

Hojas de olivo (*Olea europaea* –Oleaceae–) como adulterante en oréganos (*Origanum* spp –Lamiaceae–) comercializados en la Ciudad de Buenos Aires, Argentina

Beatriz G. Varela* y Rafael A. Ricco

Cátedra de Farmacobotánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Junín 956 (1113) C.A.B.A, Argentina.

*Autor a quien dirigir la correspondencia: bgvarela@ffyb.uba.ar.

Resumen

En la República Argentina el “orégano” comprende varias especies, subespecies e híbridos de *Origanum* L. (Lamiaceae), cuyas partes usadas son las hojas y las sumidades floridas. En el Código Alimentario Argentino (CAA) se admite hasta un 5 % de material extraño para el orégano (3 % de tallos propios y 2 % de materias heterogéneas). En varios controles de calidad realizados en oréganos comerciales se encontraron porcentajes de materia extraña superiores, y fue notoria la presencia de hojas trozadas, coriáceas, diferentes a las del orégano. En este trabajo se analizaron, por duplicado, seis marcas comerciales de orégano de distintas procedencias. Se tomaron porciones representativas equivalentes al 10 % del contenido neto. Los componentes fueron separados con ayuda de una lupa, se pesaron y se calcularon sus porcentajes. Posteriormente se realizaron disociados leves de las hojas genuinas y de las hojas extrañas, y se observaron bajo microscopio óptico. Se realizó además, una caracterización del perfil de polifenoles de los extractos metanólicos de las muestras, por cromatografía en placa delgada. Los resultados demostraron que tres marcas presentaban hojas ajenas en porcentajes superiores a los establecidos por el CAA. La proporción de tallos propios también fue superior en todas las muestras. Al observarlas bajo el microscopio se comprobó que las hojas ajenas correspondían a “olivo” (*Olea europaea* L.), por la presencia de pelos escamosos y de esclereidas filiformes características de esa especie. La cromatografía mostró un perfil de polifenoles diferente para las muestras puras y para las que contenían olivo. En las muestras puras se observó una alta concentración de ácido cafeico, mientras que en las que incorporaban olivo se observó además, la presencia de rutina y de ácido clorogénico. Estos datos indican que la introducción del adulterante (olivo), provoca una marcada disminución en la proporción de las partes usadas del orégano, diferencias en la composición química de polifenoles, y afecta negativamente la calidad del producto comercial.

Olive leaves (*Olea europaea* –Oleaceae–) as an adulterant of commercial “oreganos” (*Origanum* spp –Lamiaceae–) in Buenos Aires City, Argentina

Summary

In Argentina, the “oregano” includes several species, subspecies and hybrids of *Origanum* L. (Lamiaceae), whose used parts consist of the leaves and flowering tops. In the Argentine Food Code (CAA), 5 % of

Palabras clave: adulterante - olivo - *Olea europaea* - orégano - *Origanum* spp - polifenoles.

Key words: adulterant - olive - *Olea europaea* - “oregano” - *Origanum* spp - polyphenols.

foreign matter is allowed (3 % of own stems and 2 % of heterogeneous materials). Through quality controls made in commercial “oregano”, higher percentages of foreign matter were found and the presence of minced, coriaceous leaves, different from those of “oregano” was notorious. In this paper, six trademarks of “oregano” from various sources were analyzed, in duplicate. Representative portions equal to 10 % of net contents were taken. The components were separated under the stereomicroscope, weighed and calculated their percentages. Subsequently, mild dissociation of genuine leaves and foreign leaves was performed, and observed under light microscope. A further polyphenols characterization on methanolic extracts of the samples, by thin layer chromatography, was conducted. The results showed that three trademarks presented foreign leaves and the percentages were higher than those established by the CAA. The proportion of own stems was also higher in all samples. Microscopically, the foreign leaves corresponded to “olive” (*Olea europaea* L.), by the presence of peltate scutiform trichomes and filiform sclereids characteristic of that species. Thin layer chromatography showed a different polyphenol profile for pure samples and those containing olive leaves. Pure samples revealed the presence of a high concentration of caffeic acid, while those incorporating olive also showed the presence of chlorogenic acid and rutin. These data indicate that the introduction of the adulterant (olive), causes a marked decrease in the proportion of the parts used of “oregano”, a different chemical composition of polyphenols, and affects negatively the quality of the commercial product.

Introducción

Dentro del grupo de las plantas aromáticas condimenticias se destaca el género *Origanum* L. (Lamiaceae) cuyas especies se conocen vulgarmente como “orégano”. Si bien son originarias de la cuenca del Mediterráneo y del este de Asia, en la Argentina constituye uno de los cultivos aromáticos más importantes en las provincias de Mendoza, Córdoba y San Juan, que son las regiones más apropiadas para su desarrollo y las principales productoras (Lenardis y col., 2006).

Según diversos trabajos de revisión, (Xifreda, 1990; 2005) se cultivan varias especies, subespecies e híbridos de *Origanum* y los más comercializados en el país son *O. vulgare* ssp *viridulum* (Martrin-Donos) Nyman y *O. x majoricum* Cambessedes (híbrido entre *O. vulgare* ssp *vulgare* y *O. majorana*).

Se trata de plantas subarborescentes, perennes, de 30 a 100 cm de altura y tallos de sección cuadrangular. Tienen hojas simples, enteras, ovaladas, pecioladas y pubescentes en ambas superficies. Las flores son perfectas, zigomorfas y se disponen en inflorescencias espiciformes o verticilastros; están protegidas por brácteas pilosas, de color verde o verde-purpúreas. Los cálices son pilosos, bilabiados con dientes desiguales, o bien tubiformes con dientes subiguales. Las corolas son bilabiadas y de color blanco, rosado o púrpura. El fruto es un tetraqueno liso, seco y globoso (Xifreda, 1983).

Figura 1.- Partes usadas del orégano



Hojas y sumidades floridas.

El principal uso es como condimento y aromatizante debido a sus aceites esenciales, contenidos dentro de tricomas glandulares. Estas hierbas también son usadas en medicina popular por sus cualidades tónicas, digestivas, vulnerarias, antioxidantes y antisépticas (Rouquaud y col., 2000; Roig, 2001). Las partes usadas están compuestas por las hojas y las sumidades floridas (brácteas y flores), que contienen la mayor parte de las esencias (Figura 1). La composición química del aceite esencial es compleja y está constituida por diversos fenoles, terpenos, sesquiterpenos y compuestos derivados. Además, el orégano tiene ácidos fenólicos (cafeico, rosmarínico, clorogénico), taninos, flavonoides y triterpenos (Muñoz Centeno, 2002).

En el Código Alimentario Argentino (CAA), artículo 1226, está registrada como orégano la especie *O. vulgare* L. y todas sus variedades e híbridos. Entre las exigencias requeridas debe responder a un mínimo de 1 % de esencia y a un máximo de 5 % de materia extraña, de la cual el 3 % puede corresponder a tallos de la propia planta y 2 % a material inoco proveniente de otras plantas (CAA, 1969).

En varios controles realizados en muestras comerciales de orégano, se observó la presencia de tallos y de elementos extraños en porcentajes muy superiores a los establecidos por el CAA. En este trabajo se realizó un análisis farmacobotánico y un perfil del contenido de los compuestos polifenólicos en seis marcas comerciales de orégano de la Ciudad de Buenos Aires.

El objetivo fue realizar el control botánico de las muestras, comprobar la pureza en cuanto a las partes usadas, detectar e identificar la presencia de elementos extraños y cómo afectan estos la calidad del producto comercializado, como así también la obtención del perfil de polifenoles para el producto puro y sus mezclas.

Materiales y métodos

Se analizaron, por muestreo aleatorio simple y por duplicado, seis marcas comerciales de orégano de distintas procedencias. Se tomaron porciones representativas equivalentes al 10 % del contenido neto de las muestras, por el método de cuarteo repetido (Norma IRAM 37506, 1994). Se separaron los componentes bajo microscopio estereoscópico Carl Zeiss, se pesaron y se calcularon los porcentajes de

los elementos (WHO, 1998). Los elementos separados se fotografiaron con una cámara digital Canon Powershot A560.

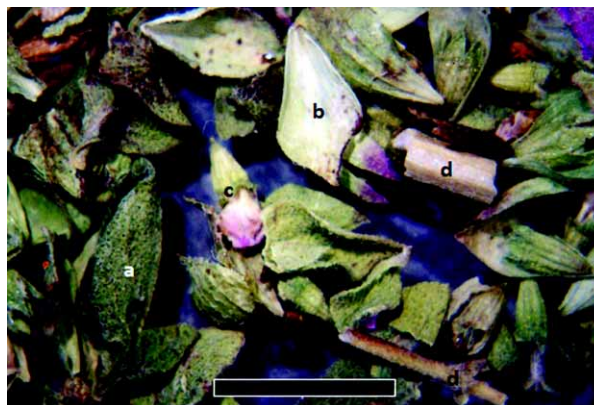
Se realizaron disociados leves con hidróxido de sodio al 5 % de las hojas separadas y se observaron en el microscopio óptico (D'Ambrogio de Argüeso, 1986; Norma IRAM 37500, 1993). Los preparados obtenidos de los disociados se fotografiaron con un fotomicroscopio Zeiss Axiolab MC 80 DX.

Para el estudio de los polifenoles se partió de 1g de material seco y molido. La extracción se llevó a cabo con 10 mL de metanol, a temperatura ambiente, durante 24 h. Posteriormente se filtró y se descartó el marco. El extracto así obtenido fue utilizado en la determinación del perfil de polifenoles, que fue realizado por medio de una cromatografía en capa delgada de celulosa (TLC y HPTLC), empleando como fase móvil ácido acético 15 % (Mabry y col., 1970; Markham, 1982). El cromatograma se observó a la luz ultravioleta antes y después de ser expuesto a vapores de amoníaco y, posteriormente se reveló con el reactivo de productos naturales (NPR 1 % en metanol) (Wagner y Bladt, 1996). Se emplearon como sustancias de referencia ácido cafeico, ácido clorogénico y rutina (Sigma-Aldrich).

Resultados

Todas las muestras analizadas presentaron partes genuinas del orégano: hojas, brácteas y flores (constituidas por cálices y corolas), en proporciones variadas (Figura 2).

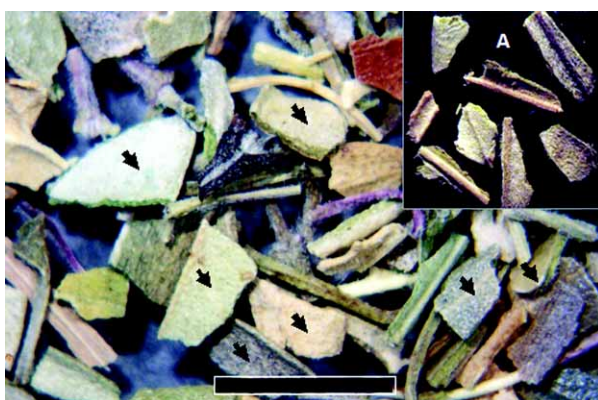
Figura 2.- Partes genuinas de orégano



a) hojas, b) brácteas, c) flores, d) tallos (fragmentos). Escala: 5 mm.

Se observaron además, fragmentos de tallos propios del orégano de distintos tamaños y otros materiales heterogéneos: tallos varios, trozos de hojas, frutos y semillas ajenos al orégano. Como material no vegetal se hallaron pequeñas piedras y partículas de tierra. No se encontraron insectos vivos ni muertos, ni partes de ellos. En tres marcas fue notoria la presencia de hojas trozadas, gruesas, coriáceas, discolores (verde oscuro de un lado y grisáceas del otro), fácilmente distinguibles de las del orégano (Figura 3).

Figura 3. Muestra de orégano con materia extraña

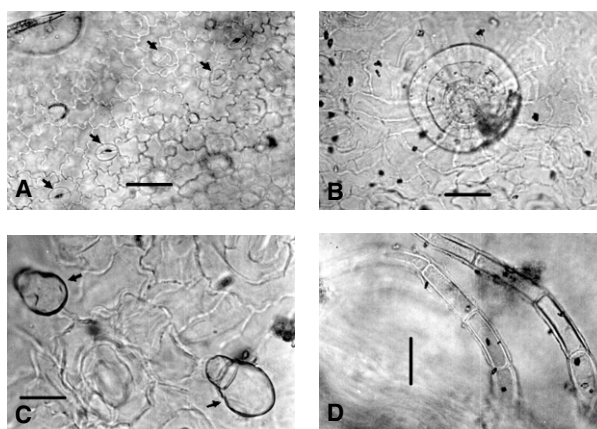


Hojas coriáceas, discolores (flechas). A: Detalle. Escala: 5 mm.

Se procedió a calcular los porcentajes de todos los componentes separados en relación con el peso de la muestra representativa, datos que se presentan en la tabla 1.

Los disociados leves de las hojas genuinas del orégano revelaron: a) células epidérmicas de contorno sinuoso, b) estomas diacíticos, c) tricomas eglandulares uni y pluricelulares (hasta 6 células), d) tricomas glandulares peltados, casi sésiles, con cabeza pluricelular (8 a 12 células), y e) tricomas glandulares capitados con pie corto y cabeza unicelular. Todos los elementos mencionados se observan en la figura 4 (A, B, C y D).

Figura 4. Disociado leve de hojas de orégano



A. Células epidérmicas y estomas diacíticos (flechas). Escala: 50 µm.

B. Tricoma glandular pluricelular peltado. Escala: 50 µm.

C. Tricomas glandulares capitados (flechas). Escala: 20 µm.

D. Tricomas eglandulares pluricelulares. Escala: 50 µm.

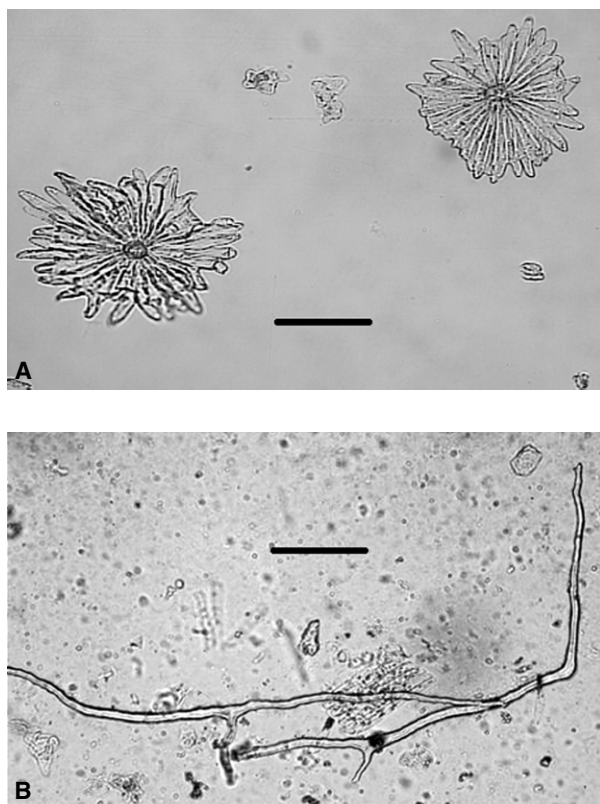
Tabla 1. Cuadro comparativo de las muestras de orégano analizadas

| Marcas de orégano | Contenido neto (g) | Cantidad analizada (g) | Hojas % | Brácteas y flores % | Materia extraña | | |
|-------------------|--------------------|------------------------|---------|---------------------|-----------------|---------|---------|
| | | | | | Hojas gruesas % | Otros % | Total % |
| A | 25 | 2,5 | 24 | 70 | 0 | 6 | 6 |
| | 25 | 2,5 | 24 | 68 | 0 | 8 | 8 |
| B | 25 | 2,5 | 36 | 54 | 0 | 10 | 10 |
| | 25 | 2,5 | 40 | 52 | 0 | 8 | 8 |
| C | 25 | 2,5 | 30 | 46 | 12 | 12 | 24 |
| | 25 | 2,5 | 40 | 36 | 16 | 8 | 24 |
| D | 20 | 2 | 65 | 30 | 0 | 10 | 10 |
| | 20 | 2 | 40 | 55 | 0 | 5 | 5 |
| E | 50 | 5 | 20 | 54 | 18 | 8 | 26 |
| | 50 | 5 | 26 | 58 | 10 | 6 | 16 |
| F | 25 | 2,5 | 30 | 40 | 15 | 15 | 30 |
| | 25 | 2,5 | 45 | 33 | 10 | 12 | 22 |

Otros: tallos, otras hojas, frutitos, semillas, tierra; g: gramos; %: porcentaje.

Los disociados leves de las hojas ajenas, gruesas, revelaron la presencia de: a) escamas o tricomas escamosos glandulares, pluricelulares, sésiles, y b) esclereidas de pared gruesa, filiformes, a veces ramificadas en los extremos. Las células epidérmicas presentaron paredes rectas y los estomas no se pudieron distinguir por estar cubiertos por las escamas (Figura 5: A y B).

Figura 5. Disociado leve de hojas de olivo



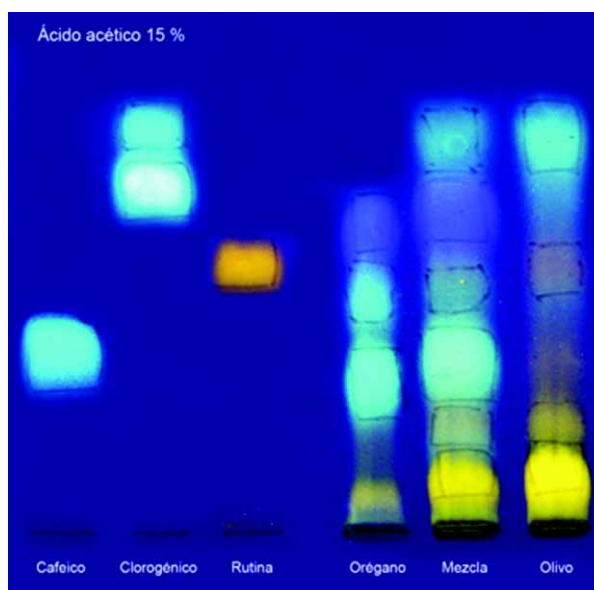
A. Escamas pluricelulares o tricomas escamosos glandulares. Escala: 50 µm.

B. Esclereidas filiformes. Escala: 200 µm.

El perfil cromatográfico muestra una clara diferencia entre las especies: en el orégano se observa una alta concentración de ácido cafeico (compuesto celeste, Rf_{x100} : 35), mientras que en el olivo se observó una alta concentración de ácidos clorogénicos (compuestos celestes, Rf_{x100} : 68-81), luteolina, apigenina y flavonoides derivados (compuestos amarillos, Rf_{x100} : 11-21) y una baja concentración de rutina (compuesto anaranjado, Rf_{x100} : 53). Las

muestras que incorporan ambas especies presentaron cromatogramas donde se expresan todos los compuestos mencionados (Figura 6).

Figura 6.- Cromatografía en capa delgada de los extractos metanólicos y comparación con testigos



Discusión y conclusión

Por las características mencionadas, la comparación con la bibliografía y con materiales de referencia, las hojas coriáceas se identificaron como hojas de olivo (*Olea europaea* L. -Oleaceae-). La presencia de escamas y de esclereidas filiformes, elementos característicos del olivo, confirma la identidad de esa especie. Tres marcas comerciales presentaron porcentajes elevados de hojas de olivo. Estos porcentajes producen una marcada disminución en la proporción de las partes usadas de la planta (hojas, brácteas y flores). Se concluye, entonces, que las hojas de olivo constituyen una adulteración notoria de las muestras de orégano.

Los elementos genuinos del orégano coincidieron con los observados en estudios anteriores realizados (Varela y col., 2007). Se encontró también, que en la mayoría de las muestras el porcentaje de tallos propios es muy superior al establecido por el CAA.

Como se expresó el porcentaje total de materia extraña permitida es del 5 %, mientras que en las muestras analizadas se detectó un porcentaje promedio del 16 %, con valores mínimos y máximos del 5 % al 30 %, respectivamente. Si se analiza el porcentaje de las hojas de orégano presentes, puede determinarse una gran variación entre las marcas analizadas, que varían entre el 20 % al 65 %. Para las sumidades floridas, el rango de variación se presenta entre el 30 % y el 70 % del material total.

Por lo expuesto, se concluye que el agregado de materia extraña disminuye marcadamente la cantidad de las partes usadas del orégano y, de esta manera, afecta la calidad del producto.

Si se considera, además, la variación observada en la composición química de los polifenoles, se deduce que este tipo de irregularidades afectan en forma negativa las cualidades químicas de las muestras analizadas.

La metodología empleada en este estudio resulta relativamente sencilla para realizarla en los laboratorios de baja complejidad, con el objeto de detectar adulteraciones y optimizar el control de calidad del producto comercializado.

Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el proyecto UBACYT-20020100100459 (2011-2014).

Referencias bibliográficas

- Código Alimentario Argentino (1969). Capítulo XVI, artículo 1226.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. (1986). *Manual de Técnicas en Histología Vegetal*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 51-53.
- Lenardis, A.; Gil, A.; Morvillo, C. (2006). "Orégano" en Elba De La Fuente y col. (ed) *Cultivos Industriales* Cap. 4.3. EFA. Buenos Aires: 509-544.
- Mabry, T.J.; Markham, K.R.; Thomas, M.B. (1970). *The Systematic Identification of the Flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin, New York: 1-175.
- Markham, K.R. (1982). *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press, London: 1-113.
- Muñoz Centeno, L.M. (2002). "Plantas medicinales españolas: *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) (orégano)". *Acta Botanica Malacitana* 27: 273-280.
- Norma IRAM 37500 (1993). "Drogas vegetales. Método para su control por la técnica de disociación débil". *Instituto Argentino de Normalización y Certificación*.
- Norma IRAM 37506 (1994). "Drogas vegetales. Muestreo. Obtención de la muestra para ensayo". *Instituto Argentino de Normalización y Certificación*.
- Roig, F.A. (2001). *Flora medicinal mendocina*. EDIUNC, Mendoza: 214-215.
- Rouquaud, E. y Videla, M. (2000). "Oréganos de Mendoza (Argentina)". *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 32(1): 23-32.
- Varela, B.G.; Ganopol, M.J.; Gurni, A.A. (2007). "Estudio anatómico preliminar en hojas de oréganos comercializados en la ciudad de Buenos Aires (Argentina)". *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 6(6): 388-389.
- Wagner, H. y Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas*. Second edition. Springer-Verlag, Berlin: 195-244.
- World Health Organization. (1998). *Quality control methods for medicinal plant material*. WHO Library Cataloguing in Publication Data, Genève: 13-28.
- Xifreda, C.C. (1983). "Sobre oréganos cultivados en Argentina". *Kurtziana* 16: 133-148.
- Xifreda, C.C. (1990). "Los nombres científicos correctos de dos oréganos híbridos (Lamiaceae)". *Taxon* 39(3): 523-525.
- Xifreda, C.C. (2005). "Identificación micromorfológica y taxonómica de muestras comerciales de orégano (*Origanum* L., Lamiaceae)". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 40 (supl.): 88.