

**INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE – *CAMPUS* ARAQUARI
BRUNA CARDOSO ROMÃO, GABRIELE PURNHAGEN, GREENDA
IZABELI MENEZES E IASMINE NASCIMENTO BURKHARDT**

**VARIAÇÃO CIRCADIANA DO TEOR DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS**

ARAQUARI/SC

2017

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE – *CAMPUS* ARAQUARI
BRUNA CARDOSO ROMÃO, GABRIELE PURNHAGEN, GREENDA
IZABELI MENEZES E IASMINE NASCIMENTO BURKHARDT

VARIAÇÃO CIRCADIANA DO TEOR DOS ÓLEOS
ESSENCIAIS DE PLANTAS MEDICINAIS

Trabalho de Defesa do Projeto de Iniciação Científica Integrada (PIC-QUIMI) apresentado ao Instituto Federal Catarinense – *Campus* Araquari como parte complementar à matriz curricular do Curso Técnico em Química Integrado ao Ensino Médio.

ARAQUARI/SC

2017

RESUMO

O presente projeto teve como seu objetivo extrair o óleo essencial de duas espécies de plantas medicinais: Alfavaca (*Ocimum gratissimum L.*) e Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) presentes no Horto Medicinal do IFC - *Campus* Araquari, calcular seus rendimentos, determinar os compostos presentes nos óleos e posteriormente comparar os resultados obtidos com resultados de artigos já publicados. Observaram-se as condições climáticas nos dias das coletas através de dados do centro de meteorologia do Instituto Federal Catarinense – *Campus* Araquari. As coletas foram realizadas nos dias 30 de agosto e 1º de setembro de 2017, as extrações realizadas por hidrodestilação utilizando um equipamento tipo clewenger e a composição química de cada óleo determinada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. As coletas foram efetuadas nas horas 6, 12 e 18, tendo como rendimento das extrações da alfavaca 1,1%, 1,1% e 0,8% respectivamente. Os rendimentos da extração de Melaleuca foram de 1,3% nos três horários avaliados. Na composição química do óleo da alfavaca pôde-se observar a predominância dos compostos eugenol e *o*-cimeno nas concentrações de 86,8% (6h), 94,7% (12h) e 91,8% (18h) e 3,5% (6h), 0,2% (12h), 1,2% (18h), respectivamente. No óleo da melaleuca, pode-se destacar o sesquiterpeno terpinen-4-ol, seguido do γ -terpineno e do α -terpineno, nas concentrações de: 57,8% (6h), 59,4% (12h) e 58,0% (18h); 8,2% (6h), 4,5% (12h) e 6,8% (18h); 1,5% (6h), 2,6% (12h) e 3,0% (18h), respectivamente, também foram encontrados *p*-cimeno, α -terpinoleno e α -terpineol. Os resultados obtidos no trabalho mostraram a importância de se observar o horário de coleta das plantas medicinais, de acordo com a finalidade da obtenção do óleo, sejam eles para uso pessoal ou para fins comerciais.

PALAVRAS-CHAVE: eugenol, extração, hidrodestilação.

ABSTRACT

The present project aimed to extract the essential oil of two species of medicinal plants: Basil (*Ocimum gratissimum L.*) and Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) present in the Medicinal Garden of the IFC - Campus Araquari, calculate their yields, determine the compounds present in the oils and then compare the results obtained with results of already published articles. The climatic conditions were observed in the days of collection through data from the meteorological center of the Federal Institute of Santa Catarina - Campus Araquari. The collections were carried out on 30 August and 1° September 2017, extractions performed by hydrodistillation using a clevenger type apparatus and the chemical composition of each oil determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The samples were collected at hours 6, 12 and 18, with the yield of the extractions of Basil being 1.1%, 1.1% and 0.8%, respectively. Melaleuca extraction yields were 1.3% at all three schedules evaluated. In the chemical composition of basil oil it was possible to observe the predominance of the compounds eugenol and o-cimene at concentrations of 86,8% (6h), 94,7% (12h) and 91,8% (18h) and 3,5% (6h), 0,2% (12h) and 1,2% (18h), respectively. In the oil of melaleuca, it is possible to emphasize the sesquiterpene terpinen-4-ol, followed by γ -terpinene and α -terpinene, at concentrations of 57,8% (6h), 59,4% (12h) and 58,0% (18h); 8,2% (6h), 4,5% (12h) and 6,8% (18h); 1,5% (6h), 2,6% (12h) and 3,0% (18h), respectively, were also found p-cimene, α -terpinolene and α -terpineol. The results obtained in the work, showed the importance of observing the time of collection of medicinal plants, according to the purpose of obtaining the oil, whether for personal use or for commercial purposes.

KEYWORDS: medicinal plants, essential oils, circadian variation.

Sumário

1 TEMA	5
1.1 DELIMITAÇÃO DO TEMA	5
2 OBJETIVOS	5
2.1 OBJETIVO GERAL	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
3 INTRODUÇÃO	5
4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	6
4.1 PLANTAS MEDICINAIS	6
4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS	7
4.3 FATORES ABIÓTICOS QUE INFLUENCIAM NO ÓLEO ESSENCIAL	8
4.3.1 Temperatura e Luminosidade	8
4.3.2 Sazonalidade	9
4.3.3 Estádio de desenvolvimento	9
4.3.4 Horário de coleta	9
4.3.5 Água	9
4.3.6 Nutrição	9
4.4 <i>MELALEUCA ALTERNIFOLIA</i>	10
4.5 ALFAVACA	11
5 METODOLOGIA DA PESQUISA	12
5.1 COLETA DAS PLANTAS	12
5.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL	12
5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA	13
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
6.1 DADOS METEOROLÓGICOS DO LOCAL DE COLETA	13
6.2 RENDIMENTOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	14
6.2 CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	16
7 CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS	19
APÊNDICE	23

1 TEMA

Extração dos óleos essenciais de plantas medicinais e análise da variação circadiana.

1.1 DELIMITAÇÃO DO TEMA

Extração e determinação da composição química dos óleos essenciais de duas plantas medicinais presentes no Horto Medicinal do Instituto Federal Catarinense – *Campus Araquari* e análise da variação circadiana.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a extração e verificar a variação circadiana dos componentes principais dos óleos essenciais das espécies de plantas medicinais *Melaleuca* e *Alfavaca*, cultivadas no Horto Medicinal do IFC – *Campus Araquari*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair os óleos essenciais das plantas medicinais utilizando a técnica de hidrodestilação;
- Fazer a análise da variação circadiana no teor dos óleos essenciais;
- Obter os dados meteorológicos no dia da coleta das plantas medicinais;
- Fazer a análise quantitativa e qualitativa dos óleos essenciais por meio de cromatografia gasosa e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas;
- Comparar os resultados adquiridos no projeto com dados já publicados.

3 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais sempre foram utilizadas, e era o principal meio terapêutico conhecido para tratamento da população. Atualmente, muitos fatores, como, por exemplo, o alto custo dos medicamentos industrializados e o difícil acesso da população em geral à assistência médica, têm contribuído para o aumento da utilização das plantas como recurso medicinal (ISERHARD et al., 2009). A maioria das plantas medicinais ainda não possuem informações técnicas suficientes, o que leva a uma grande preocupação no estudo e na caracterização da composição química das plantas medicinais e os possíveis efeitos colaterais no organismo, para que seja possível garantir uma maior eficácia e segurança em seu uso

(CALIXTO, 2000). Outro ponto que motiva o estudo desses compostos é a expectativa da descoberta de novos compostos, ou novas funções para compostos já descobertos, que auxiliam na cura de doenças. Esses compostos podem ser retirados das plantas através de diversas técnicas, dentre elas: extrações com solventes orgânicos, obtendo assim os chamados “extratos” e também extrações com água ou vapor de água, obtendo os óleos essenciais. As técnicas comumente empregadas para extração de óleos essenciais são: hidrodestilação, destilação a vapor, extração por solventes, maceração, enfleurage, gases supercríticos (SANTOS et al., 1998).

Óleos essenciais são compostos voláteis que podem ser extraídos de todas as partes de plantas aromáticas. A composição química desses óleos é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores, como, por exemplo, composição do solo e fertilização (nutrição), estímulos decorrentes do ambiente em que a planta se encontra podem redirecionar a rota metabólica, o que ocasiona a biossíntese de diferentes compostos e concentrações. Dentre estes outros fatores, podem-se ressaltar também as interações planta/microrganismos, planta/insetos e planta/planta; idade, estágio de desenvolvimento e fatores abióticos. Estes fatores apresentam correlações entre si, podendo exercer influência conjunta (ou isolada) no metabolismo secundário.

Para verificar uma possível variação circadiana na composição química dos óleos essenciais, duas espécies de plantas medicinais do horto medicinal do IFC-Araquari foram selecionadas e realizadas as extrações e análises dos seus óleos essenciais. As extrações foram realizadas por hidrodestilação em aparelho Clevenger modificado e os óleos foram analisados por métodos cromatográficos.

4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

4.1 PLANTAS MEDICINAIS

As plantas medicinais podem ser definidas como aquelas que possuem atividade biológica com um ou mais princípios ativos úteis à saúde humana, obtidos e elaborados exclusivamente a partir de matérias primas ativas vegetais (BATALHA et al., 2003). O tratamento feito com uso de plantas medicinais é denominado de fitoterapia, e os fitoterápicos são os medicamentos produzidos a partir dessas plantas. Grande parte da população mundial tem confiança na eficácia das plantas medicinais. Com isso, destaca-se a importância de

conhecemos os componentes presentes nessas plantas medicinais. A maioria dessas plantas é utilizada com base no conhecimento popular, observando-se a carência do conhecimento científico de suas propriedades farmacológicas e toxicológicas (FIRMO et al., 2011).

4.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são compostos aromáticos, voláteis que podem ser extraídos de raízes, caules, folhas, flores ou de todas as partes de plantas aromáticas. Quando são extraídos de diferentes órgãos de uma mesma planta, podem apresentar composição química e características físico-químicas diferentes (SIMÕES; SPITZER, 2004). Estão associados a várias funções relacionadas à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema, tendo um papel fundamental na defesa contra microrganismos e predadores, e na atração de insetos e outros agentes fecundantes (STEFFENS, 2010). Possuem grande valor econômico e são utilizados nas indústrias de perfumaria, cosmética, alimentícia e farmacêutica.

O óleo essencial é formado principalmente por misturas complexas de terpenos que são compostos orgânicos e que apresentam fórmula química geral $(C_5H_8)_n$ (“n” número de isoprenos). Alguns exemplos de misturas de terpenos nos óleos são: terpenos, terpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. Também podem conter pequenas quantidades de diterpenos e outros componentes em função da planta aromática (SERAFINI et al., 2001). Podemos observar a classificação dos terpenos na Tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos terpenos

Número de carbonos	Classe
10	Monoterpenos
15	Sesquiterpenos
20	Diterpenos
30	Triterpenos

Essas substâncias apresentam estruturas diversas como ácidos carboxílicos, alcoóis, aldeídos, cetonas, ésteres, fenóis e hidrocarbonetos dentre outras, cada qual com sua característica aromática e ação bioquímica (WOLFFENBÜTTEL, 2007). Alguns dos principais compostos presentes no óleo essencial podem ser observados na Figura 1 a seguir:

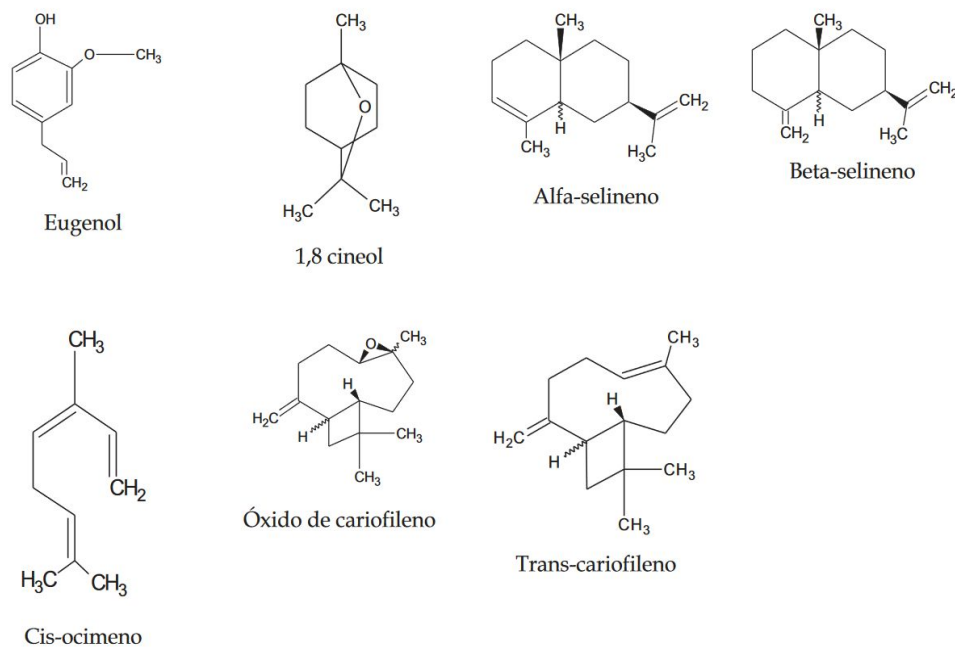


Figura 1. Estruturas de compostos de óleos essenciais. Fonte: (MORAIS et al., 2009).

Os óleos essenciais podem ser isolados e caracterizados por meio de sua maior característica: a volatilidade e insolubilidade em água e a solubilidade em solventes orgânicos. Em temperatura ambiente, apresentam-se sob a forma de líquidos oleosos, de aroma agradável e intenso, mas existem também os de aroma desagradáveis e os inodoros (COSTA, 1994). Geralmente são incolores ou levemente amarelados, com sabor ácido e picante, pouco estáveis em presença de luz, calor e ar (SIMÕES & SPITZER, 1999; SAITO & SCRAMIN, 2000).

4.3 FATORES ABIÓTICOS QUE INFLUENCIAM NO ÓLEO ESSENCIAL

4.3.1 Temperatura e Luminosidade

A temperatura e a luminosidade apresentam papel relevante na fotossíntese, pois a interação destes fatores garante um ambiente ideal para o processo fisiológico (SOUZA et al.,

2008). Tanto a temperatura do ar como a do solo e a radiação solar afetam os processos de crescimento, desenvolvimento e produção dos metabólitos secundários das plantas (ORTOLANI; CAMARGO, 1987). Os óleos essenciais, na maioria das vezes, apresentam um aumento em seu teor quando as plantas se encontram em ambientes com temperatura elevada, porém, em dias muito quentes, pode-se observar perda excessiva dos mesmos (EVANS, 1996).

4.3.2 Sazonalidade

A composição química das plantas e o teor do óleo essencial obtido podem sofrer alterações durante as estações do ano. A época em que uma planta é coletada é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano.

4.3.3 Estádio de desenvolvimento

A idade e o estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar não apenas na quantidade total de metabólitos secundários produzidos, mas também nas proporções relativas dos componentes da mistura. Tecidos mais jovens geralmente apresentam grande atividade biossintética, aumentando a produção de vários compostos, dentre estes, os óleos essenciais.

4.3.4 Horário de coleta

Ao longo do dia, pode-se observar que o aroma característico de cada planta fica mais acentuado, sendo possível acreditar que a concentração de óleos essenciais seja maior naquele período, ou que esteja ocorrendo alteração na proporção relativa entre os componentes deste mesmo óleo essencial. Assim, o horário de coleta das plantas torna-se um aspecto relevante na produção de óleos essenciais. O relógio biológico é importante para as plantas se prepararem para o dia e para a noite, armazenando energia para o crescimento, adaptando-se não somente para responder à luz, mas também antecipar e ajustar as condições fisiológicas em resposta às mudanças ambientais.

4.3.5 Água

O fator hídrico afeta o crescimento e desenvolvimento da planta, (ORTOLANI; CAMARGO, 1987) e apresenta correlação direta na concentração de metabólitos secundários.

Sua falta e seu excesso causam efeitos desastrosos no desenvolvimento vegetal (HAAG, 1987). A deficiência hídrica, caracterizada por diferentes formas e intensidades, é a principal causa de perda de produtividade e, embora os excedentes hídricos sejam um fator importante, causam menos problemas que a seca (ORTOLANI; CAMARGO, 1987).

4.3.6 Nutrição

De todos os fatores que podem interferir nos princípios ativos das plantas, a nutrição é um dos que requerem maior atenção, pois o excesso ou a deficiência de nutrientes pode estar diretamente relacionada à variação na produção de substâncias ativas (MARTINS et al., 1995).

4.4 MELALEUCA ALTERNIFOLIA

A espécie *Melaleuca alternifolia* Cheel pertence à família *Myrtaceae*, que é dividida em duas subfamílias: *Myrtoideae* e *Leptospermoideae*. O gênero *Melaleuca*, pertencente à subfamília *Leptospermoideae*, que ocorre, principalmente na Austrália, Malásia e Polinésia. É nativa da costa sudeste da Austrália, conhecida na região como “Tea Tree” (árvore de chá), florescendo no verão, principalmente em áreas de pântano, próximas de rios (RUSSEL; SOUTHWELL, 2002). É uma árvore pequena dentre 5 a 7 m de altura, de casca fina, semelhante a folhas de papel e folhas afiladas de aproximadamente 20 mm de comprimento (Figura 2). O óleo de melaleuca é um medicamento fitoterápico tradicionalmente indicado como cicatrizante, hemostático e antiinflamatório, aplicado por via tópica ou como anti-séptico bucal no tratamento de ferimentos, queimaduras traumáticas e solares, mau hálito, problemas de infecções da garganta e manchas da pele (OLIVEIRA, 2002). Possui comprovada ação antimicrobiana contra bactérias e bolores alteradores e/ou patogênicos, alguns vírus, microrganismos resistentes a antibióticos, além de forte atividade repelente contra mosquitos, pulgas, piolhos entre outros.

Na extração do óleo essencial da *Melaleuca alternifolia* o rendimento é de aproximadamente 1 a 2% do peso fresco da planta utilizada (CARSON, 1993). O óleo essencial desta planta contém aproximadamente 97 componentes, sendo os principais: terpinen-4-ol, 1,8-cineol, α -terpineno, γ -terpineno, α -pineno, β -pineno, α -terpineol, p-cimeno e álcoois sesquiterpênicos, que representam cerca de 90% do óleo (BROPHY et al., 1989;

MURTAGH; SMITH, 1996). A qualidade comercial do óleo essencial de *M. alternifolia* é determinada pelas concentrações dos compostos terpinen-4-ol, e 1,8-cineol. O primeiro componente é responsável pela atividade antimicrobiana sendo que sua concentração no óleo deve ser no mínimo 30%, e o segundo componente que possui propriedades irritantes à pele, deve ter uma concentração máxima de 15% (CARSON; RILEY, 1995).



Figura 2. Melaleuca do horto medicinal do IFC – *Campus Araquari*.

4.5 ALFAVACA

Alfavaca-cravo é o nome dado a uma variedade de *O. gratissimum* L., e refere-se ao constituinte principal do seu óleo (eugenol), que pelo seu cheiro típico, forte e aromático lembra o cravo-da-índia. Popularmente chamada como Manjerição-de-folha-larga, é uma planta originária da Ásia e da África, que chegou ao Brasil através da colônia italiana e atualmente está presente em todo território brasileiro (MARTINS et al., 2009). Caracteriza-se por seus arbustos, que podem atingir de 40 cm a 1 m de altura (Figura 3) e seu aroma doce. Seu aroma e sabor trazem diversas finalidades para seu uso, tanto na culinária, para temperos de massas, molhos e carnes, quanto para planta ornamental, medicinal e aromática (FRANCO et al., 2007).

Todas as partes da planta possuem óleo essencial, sua produção máxima ocorre por volta das 12h (cerca de 98%), pois sua concentração é diretamente influenciada pela quantidade de luz solar recebida (FRANCO, et al 2007). No óleo essencial de *O. gratissimum* L., o eugenol foi o constituinte químico majoritário (92,89%) seguido de concentrações menores de Germacreno-D (0,38%), β -Bisaboleno (5,92%) e *trans*-Cariofileno (0,81%)

(AQUINO et al., 2012). Segundo Rocha, foram identificados oito constituintes químicos na análise do óleo essencial e como constituintes majoritários foram identificados: cineol (20,86%) e eugenol (62,87%), representando 98,34%.

Essa planta possui uma grande variedade de subespécies devido à sua facilidade de hibridação (EHLERT et al., 2004) e encontra-se então uma dificuldade em classificar as mais de 60 variações dessa espécie. Seu óleo essencial, que é muito valorizado no mercado internacional em razão do alto teor de linalol, é usado também para caracterizar os manjericões em: Europeu, Francês ou Doce, Egípcio, Reunião ou Comoro, Bulgário, Java ou Cinamato de Metila, e Eugenol sendo o primeiro o que contém maior teor de linalol e metil-cavicol (BLANK et al., 2004). Estudos têm verificado a bioatividade do óleo essencial dessa espécie sobre organismos de grande patogenicidade (MARTINS et al., 2009). A extração do óleo essencial das folhas pode ser feita através de hidrodestilação.



Figura 3. Alfavaca-cravo do horto medicinal do IFC – *Campus Araquari*.

5 METODOLOGIA DA PESQUISA

5.1 COLETA DAS PLANTAS

O material vegetal foi coletado no horto medicinal do IFC – *Campus Araquari*, onde duas espécies de plantas foram selecionadas, sendo elas: *Ocimum Gratissimum L.* e *Melaleuca Alternifolia C.*. Cada planta foi coletada em um dia diferente, a *Melaleuca* foi coletada no dia 30 de agosto e a *alfavaca* no dia 1º de setembro. Para analisar a influência da

variação circadiana na composição química e quantidade de óleo essencial nas plantas, as amostras foram coletadas em horários específicos: às 6h, às 12h e às 18h.

No dia da coleta ainda, foram obtidos os principais dados meteorológicos como: temperatura(°C), sensação térmica(°C), velocidade do vento(km/h) e umidade relativa do ar (%).

5.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a extração do óleo essencial, após cada colheita, foi pesado 50 gramas do material vegetal, este triturado e submetido à hidrodestilação em duplicata para a Alfavaca e triplicata para a Melaleuca. A extração foi realizada em aparelho Clevenger modificado por 3 horas (SILVA et al., 2010). Após a hidrodestilação, o produto da extração (hidrolato + óleo) foi colocado em um funil de decantação e foi feita a partição utilizando éter de petróleo. A fase contendo éter + óleo foi então separada, secada com sulfato de magnésio, filtrada e o solvente eliminado com o auxílio do evaporador rotativo. Após passar pelo evaporador rotativo o óleo foi retirado do balão com o auxílio do diclorometano, colocado em um frasco apropriado previamente pesado, para que esse segundo solvente fosse evaporado e armazenado em freezer para posterior análise cromatográfica.

5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA

A quantificação e identificação dos constituintes dos óleos essenciais foram realizadas no Instituto de Química da Universidade de São Paulo. Para tal, foi utilizado um cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-2010) e um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (Shimadzu GCMS-QP2010), ambos equipados com coluna de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm) e Rtx-Wax (30 m x 0,25 mm, espessura do filme 0,25 µm). O gás de arraste utilizado foi o hélio com fluxo de 1,8 mL min⁻¹. A temperatura do injetor foi de 220 °C, sendo a temperatura inicial da coluna 40 °C mantida por 2 minutos, seguido de aquecimento a 3 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo isotermicamente por 15 min. O volume de injeção da amostra foi de 1,0 µL (10 mg mL⁻¹ em CH₂Cl₂) com razão de split 1:10, a pressão da coluna foi de 100 kPa e a temperatura da interface 240 °C. Com relação ao espectrômetro de massas, o processo de ionização foi por impacto de elétrons (70 eV) e a amplitude de varredura foi de 30 a 600 Da. As identificações dos componentes foram realizadas pela comparação de seus tempos de retenção, relativos à série de alcanos (C₉ – C₂₉),

e pela comparação dos espectros de massas com o banco de dados da biblioteca (Wiley e NIST 11) ou com a literatura (ADAMS, 1995).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 DADOS METEOROLÓGICOS DO LOCAL DE COLETA

As plantas foram coletadas nos dias 30 de agosto e 1º de setembro, e, neste período, buscamos através da estação meteorológica do Instituto Federal Catarinense – *Campus Araquari*, conhecer os Dados Meteorológicos desse período conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Dados meteorológicos da estação meteorológica do IFC dos dias 30/08 e 1º/09.

Dia	Horário	Temperatura (°C)	Sensação Térmica (°C)	Velocidade do Vento (Km/h)	Umidade Relativa do Ar (%)
30/08	6h00	17,5	14,0	0,0	95
	12h00	25,8	24,6	2,5	98
	18h00	20,9	17,4	9,7	97
1º/09	6h00	18,0	14,4	0,0	96
	12h00	21,3	20,6	8,0	96
	18h00	19,6	14,9	4,8	99

6.2 RENDIMENTOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Após ter sido realizada as extrações, obteve-se o rendimento médio de cada extração, para cada planta, como citado nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Dados da massa do óleo e rendimentos da extração, médio e contemplado na literatura para *Ocimum Gratissimum L.*

Nome	Massa do óleo (mg)	Rendimento (%)	Horário da coleta
Alfavaca 01* ¹	1466,9	1,4669	6h
Alfavaca 02* ²	587,2	0,7829	6h
Alfavaca 03	681,1	1,3622	12h
Alfavaca 04	459,6	0,9192	12h
Alfavaca 05	341,5	0,6830	18h
Alfavaca 06	480,6	0,9612	18h

*¹ utilizou-se 100g de biomassa vegetal.

*² utilizou-se 75g de biomassa vegetal.

Rendimento médio dos horários de coleta: 6h = 1,12%; 12h = 1,14% e 18h = 0,82%.

Rendimento médio: 1,02 %

Rendimentos encontrados na Literatura: 0,21% (AQUINO et al., 2012).

Tabela 4 - Dados da massa do óleo e rendimentos da extração, médio e contemplado na literatura para *Melaleuca Alternifolia C.*

Nome	Massa do óleo (mg)	Rendimento (%)	Horário da coleta
Melaleuca 01	660,0	1,320	6h
Melaleuca 02	590,0	1,180	6h
Melaleuca 03	706,0	1,412	6h
Melaleuca 04	633,0	1,266	12h
Melaleuca 05	729,0	1,458	12h
Melaleuca 06	726,0	1,452	12h

Melaleuca 07	641,0	1,282	18h
Melaleuca 08	827,0	1,654	18h
Melaleuca 09	520,5	1,041	18h

Rendimento médio dos horários de coleta: 6h = 1,304%; 12h = 1,392% e 18h = 1,326%.

Rendimento médio: 1,34%.

Rendimentos encontrados na Literatura: 0,82% (OLIVEIRA et al., 2015).

6.2 CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais foram levados para a análise de CG/DIC e CG/EM. Com os resultados obtidos (Figura 4), os constituintes químicos dos óleos foram identificados, pela comparação dos seus espectros de massas com os espectros da literatura, além da comparação com os índices de retenção de Kovats.

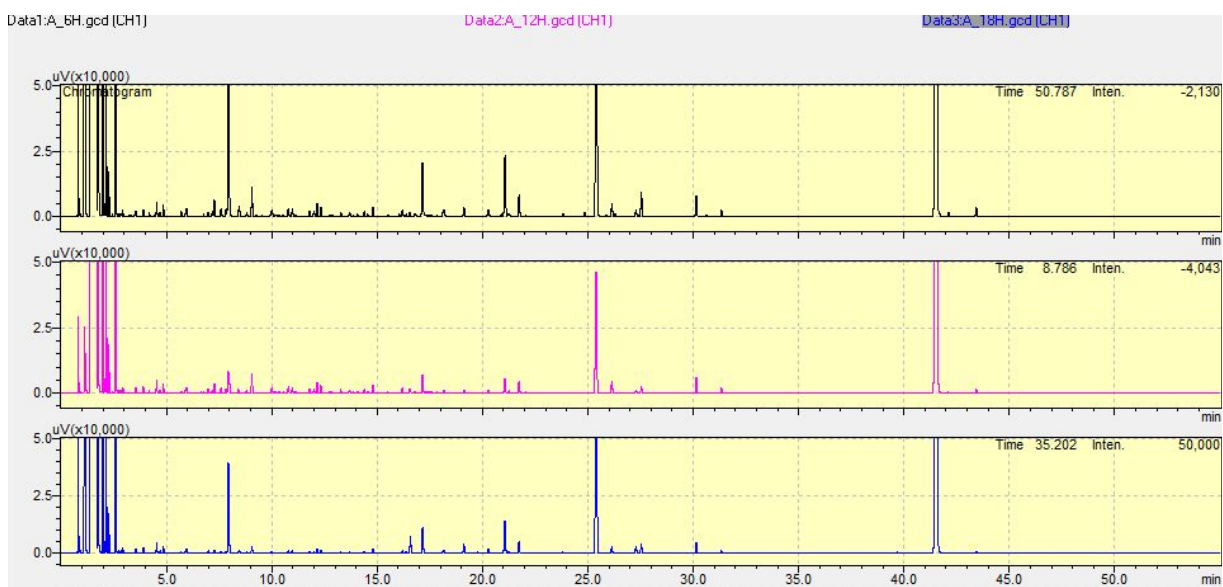


Figura 4. Cromatograma da variação circadiana do óleo essencial da Alfavaca.

Foram encontrados em maior quantidade no óleo essencial da Alfavaca: 28 compostos às 6h, 33 compostos às 12h e 24 compostos às 18h, sendo que 16 deles com o mesmo tempo de retenção. Foram identificados os dois principais constituintes químicos majoritários (figura 5). Na composição química do óleo da alfavaca pôde-se observar a predominância dos compostos eugenol e (*cis*)-o-cimeno nas concentrações de (6h: 86,80%; 12h: 94,77% e 18h:

91,82%) e (6h: 35,8%; 12h: 2,74%; 18h: 12,1%), respectivamente. Esses dados podem ser observados no Gráfico 1.

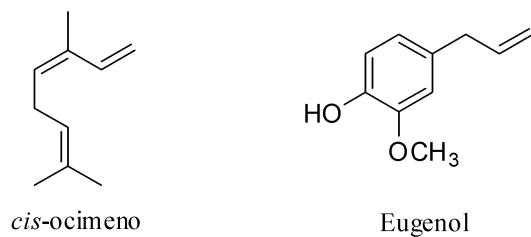


Figura 5. Estruturas dos compostos majoritários da Alfavaca

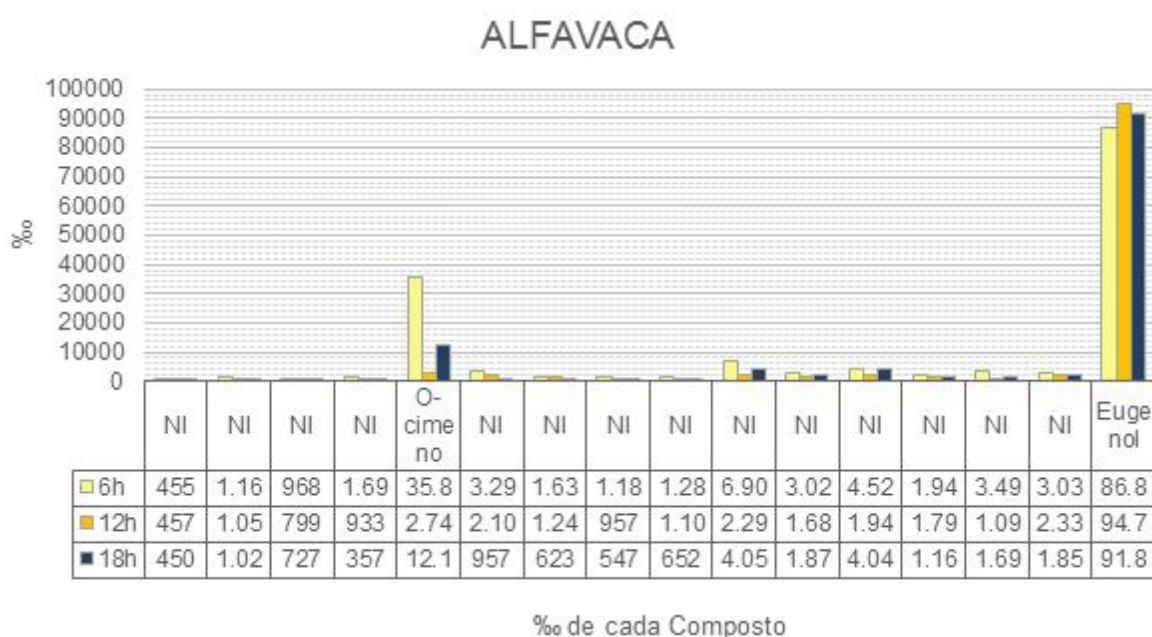


Gráfico 1. Rendimento e compostos obtidos na Alfavaca.

NI - não identificado

Segundo Aquino, no óleo essencial de *O. gratissimum* L., o eugenol foi o constituinte químico majoritário (92,89%) seguido de concentrações menores de Germacreno-D (0,38%), β -Bisaboleno (5,92%) e *trans*-Cariofileno (0,81%).

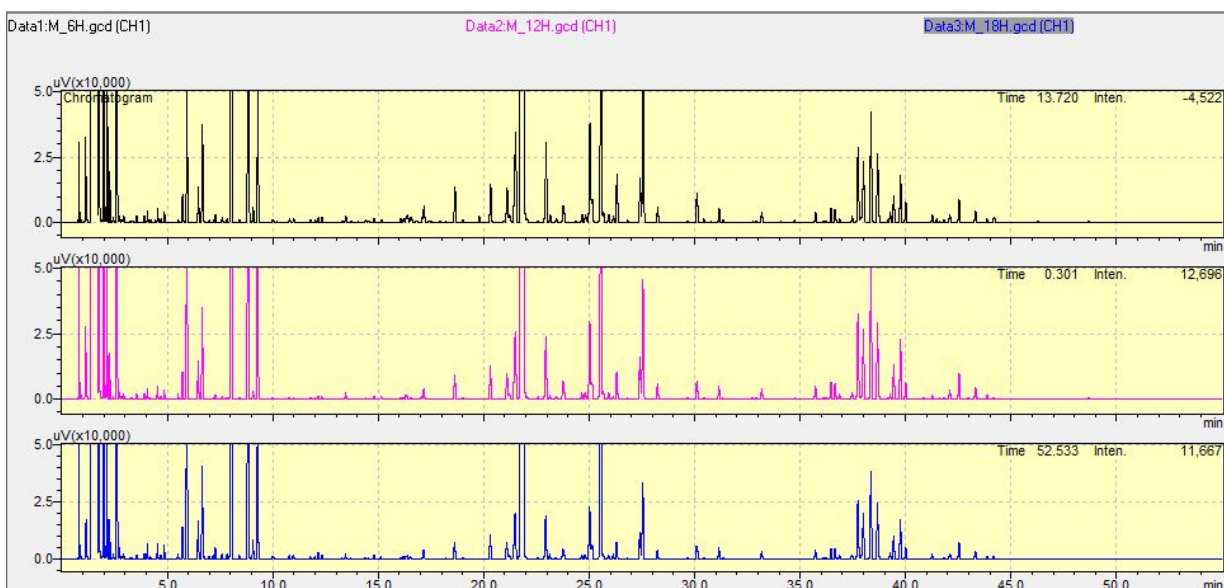


Figura 6. Cromatograma da variação circadiana do óleo essencial de Melaleuca.

Foram encontrados em maior quantidade no óleo essencial da Melaleuca: 34 compostos às 6h e 31 compostos às 12h e às 18h. Sendo que observamos 14 compostos com o mesmo tempo de retenção, e dentre eles, foram identificados seis principais constituintes químicos (figura 7). No óleo da melaleuca, pode-se destacar o sesquiterpeno terpinen-4-ol, seguido do γ -terpineno e do α -terpineno, nas concentrações de: (6h: 57,87%; 12h: 59,45% e 18h: 58,01%); (6h: 8,20%; 12h: 4,52% e 18h: 6,85%) e (6h: 1,55%; 12h: 2,61% e 18h: 3,04%), também foram encontrados *p*-cimeno, α -terpinoleno e α -terpineol, nas concentrações de: (6h: 7,98%; 12h: 11,54%; 18h: 11,94%), (6h: 1,47%; 12h: 1,92%; 18h: 1,91%) e (6h: 4,19%; 12h: 4,46%; 18h: 4,31%). Esses dados podem ser observados no Gráfico 2.

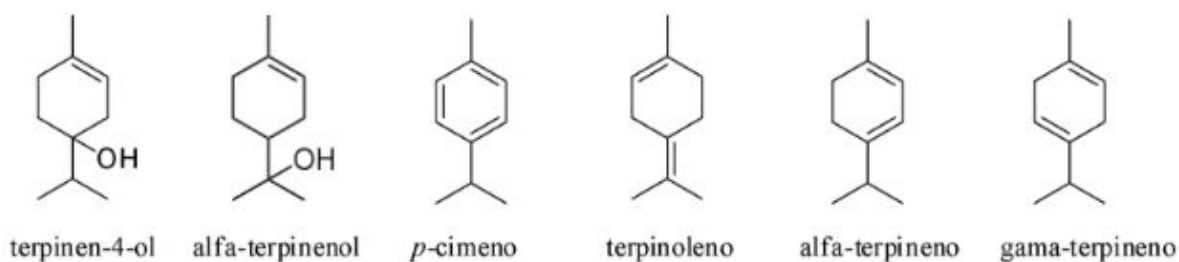


Figura 7. Estruturas dos compostos majoritários da Melaleuca.

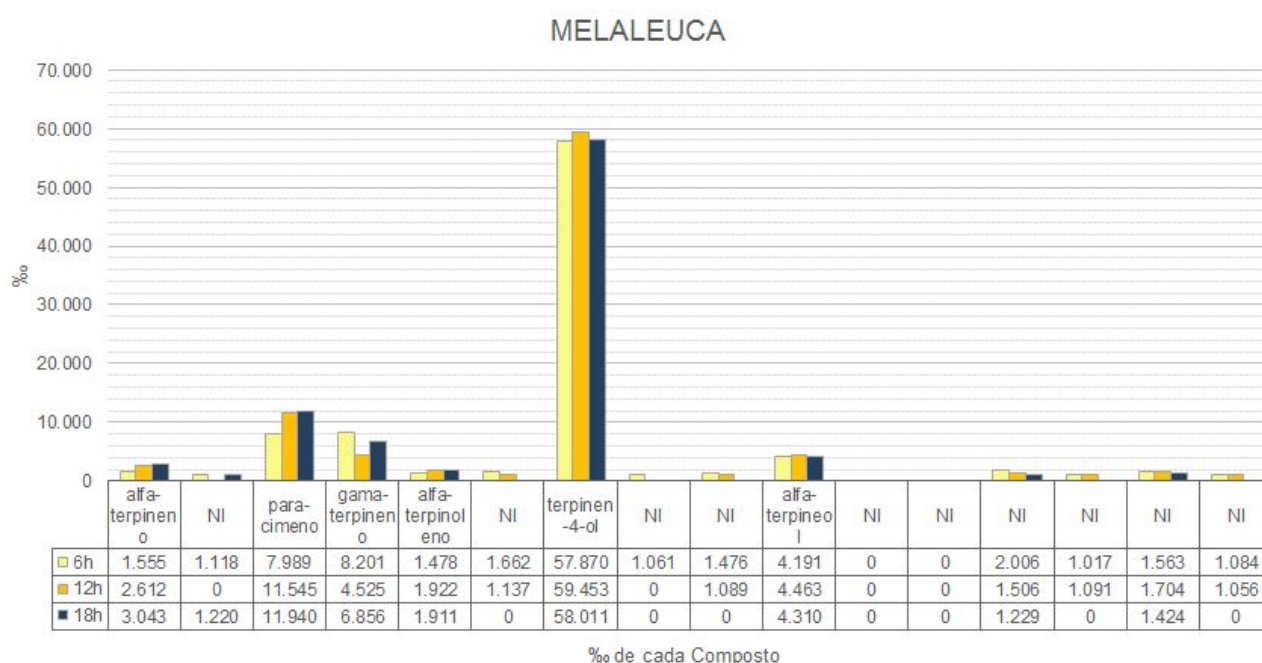


Gráfico 2. Rendimento e compostos obtidos na Melaleuca.

NI - não identificado

No entanto, segundo Castelo os constituintes majoritários obtidos foram: terpinen-4-ol (36,6%), γ -terpineno (18,2%); α -terpineno (7,1%); p-cimeno (5,5%); α -terpinoleno (3,0%); α -terpineol (2,5%); 1,8-cineol (1,4%) e limoneno (1,1%).

7 CONCLUSÃO

Faz-se necessária a análise da variação circadiana das plantas devido a possível mudança na composição e no rendimento do óleo essencial, o que pode comprometer a utilização dos mesmos, seja para consumo pessoal ou para fins comerciais. Com os resultados obtidos no trabalho, é possível afirmar que a melaleuca pode ser coletada em qualquer horário do dia e a alfavaca ao meio dia por apresentar maior concentração de eugenol, além disso, variações observadas nos diversos resultados de trabalhos podem ser em função dos fatores ambientais e genéticos das plantas.

REFERÊNCIAS

- AQUINO C. F. et al. Ação e caracterização química de óleos essenciais no manejo da antracnose do maracujá. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 4, p. 1059-1067, Dezembro 2012.
- BATALHA, M.O. et al. Plantas medicinais no estado de São Paulo: Situação atual, perspectivas e entraves ao desenvolvimento. **Florestar estatístico**, São Paulo v.6, n.15, 2003.
- BLANK, A.F. et al. Caracterização morfológica e agrônômica de acessos de manjerição e alfavaca. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p. 113-116, jan-mar 2004.
- BROPHY, J.J. et al. Gas chromatography quality control for oil of melaleuca terpin-4-ol-type (Australian tea tree). *J. Agric. Food Chem.*, Kensington, v. 37. p. 1330-1335, 1989.
- CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Braz J Med Biol Res.** p. 89-179, 2000.
- CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Letters in Appl. Microbiol.*, Nedlands, v. 16, p. 49-55, 1993.
- CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J. Appl. Bacteriol.**, Canberra, v. 78, p. 264-269, 1995.
- CASTELO A. V. M. et al. Rendimento e composição química do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell, na região do Distrito Federal Agrária - *Revista Brasileira de Ciências - Agrárias Recife*, PE, v.8, n.1, p.143-147, 2013.
- COSTA, A. F. *Farmacognosia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, p. 1031, 1994.
- EVANS, W. C.; **Trease and Evans' Pharmacognosy**, 14th ed., WB Saunders Company: London, 1996, cap. 7.
- EHLERT, P.A.D.; et al. Propagação vegetativa da alfavaca-cravo utilizando diferentes tipos de estacas e substratos. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.22, n1, p. 10-13, jan-mar 2004.
- FIRMO, W. C. A., et al. **Contexto histórico, uso popular concepção científica sobre plantas medicinais, cadernos de pesquisa**, São Luís/MA, 2011.
- FRANCO, A. L. P.; et al. Avaliação da Composição Química e Atividade Antibacteriana dos Óleos Essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (ALFAZEMA), *Ocimum gratissimum* L. (ALFAVACA-CRAVO) E *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO). **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 4, n.2, p. 208-220, 2007.
- HAAG, H.P. A nutrição mineral e o ecossistema. In: CASTRO, R.C. et al. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. p. 49-69, 1987.

ISERHARD, A.R.M. et al. Práticas culturais de cuidados de mulheres mães de recém-nascido de risco do Sul do Brasil. **Esc Anna Nery**. p.116-22, jan./mar. 2009.

MARTINS, E.R. et al. **Plantas medicinais**, Viçosa. UFV, Imprensa universitária. p.22, 1995.
MARTINS, J. R.; et al. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v.39, n.1, jan./fev. 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br>>. Acesso em: 20 abr. 2017.

MORAIS, S.A.L. Óleos Essenciais no Controle Fitossanitário. Capítulo 9.; BETTIOL, W.; 2009.

MURTAGH, G. J.; SMITH, G. R. Mouth of havet and yield components of tea tree. II. Oil concentration, composition, and yield. **Aust. J. Agric. Res.**, Wollongbar, v.47. p.817-827, 1996.

OLIVEIRA, M. I. et al., Extração e caracterização do óleo essencial de melaleuca e desenvolvimento de uma formulação semi-sólida de uso tópico. **Revista Jovens Pesquisadores**, Santa Cruz do Sul, v. 5, n. 1, p. 50-59, 2015.

OLIVEIRA, T. T. de. Avaliação toxicológica, caracterização de atividades biológicas, toxicologia e controle de qualidade do fitoterápico Larix. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, [s. n.], 2002. 64p.

ORTOLANI, A.A; CAMARGO, M.B.P. Influência dos fatores climáticos na produção. In: CASTRO, R.C. et al. **Ecofisiologia da produção agrícola**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. p. 71-81, 1987.

ROCHA J. E. Estudo químico, toxicidade e atividade antibacteriana do óleo essencial de ocimum gratissimum. V Semana de Iniciação Científica da Faculdade de Juazeiro do Norte. 2014.

RUSSEL, M.; SOUTHWELL, I. Monoterpenoid accumulation in Melaleuca alternifolia seedlings, **Phytochemistry**. p. 59, 709-716, 2002.

SAITO, M.L.; SCRAMIN, S. **Plantas aromáticas e seu uso na agricultura**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente (Série Documentos, n. 20). p. 48, 2000.

SANTOS, A. S. et al. Sesquiterpenes on Amazonian Piper Species. **Acta Amazonica**, v.28, n. 2, p. 127-130, 1998.

SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional. In: SERAFINI, L.A. et al. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001.

SILVA C.A. et al. **Caracterização química do óleo essencial da casca do citrus sinensis obtido por hidrodestilação em aparelho clevenger**. Belém-PA, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre: UFRGS, p. 467-95, 2004.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. Universidade-UFRGS; Florianópolis: Ed. da UFSC. p. 387-415, 1999.

SOUZA, J.R.P. et al. Desenvolvimento da espinheira-santa sob diferentes intensidades luminosas e níveis de poda. **Horticultura Brasileira**, v.26. p.40-44, 2008.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos Óleos Essenciais obtidos por destilação arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. Tese de mestrado em engenharia química e tecnológica de materiais. Pontifícia, Universidade Católica Do Rio Grande Do Sul/RS, 2010.

WOLFFENBÜTTEL, N.A. Óleos essenciais. **Informativo CRQ-V**, n.105. p.6 e 7, nov./dez. 2007.

APÊNDICE

TAXONOMIA DAS PLANTAS SEGUNDO ITIS (Integrated Taxonomic Information System).		
	Melaleuca	Alfavaca
Reino	Plantae	Plantae
Subreino	Viridiplantae	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta	Streptophyta
Superdivisão	Embryofita	Embryophyta
Divisão	Traqueophyta	Traqueophyta
Subdivisão	Spermatophytina	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida	Magnoliopsida
Superordem	Rosanae	Asteranae
Ordem	Myrtales	Lamiales
Família	Myrtaceae	Lamiaceae
Gênero	Melaleuca	Ocimum L.
Espécie	<i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel	<i>Ocimum gratissimum</i> L.