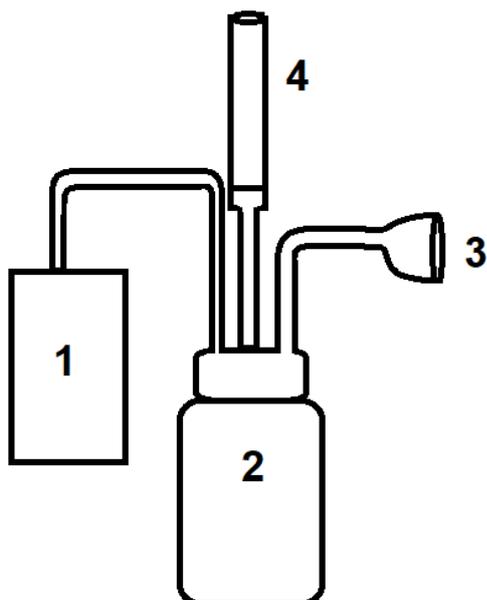


Figura 2: esquema do sistema de ozonização dos óleos essenciais composto pelo ozonizador (1), o frasco de lavagem (2), uma válvula para controlar a vazão (3) e uma coluna cromatográfica com placa porosa que funcionará para borbulhar o ozônio pela amostra (4).

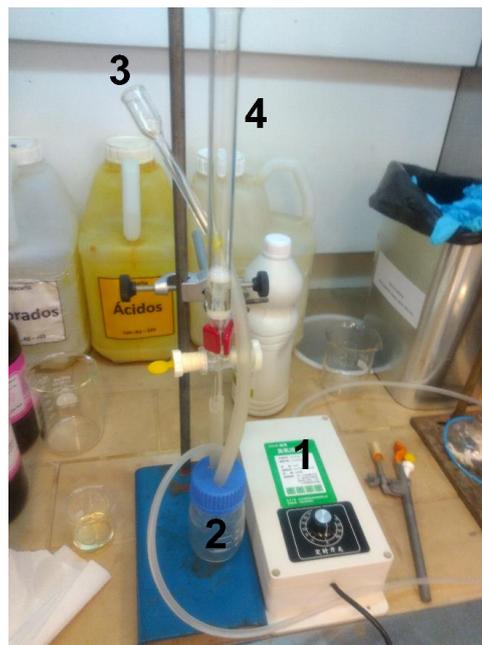


Figura 3: protótipo do esquema de ozonização dos óleos essenciais montado e em funcionamento.

2. Análises exploratórias

Cromatógrafo a gás. Foi usado um cromatógrafo a gás QP2010 Ultra (Shimadzu, Kioto – Japão) com detector espectrométrica de massas sequencial em tandem TQ8040 (Shimadzu) equipado com coluna capilar HP-5 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm e injetor *split-splitless* e usando hidrogênio como gás de arraste. O equipamento operou no modo convencional (unidimensional). A injeção das amostras foi feita no modo split com razão de 1:10, temperatura do injetor de 240°C e vazão de gás de arraste (H₂) de 1,0 mL min⁻¹. A programação de temperatura da coluna foi: 50°C → 3 °C min⁻¹ → 3 min @ 250°C. O detector de massas foi operado com temperatura da interface em 240°C, temperatura da fonte de íons em 250°C, corte de solvente em 3 min e faixa de varredura de massas de 40 a 400 m/z.

Amostras. Óleo essencial de eucalipto citriodora produzido pela NC AROMAS INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA com o lote de fabricação 905493 e fabricado em 08/01/2019 obtida no comércio local.

Ozonização. No sistema de ozonização foram colocados 5mL do óleo essencial de eucalipto citriodora para ozonizar. Após 3 horas de ozonização foi passado gás nitrogênio pelo sistema por 3 minutos para retirar qualquer ozônio dissolvido no óleo e retirada uma alíquota de óleo ozonizado suficiente para fazer uma solução

5% m/v em diclorometano. Após 6 horas de ozonização do mesmo óleo, repetiu-se o processo do gás nitrogênio e foi retirada uma alíquota suficiente para fazer mais uma solução 5% m/v em diclorometano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

As figuras seguintes comparam cromatogramas do óleo essencial sem ozonização, após 3 horas e 6 horas de ozonização.

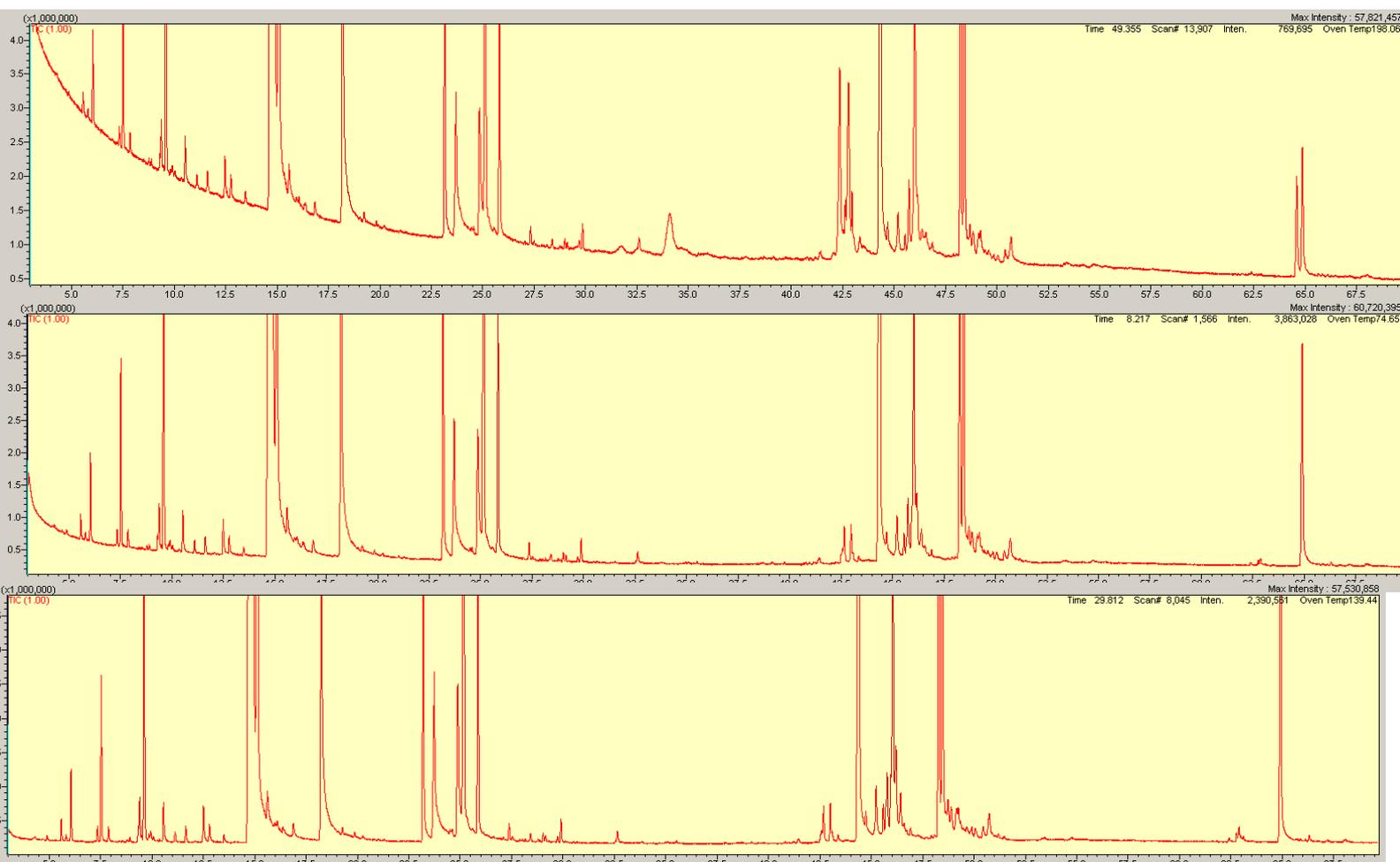


Figura 4. Cromatogramas da solução 5% m/v de óleo de eucalipto citriodora não ozonizado, da solução 5% m/v de óleo de eucalipto citriodora ozonizado por 3 horas e da solução 5% m/v de óleo de eucalipto citriodora ozonizado por 6 horas, respectivamente e com injeção de 1 μ L.

CONCLUSÕES:

Como não há muito na literatura sobre ozonização de óleos essenciais, o projeto mostra que com um sistema relativamente simples é possível ozonizar em laboratório amostras de óleos essenciais selecionados com a possível determinação cromatográfica de constituintes majoritários e minoritários dos óleos ozonizados e a identificação dos componentes dos óleos eventualmente produzidos ou consumidos no processo de ozonização.

A determinação destes componentes vestigiais nos óleos essenciais é crítica em estudos de composição e propriedades bioquímicas, uma vez que é muito frequente que a simples soma das atividades dos constituintes majoritários puros de óleos essenciais seja normalmente menor do que a do próprio óleo essencial o que indica a relevância desses componentes-traço nas propriedades antibióticas de óleos. Isso mostra a necessidade de estudar esses componentes que ainda não são muito estudados.

BIBLIOGRAFIA

- 1 W.A. Rutala, D.J. Weber, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. US Centers for Disease Control (CDC), Washington DC – EUA, 2008; p. 72
- 2 V. Bocci, E. Borrelli, V. Travagli, I. Zanardi. *Med. Res. Rev.* **29** (2009) 646
- 3 Conselho Federal de Medicina: Resolução 2.181 (20/4/2018); Diário Oficial da União 10/7/2018 – p. 106
- 4 T. Harada. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **9** (1934) 192
- 5 V. Travagli, I. Zanardi, G. Valacchi, V. Bocci. *Mediat. Inflamm.* **2010** (2010) 610418
- 6 E. Ugazio, V. Tullio, A. Binello, S. Tagliapietra, F. Dosio. *Molecules* **25** (2020) 334
- 7 G.A Borges, S.T. Elias, S.M.M. Silva, P.O. Magalhães, S.B. Macedo, A.P.D. Ribeiro, E.N.S. Guerra. *J. Cranio-Maxillofac. Surg.* **45** (2017) 364
- 8 N.R. Almeida, A. Beatriz, E.J. Arruda, D.P Lima, L.C.S. Oliveira, A.C. Micheletti. “Ozonized vegetable oils: Production, chemical characterization and therapeutic potential” *in* *Vegetable Oil: Properties, Uses and Benefits*. Nova Science, Hauppauge NY - EUA, 2016
- 9 E. Carata, B.A Tenuzzo, L. Dini. “Powerful Properties of Ozonated Extra Virgin Olive Oil” *in* *Herbal Medicine*. IntechOpen, Londres – Reino Unido, 2019.
- 10 M.F. Díaz, R. Hernández, G. Martínez, G. Vidal, M. Gómez, H. Fernández, R. Garcés. *J. Braz. Chem. Soc.* **17** (2006) 403
- 11 M. Jalali-Heravi, H. Parastar. *Talanta* **85** (2011) 835.
- 12 S.A.A.J. van de Braak, G.C.J.J. Leijten. *Essential Oils and Oleoresins: a Survey in the Netherlands and Other Major Markets in the European Union*. CBI, Rotterdam – Holanda, 1999.
- 13 S. Burt. *Int. J. Food Microbiol.* **94** (2004) 223. **14** A.M. Janssen, J.J.C. Scheffer, A.B. Svendsen. *Planta Med.* **53** (1987) 395.
- 15 F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar. *Food Chem. Toxicol.* **46** (2008) 446.
- 16 A. Ait-Ouazzou, A.L.A. Arakrak, A. Laglaouib, C. Rota, A. Herrera, R. Pagána, P. Conchelloa. *Food Res. Int.* **45** (2012) 313.