

inCiência

Iniciação Científica
Embrapa



Anais da X Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

Embrapa

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da X Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

Regina Caetano Quisen
Editora Técnica

Embrapa
Brasília, DF
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

69010-970

Caixa Postal 319

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpa.embrapa.br

cpaa.sac@embrapa.br

Unidade responsável pelo conteúdo:

Embrapa Amazônia Ocidental

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *André Luiz Atroch, Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa e Maria Perpétua Beleza Pereira.*

Revisor de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa*

Diagramação: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Capa: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

1ª edição

CD-ROM (2013): 100 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

Embrapa Amazônia Ocidental.

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (10. : 2013: Manaus, AM).

Anais... / X Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental; editora: Regina Caetano Quisen. – Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2013.

1 CD-ROM : color. ; 4 ¾ pol.

ISBN 978-85-7035-340-5

1. Comunicação científica. 2. Iniciação científica. 3. Anais. I. Quisen, Regina Caetano. II. Título.

Obtenção e Caracterização Química de Óleos Essenciais de Espécies Medicinais Brasileiras ou Adaptadas para Uso na Piscicultura

Susanne Regina Nazaré de Oliveira
Edsandra Campos Chagas
Francisco Célio MaiaChaves
Marcelo Roseo de Oliveira
Humberto Ribeiro Bizzo

Resumo

O emprego de plantas medicinais na piscicultura vem sendo priorizado em função dos bons resultados obtidos na prevenção e no controle de doenças. Entretanto, uma das primeiras etapas para o uso desses óleos consiste na seleção de plantas, no plantio e na caracterização de seus óleos essenciais. O objetivo deste estudo foi obter a produção de biomassa e caracterizar quimicamente os óleos essenciais de espécies medicinais brasileiras ou adaptadas para uso na piscicultura. Folhas e inflorescências de *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* e *Mentha x piperita*, bem como rizomas de *Zingiber officinalis*, foram coletados visando à extração do óleo essencial pelo processo de hidrodestilação, sendo posteriormente caracterizados quimicamente por cromatografia em fase gasosa. A análise da composição química identificou para *L. alba* 12 constituintes, para *L. sidoides* 21 constituintes, para *M. x piperita* 27 constituintes e para *Z. officinalis* e *O. gratissimum* 20 constituintes. Os componentes majoritários dos óleos essenciais foram: geranial, neral e óxido de cariofileno para *L. alba*; timol,

orto-cimeno e beta-cariofileno para *L. sidooides*; mentol, mentofurano e pulegona para *M. x piperita*; geranial, neral, 1,8-cineol e canfeno para *Z. officinalis*, assim como eugenol, 1,8-cineol e beta-selineno para *O. gratissimum*.

Termos para indexação: óleos essenciais, composição química, piscicultura.

Extraction and Chemical Characterization of Essential Oils from Brazilian Medicinal Plants or Adapted for Use in Fish Farming

Abstract

The use of medicinal plants in fish culture has been prioritized on the basis of the good results in the prevention and control of diseases. However, one of the first steps for the use of essential oils in fish culture consists of the plant selection, planting and characterization of its essential oils. The aim of this study was to obtain the biomass production and to characterize chemically the essential oils from Brazilian medicinal species or adapted for use in fish culture. Leaves and flowers of *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Mentha x piperita*, and rhizomes of *Zingiber officinalis* were collected for extraction of essential oil by steam distillation process, being after characterized chemically by gas chromatography. The chemical composition analysis allowed identifying 12 constituents for *L. alba*, 21 constituents for *L. sidoides*, 27 constituents to *M. x piperita* and 20 constituents to *Z. officinalis* and *O. gratissimum*. The major components of the essential oil were: geranial, neral and caryophyllene oxide to *L. alba*; thymol, ortho-cymene and beta-caryophyllene for *L. sidoides*; menthol, menthofuran and

pulegone to *M. x piperita*; geraniale, neral, 1,8-cineole, camphene to *Z.officinalis* and eugenol, 1,8-cineole and beta-selinene for *O. gratissimum*.

Index terms: essential oils, chemical composition, fish culture.

Introdução

Na piscicultura, as bactérias e os parasitos são organismos que possuem grande importância pelas doenças que provocam. As taxas de mortalidade dos peixes são, por vezes, muito elevadas, e as causas das doenças são múltiplas, levando-se em conta a tríade: hospedeiro – ambiente – agente. Estimativas mostram que as perdas econômicas anuais na aquicultura, devido à ocorrência dessas doenças, foram de US\$ 400 milhões na China em 1993, US\$ 17,6 milhões na Índia em 1994 e acima de US\$ 500 milhões na Tailândia em 1996 (HARIKRISHNAN et al., 2011).

No Brasil não há dados sobre o impacto das doenças parasitárias e bacterianas na produção de peixes, porém surtos de doenças são frequentemente observados nas pisciculturas comerciais, necessitando-se do emprego de métodos de controle alternativos e eficazes (FIGUEIREDO; LEAL, 2008; PILARSKI; SAKABE, 2009).

O emprego de plantas medicinais na aquicultura vem sendo priorizado em função da comprovação de atividades antiestresse, promotor de crescimento, estimulador do apetite, imunoestimulação e antimicrobiana, decorrentes de seus princípios ativos alcaloides, flavonoides, compostos fenólicos, terpenoides, esteroides e óleos essenciais (CHAKRABORTY; HAN CZ, 2011; CITARASU, 2010; HARIKRISHNAN et al., 2011).

Um aspecto de grande importância para a produção de informações visando à obtenção futura de bioprodutos para aquicultura é a seleção de espécies de plantas medicinais, a qual pode ser baseada na viabilidade de cultivo em curto prazo, no rendimento e composição química, além da eficácia na prevenção e controle de doenças em diferentes organismos. Contudo, a produção de biomassa (partes da planta que contém o óleo essencial), extração e caracterização química de óleos essenciais

de espécies medicinais brasileiras ou adaptadas são etapas cruciais para avançar no estado da arte da sanidade aquícola brasileira.

O objetivo deste estudo foi obter a produção de biomassa e caracterizar quimicamente os óleos essenciais de espécies medicinais brasileiras ou adaptadas para uso na piscicultura.

Material e Métodos

Foram coletadas folhas e inflorescências de *L. alba*, *L. sidooides*, *O. gratissimum* e somente folhas de *M. x piperita*, bem como rizomas de *Z. officinalis*, cultivadas na Embrapa Amazônia Ocidental. As coletas da biomassa produzida de cada espécie foram realizadas pela manhã, entre 8h e 9h. Depois disso, as biomassas foram colocadas para secar em galpão aberto lateralmente, para perda de umidade inicial, que é muito alta. Antes da secagem, duas amostras de 20 g foram retiradas e levadas à estufa a 65 °C até atingirem o peso constante para determinação da umidade. Após secagem, folhas e rizomas foram armazenados em laboratório para, em seguida, ser feita a extração do óleo essencial, sendo o teor médio para o óleo essencial calculado em base seca.

A extração do óleo foi realizada pelo método de hidrodestilação, no aparelho Clevenger, utilizando-se 500 g de folhas, inflorescências, se presentes, e rizomas. Em seguida, o material foi posto em balão volumétrico de 12 mil mL, sendo adicionada água destilada até a imersão das folhas, acoplado em uma manta aquecedora. Após duas horas, o óleo foi colhido, pesado e armazenado em vidro âmbar, sendo posteriormente guardado em freezer.

Amostras dos óleos essenciais de *L. alba*, *L. sidoides*, *O. gratissimum*, *M. x piperita* e *Z. officinalis* foram enviadas à Embrapa Agroindústria de Alimentos para a realização do fracionamento e da caracterização química por cromatografia em fase gasosa em equipamento Agilent 6890 acoplado a detector seletivo de massas Agilent 5973N. Para o cálculo do índice de retenção, foi injetada uma série de n-alcenos nas mesmas condições analíticas empregadas para amostra.

Resultados e Discussão

A análise do teor e composição química do óleo essencial de *L. alba*, *L. sidoides*, *M. x piperita*, *Z. officinalis* e *O. gratissimum* é apresentada na Tabela 1.

O teor dos óleos essenciais avaliados variou de 0,3% (*L. alba*) a 4,36% (*L. sidoides*). Diversos fatores podem ter afetado o teor de óleo essencial, como a metodologia empregada no processo de extração, as variações fisiológicas da planta (fase do desenvolvimento, variações sazonais, condições de estresse da planta, entre outros), condições ambientais (características do solo, clima, entre outras) (FIGUEIREDO et al., 2008). Nesse estudo, as plantas estão sendo cultivadas desde o início do ano de 2013 e a colheita foi realizada no mês de junho. As colheitas foram realizadas em dias com pleno sol, para evitar a influência de pouca luz, visto que a produção vegetal, assim como os metabólitos secundários, são afetados, dentre outras coisas, pelos fatores abióticos, como luz, temperatura e umidade.

Tabela 1. Composição química e teor de óleo essencial de cinco plantas medicinais, nas condições de Manaus, AM, 2013.

Óleo essencial	Compostos (%)	Teor (%)
<i>Lippia alba</i> (erva-cidreira)	Geranial (E-citral)(25,4), Neral (Z-citral) (16,6), Óxido de cariofileno (16,0), Beta-cariofileno (4,0), Beta-selineno (3,7), Mirceno (2,0), Beta-elemeneno(1,7), Linalol (1,5), 4-terpineol (1,2).	0,30
<i>Lippia sidoides</i> (alecrim-pimenta)	Timol (76,6), Orto-cimeno (6,3), Beta-cariofileno (5,0), Gama-terpineno (2,0), Mirceno (1,1), Alfa-terpineno (0,7), 1,8-cineol (0,7), Óxido de cariofileno (0,7), Ipsdienol (0,6).	4,36
<i>Mentha x piperita</i> (hortelã-pimenta)	Mentol (27,5), Mentofurano (22,5), Pulegona (12,8), Acetato de mentila (12,5), Mentona (11,0), Limoneno(3,5), 1,8-cineol (2,1), Beta-pineno (1,3).	1,10
<i>Ocimum gratissimum</i> (alfavaca-cravo)	Eugenol (43,3), 1,8-cineol (28,2), Beta-selineno (5,5), Beta-cariofileno (3,7), Beta-pineno (2,8), Alfa-selineno (1,7), Linalol (1,3), Alfa-terpineol (1,1), Alfa-pineno (1,0).	2,36
<i>Zingiber officinalis</i> (gengibre)	2-heptanol (1,0), α -pineno (2,9), Canfeno (11,4), β -pineno (0,6), 6-metil-5-pepten-2-ona (1,2), Mirceno (1,8), β -felandreno + Silvestreno (4,1), 1,8-cineol (16,0), Linalol (1,8), Borneol (4,4), Terpinen-4-ol (0,6), α -terpineol (2,9), Citronelol (1,0), Neral (17,2), Geraniol (1,9), Geranial (23,9), Ar-curcumeno (1,1), α -zingibereno (2,2), (E,E)- α -farneseno (1,2), β -sesquifelandreno (1,1).	0,68

A análise da composição química permitiu identificar para *L. alba* 12 constituintes, representando 75,6% do óleo essencial. Para *L. sidoides* foram identificados 21 constituintes, representando 98,6% do óleo essencial. Para *M. x piperita* foram identificados 27 constituintes, representando 99,4% do óleo essencial. Para *O. gratissimum* foram identificados 20 constituintes, representando 98,1% do óleo essencial. Estudos relatam que o processo de hidrodestilação pode promover alterações na composição química do óleo essencial, decorrente de altas temperaturas utilizadas nesse processo, o que pode levar a perda de compostos voláteis (SCHOSSLER et al., 2009).

Neste estudo, os constituintes majoritários do óleo de *L. alba* foram: geranial (E-citral) 25,4%, neral (Z-citral) 16,6% e óxido de cariofileno 16,0% (Tabela 1). No trabalho realizado por Nogueira et al. (2007), observou-se que a porcentagem dos compostos químicos encontrados foi superior à obtida neste estudo, como é o caso do geranial com 34,0% e do neral com 24,0%. O mesmo padrão foi observado para *L. sidoides*, em que se constatou, no trabalho de Chaves et al. (2008) nas condições de Fortaleza, CE, uma variação no teor e na composição química do óleo essencial, embora esses valores sejam próximos ao obtido nas condições deste estudo com teor de 3,5% e com os seguintes constituintes: timol 59,4%, para-cimeno 8,9%, beta-cariofileno 8,8% e gama-terpineno 2,9%. Para *Z. officinalis*, com exceção do composto geranial, que apresentou porcentagem superior à registrada no estudo de Chaves et al. (2012) nas condições de Manaus, AM, a porcentagem dos demais constituintes do óleo essencial foi muito similar: canfeno 9,86%, 1,8– cineol 11,78%, neral 22,36%.

Para *O. gratissimum*, observou-se neste estudo teor de 2,36%, tendo como principal constituinte o eugenol com 43,3% (Tabela 1). Contudo, no estudo de Fernandes (2012) nas condições de Ilhéus, BA, encontrou-se uma porcentagem alta de eugenol e demais constituintes, sendo o teor de 1,22% e os compostos

eugenol 91,97%, germancreno D 3,92%, cis-ocimeno 1,47%, E-cariofileno 1,37% e trans-4-tujanolol hidrato de cis-sabineno 0,52%. Essa variação pode ser explicada em função da intensidade de radiação luminosa no crescimento das plantas, na produção do óleo essencial e nos componentes majoritários. Para *M. x piperita* obteve-se óleo essencial com teor de 1,10%, tendo como constituintes: mentol 27,5 %, mentofurano 22,5%, pulegona 12,8%, acetato de mentila 12,5%, mentona 11,0% (Tabela 1). De forma semelhante ao obtido neste estudo, o composto majoritário foi o mentol e a porcentagem do composto foi de 27,5%, contudo variação em outros compostos químicos pode ser observada nos resultados obtidos por Valmorbidia et al. (2006) nas condições de Botucatu, SP, com os constituintes limoneno (0,87%), mentona (42,75%), mentofurano (11,79%), mentol (27,76%) e pulegona (1,47%). Com relação aos resultados obtidos para *M. x piperita*, destaca-se o elevado percentual de mentol, substância de grande importância industrial e que apresenta ação antibacteriana, anti-helmíntica e fungicida (MCKAY; BLUMBERG, 2006).

Deste modo, é importante ressaltar que a composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém os fatores ambientais podem causar variações significativas em seus componentes. Época de colheita, localização geográfica, horário, modo de secagem do material vegetal e fatores ambientais, como umidade, água, solo e herbivoria, também podem influenciar na composição química e no teor do óleo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007; SANTOS, 2004; SILVA; CASALI, 2000) e com isso aumentar ou diminuir a resposta biológica (BURT; REINDERS, 2004; SANTOS, 2004). Assim, o conhecimento da composição química dos óleos essenciais é de extrema importância e deve ser uma das primeiras etapas a ser considerada na condução de estudos de atividade biológica desses óleos para uso na piscicultura, considerando que, além de os peixes serem produzidos localmente, deve-se evitar a obtenção

de óleos essenciais produzidos em outras localidades, constituindo-se em estratégia para diminuir as fontes de variação nos estudos científicos.

Conclusões

Os óleos essenciais de *L. alba*, *L. sidoides*, *O. gratissimum*, *M. x piperita* e *Z. officinalis*, cultivadas nas condições de Manaus, AM, apresentaram variação no teor e na composição química em relação a materiais de outras regiões.

Os principais compostos identificados foram: geranial, neral e óxido de cariofileno para *L. alba*; timol, orto-cimeno e beta-cariofileno para *L. sidoides*; mentol, mentofurano e pulegona para *M. x piperita*; eugenol, 1,8-cineol e beta-selineno para *O. gratissimum*; geranial, neral, 1,8-cineol e canfeno para *Z. officinalis*.

Agradecimentos

Aos pesquisadores Edsandra Campos Chagas e Francisco Célio Maia Chaves, pela orientação e apoio. À equipe de Plantas Medicinais e de Piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental, pelo apoio durante a coleta do material vegetal e na extração dos óleos essenciais. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (Fapeam), pela bolsa concedida.

Referências

BURT, S. A.; REINDERS, R. D. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 36, p. 162-167, 2004.

CHAKRABORTY, S. B.; HANCZ, C. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. **Reviews in Aquaculture**, Richmond, v. 3, p. 103-119, 2011.

CHAVES, F. C. M.; FIGUEIRA, G. M.; PRAL, Y. M.; CRAVEIRO, E. R.; VAZ, A. P. A. Avaliação agrônômica e caracterização química de acessos de gengibre (*Zingiber officinale*) nas condições de Manaus, AM. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, p. S5805-S5809, 2012.

CHAVES, F. C. M.; MATTANA, R. S.; GONÇALVES, M. A.; MATOS, F. J. A.; FREIRE, A. M. R.; BIZZO, H. R.; ANGELO, P. C. S.; MING, L. C.; BOTELHO, J. B. L. R. Teor de óleo essencial e seus constituintes em alecrim pimenta (*Lippias idoides*) de três regiões geográficas distintas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, p. S1462-S1465, 2008.

CITARASU, T. Herbalbiomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International**, London, v. 18, p. 403-414, 2010.

FERNANDES, V. F. **Crescimento, produção do óleo essencial e anatomia foliar de *Ocimum gratissimum* L. (LAMIACEAE) em diferentes níveis de radiação luminosa**. 2012. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2012.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour Frag**, Chichester, v. J 23, p. 213-226, 2008.

FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, C. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 8-14, 2008.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, p. 374-381, 2007.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M. S. Impact of plant products on innate and adaptative immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 317, p. 1-15, 2011.

MCKAY, D. L.; BLUMBERG, J. B. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). **Phytotherapy Research**, Araraquara, v. 20, n. 8, p. 619-633, Aug. 2006.

NOGUEIRA, M. A.; DIAZ, G.; SAKUMO, L. Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, n. 3, p. 273-278, 2007.

PILARSKI, F.; SAKABE, R. Principais enfermidades diagnosticadas no Estado de São Paulo: profilaxia ou tratamento?. In: PEZATTO, L. E.; BARROS, M. M.; FURUYA, W. M.; CYRINO, J. E. P.; FERNANDES JÚNIOR, A.C. (Ed.). **Anais do 3º Simpósio Internacional de Nutrição e Saúde de Peixes**. Botucatu, 2009. p. 101-130.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. ampl. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2004. p. 403-434.

SCHOSSLER, P.; SCHNEIDER, G. L.; WUNSCH, D.; SOARES, G. L. G.; ZINI, C. A. Volatile compounds of *Baccharis punctulata*, *Baccharis dracunculifolia* and *Eupatorium laevigatum* obtained using Solid Phase Microextraction and Hydrodistillation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 277-287, 2009.

SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa: Arte e Livros, 2000. 135 p.

VALMORBIDA, J. ; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M.; FERRI, A. F. Rendimento e composição química de óleo essencial de *Mentha x Piperita* L. cultivada em solução nutritiva com diferentes concentrações de potássio. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 56-61, 2006.