

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE  
ÓLEOS ESSENCIAIS DE EUCALIPTO E SEU  
EFEITO SOBRE O PROTOZOÁRIO  
TRIPANOSOMATÍDEO  
*Herpetomonas samuelpessoai***

**NILMAR EDUARDO ARBEX DE CASTRO**

**2006**

**NILMAR EDUARDO ARBEX DE CASTRO**

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
EUCALIPTO E SEU EFEITO SOBRE O PROTOZOÁRIO  
TRIPANOSOMATÍDEO *Herpetomonas samuelpessoai***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

**Orientador**  
**Prof. Dr. Gabriel José de Carvalho**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS – BRASIL**  
**2006**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Castro, Nilmar Eduardo Arbex de

Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai* / Nilmar Eduardo Arbex de Castro. -- Lavras: UFLA, 2006.

82 p. : il.

Orientador: Gabriel José de Carvalho.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Eucalipto. 2. Cineol. 3. Citronelal. 4. Óleo essencial.  
5. Tripanosoma. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 665.3

**NILMAR EDUARDO ARBEX DE CASTRO**

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
EUCALIPTO E SEU EFEITO SOBRE O PROTOZOÁRIO  
TRIPANOSOMATÍDEO *Herpetomonas samuelpessoai***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitotecnia, para obtenção do título de “Doutor”.

**APROVADA em 21 de março de 2006**

Prof. Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes - UFLA/DAG

Pesq. Dr<sup>a</sup> Márcia Ortiz Mayo Marques - IAC

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso - UFLA/DQI

Prof. Dr. Renato Innecco - UFC

**Prof. Dr. Gabriel José de Carvalho  
UFLA  
(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL**

Aos meus pais,

Nilza e Nilson

Aos meus irmãos,

Inês, Marilza, Cristina, Nilson e Marcos (*in memoriam*)

Às minhas filhas,

Ágata e Jade

Aos meus amigos,

Aos meus mestres,

A Deus, por presentear-me com a vida e nela colocar essas pessoas.

Dedico e ofereço

## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Gabriel José de Carvalho, pela confiança, apoio e oportunidade de trabalhos nesta Universidade, desde a criação do Núcleo de Estudos em Agricultura Orgânica (NEAGRO), até esta orientação.

À professora Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso, pela co-orientação desde o mestrado, meus sinceros agradecimentos por todos os ensinamentos, e pelo grande apoio.

Ao professor Luiz Antônio Augusto Gomes, pelas contribuições e companheirismo durante esta jornada, além da bandeira da agricultura orgânica.

À Dr<sup>a</sup> Márcia Ortiz Mayo Marques (IAC), pelas contribuições na banca avaliadora e relevantes trabalhos prestados no setor de óleos essenciais no Brasil, como o Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais e do apoio para a criação da Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais (ABRAPOE), da qual também participo como membro fundador.

Ao prof. Dr. Renato Innecco (UFC), amigo e companheiro de ESAL, que honrou-me com sua presença e pelas valiosas contribuições na banca avaliadora, além do relevante trabalho que vem realizando com as Farmácias Vivas.

Aos professores Élberis Pereira Botrel, Nilton Nagib Chalfun, Carlos Ramirez de Rezende e Silva e Pedro Milanez, pela amizade e apoio desde a minha graduação na ESAL.

Aos professores Moacir Pasqual e Samuel Pereira, coordenadores da pós-graduação DAG, meus sinceros agradecimentos.

À Nelzi e Marli, secretárias da pós-graduação DAG, e Hebe e Gisele, secretárias da Pró-Reitoria de Graduação, por todo apoio e presteza.

Aos professores e funcionários do Setor de Sementes DAG.

À amiga, Regina Pinheiro, pela parceria no trabalho com as Plantas Medicinais.

Ao amigo Eduardo Alves, companheiro de coletas e pela amizade.

À Gerda Florestal, pela cessão das áreas para as colheitas dos materiais utilizados para o estudo, na pessoa do engenheiro agrônomo e irmão Nilson E. Arbex de Castro.

Ao Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR-ARMG), pela oportunidade que me é dada de transmitir meus aprendizados aos produtores rurais.

Aos colegas de doutorado Flávio Pimentel (Embrapa) e Ricardo Monteiro Correa, pelo companheirismo e apoio técnico nos trabalhos, e aos colegas do Laboratório de Química Orgânica, em especial Fernando, Luiz Gustavo, Lidiane, Milena.

À Universidade Federal de Lavras, por intermédio dos docentes e funcionários, pela oportunidade e satisfação desta realização, o agradecimento de um Esaliano.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudo ao autor.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa -UFV, em especial ao prof. Dr. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, pela cessão do Laboratório de Química Orgânica para realização de análises cromatográficas.

À Fundação do Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, em especial ao Dr. Maurílio José Soares, pelos trabalhos realizados sob sua orientação no Laboratório de Biologia Celular de Microrganismos do Departamento de Ultra-Estrutura e Biologia Celular, e também a toda a equipe, pelo prazeroso convívio profissional.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>i</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>iii</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....</b>	<b>iv</b>
<b>RESUMO GERAL .....</b>	<b>v</b>
<b>GENERAL ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>1</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>2</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>5</b>
2.1 Breve histórico e mercado dos óleos essenciais de eucalipto no Brasil.....	5
2.2 Óleos voláteis ou essenciais .....	6
2.3 Óleos essenciais de eucalipto .....	11
2.4 Usos e efeitos de óleos essenciais de eucalipto.....	14
2.5 Variações no rendimento de óleos essenciais de eucalipto e dos constituintes químicos .....	16
2.6 Protozoários tripanosomatídeos e uso de plantas para seu controle.....	16
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>19</b>
<b>CAPÍTULO II - AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E DOS CONSTITUENTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE <i>EUCALYPTUS CITRIODORA</i> HOOK. COLHIDAS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO EM MUNICÍPIOS DE MINAS GERAIS .....</b>	<b>22</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>23</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>24</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>25</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>40</b>

<b>CAPÍTULO III - AVALIAÇÕES DE RENDIMENTOS E DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES DE <i>EUCALYPTUS</i> COLHIDAS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO EM MUNICÍPIOS DE MINAS GERAIS .....</b>	<b>42</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>43</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>44</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>60</b>
<b>CAPÍTULO IV - IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>EUCALYPTUS CAMALDULENSIS</i> DEHNH. E O EFEITO DESSE ÓLEO SOBRE O CRESCIMENTO DO PROTOZOÁRIO TRIPANOSOMATÍDEO <i>HERPETOMONAS SAMUELPESSOAI</i>.....</b>	<b>62</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>63</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>65</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>66</b>
1.1 Aspectos gerais sobre protozoários tripanosomatídeos.....	66
1.2 Uso de espécies vegetais com propriedades tripanosomicidas .....	67
1.3 Óleos essenciais de eucalipto .....	69
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>71</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>74</b>
<b>4 CONCLUSÕES .....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO .....</b>	<b>82</b>

## LISTA DE TABELAS

	<b>Pag.</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>TABELA 1.1.</b> Espécies de eucalipto utilizadas para produção de óleo essencial, finalidades, rendimentos, seus constituintes majoritários e teores .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>	
<b>TABELA 2.1.</b> Teor de umidade (U%) obtido no Sistema Dean & Stark em folhas jovens e frescas de <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook. colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais.	<b>30</b>
<b>TABELA 2.2.</b> Análise de variância com teste F a 5% de probabilidade para o rendimento de óleo essencial extraído de folhas jovens de <i>E. citriodora</i> Hook. colhidas em duas épocas e em três municípios de Minas Gerais .....	<b>31</b>
<b>TABELA 2.3.</b> Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas, em Base livre de Umidade (% v/p BLU) de <i>E. citriodora</i> Hook. colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais .....	<b>32</b>
<b>TABELA 2.4.</b> Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas de (%v/p) de <i>E. citriodora</i> Hook. colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais .....	<b>32</b>
<b>TABELA 2.5.</b> Constituintes presentes (%) no óleo essencial extraído de folhas jovens e frescas de <i>E. citriodora</i> Hook., colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais .....	<b>34</b>

### CAPÍTULO 3

- TABELA 3.1.** Teor de umidade (U%) obtido em folhas jovens e frescas de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais ..... 50
- TABELA 3.2.** Análise de variância com teste F a 5% de probabilidade para o rendimento de óleo essencial extraído de folhas jovens e frescas de três espécies de *Eucalyptus* em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais ..... 52
- TABELA 3.3.** Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas, em Base livre de Umidade (% v/p BLU), de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais 52
- TABELA 3.4.** Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas (%v/p) de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais ..... 53
- TABELA 3.5.** Constituintes presentes (%) nos óleos essenciais extraídos de folhas jovens e frescas de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais 56

### CAPÍTULO 4

- TABELA 4.1** Teores (%) dos constituintes químicos identificados no óleo essencial extraído de folhas frescas de *E. camaldulensis* Dehnh colhidas em janeiro de 2005 em Bom Sucesso, MG ... 75

## LISTA DE FIGURAS

<b>CAPÍTULO 1</b>		<b>Pág.</b>
<b>FIGURA 1.1.</b>	Representação do ciclo biossintético dos metabólitos secundários .....	<b>9</b>
<b>FIGURA 1.2.</b>	Representação esquemática da biossíntese dos terpenos pelas vias do mevalonato e 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS), com exemplos de monoterpenos presentes em alguns óleos essenciais de eucalipto .....	<b>10</b>
<b>FIGURA 1.3.</b>	Representação da estrutura molecular do 1,8-cineol, citronelal e felandreno .....	<b>12</b>
<b>FIGURA 1.4.</b>	Esquema de corte transversal de folha de eucalipto .....	<b>14</b>
<b>CAPÍTULO 2</b>		
<b>FIGURA 2.1.</b>	Representações das estruturas moleculares dos constituintes químicos encontrados no óleo essencial de <i>E. citriodora</i> Hook. ....	<b>35</b>
<b>FIGURA 2.2.</b>	Cromatogramas obtidos do óleo essencial de folhas jovens e frescas de <i>E. citriodora</i> Hook., colhidas em duas épocas em três locais de Minas Gerais .....	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO 4</b>		
<b>FIGURA 4.1.</b>	Resultado do efeito do óleo essencial de <i>E. camaldulensis</i> Dehnh. sobre o crescimento do protozoário tripanosomatídeo <i>Herpetomonas samuelpessoai</i> .....	<b>76</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

alt.	altitude
cm	centímetro
Da	Dalton
e.g.	em geral
e.t.	em tempo
FOB	Free On Border
Kg	quilograma
m	metro
mg	miligrama
mg mL <sup>-1</sup>	miligrama <b>por</b> mililitro
mL	mililitro
mm	milímetro
p.e.	por exemplo
S	Sul
W	Oeste
μL	microlitro
°C	grau Celsius

## RESUMO GERAL

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. **Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 2006. 82 p., Tese (Doutorado em Agronomia Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>.

Espécies do gênero *Eucalyptus* são utilizadas em reflorestamentos no Brasil, pela grande plasticidade e por desenvolverem-se com alto vigor em diferentes condições ambientais. Em torno de 20 espécies são citadas pela produção de óleos essenciais, com interesse pela diversidade de constituintes químicos presentes em cada um, sendo divididos em três grupos em função do seu uso final: 1) óleos medicinais, apresentam na sua composição química altos teores de 1,8-cineol; 2) óleos com finalidades industriais, que possuem o felandreno, mentol e piperitona entre outros, como constituintes majoritários; e 3) óleos para perfumaria, em que o citronelol e citronelal estão presentes como majoritários. Esses óleos podem sofrer variações no seu rendimento e na sua composição química pela influência de fatores genéticos e ambientais. Nos tratamentos de doenças humanas, várias espécies de plantas têm sido utilizadas, sendo os óleos essenciais de eucalipto também utilizados, inclusive contra alguns protozoários patogênicos. Objetivou-se neste trabalho buscar informações acerca das variações que ocorrem nos óleos essenciais de eucalipto e nos seus constituintes majoritários, em diferentes épocas do ano e locais de cultivo, assim como o efeito desse óleo essencial sobre um protozoário tripanosomatídeo. Observou-se que ocorrem variações nos óleos essenciais e constituintes majoritários, de acordo com a época de colheita e local de cultivo. O óleo essencial de uma espécie de eucalipto apresentou propriedade tripanosomicida.

---

<sup>1</sup> **Comitê orientador:** Dr. Gabriel José de Carvalho – UFLA (Orientador), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## GENERAL ABSTRACT

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. **Phytochemical and biological evaluation of eucalyptus essential oil**. 2006. 82 p. Thesis (Doctorate in Agronomy Crop Science) - Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.<sup>1</sup>

*Eucalyptus* species are often used for reforestation in Brazil for their phenotypic plasticity and ability to acclimate in response to several environmental conditions. About 20 species are cited due to their chemical diversity in essential oil production. Species are divided into three groups according to their final usage: 1) oils for medical purposes show high contents of 1,8-cineole in their chemical composition; 2) oils for industrial purposes show phellandrene, menthol and piperitone as major components; and 3) oils for perfumery purposes show citronellal as a major component. Genetic and environmental factors may cause variations in yielding and chemical composition. Several species of plants have been widely used as medicine, being eucalyptus essential oil also used as trypanocide. In the present study, variations in Eucalyptus essential oils and its mayor components in different seasons and locations and its effectiveness against a protozoan, were investigated. *Eucalyptus* essential oil and its mayor components were affected by harvest time and location. Furthermore, trypanocide properties in some eucalyptus essential oils were observed.

---

<sup>1</sup> **Guidance Committee:** Dr Gabriel José de Carvalho - UFLA (Major Professor), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## **CAPÍTULO I**

### **CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE EUCALIPTO E SEU EFEITO SOBRE O PROTOZOÁRIO TRIPANOSOMATÍDEO *Herpetomonas samuelpessoai***

## 1 INTRODUÇÃO

Alternativas de produção associadas à preservação ambiental e ao aumento do nível de emprego e renda têm sido geradas visando a melhoria da qualidade de vida dos produtores e sociedade em geral. O plantio de florestas tem sido utilizado, assim como a utilização de Sistemas Agroflorestais (SAF's), que consiste na combinação de cultivos simultâneos e/ou seqüenciais de espécies arbóreas naturais e/ou introduzidas com culturas agrícolas anuais, frutíferas, pastagens, etc, são exemplos destas alternativas (Rodigheri, 1998).

Segundo Pereira (1987), dentre as espécies utilizadas, as do gênero *Eucalyptus* destacam-se pela grande plasticidade e por desenvolverem-se com alto vigor em diferentes condições ecológicas. No Brasil são encontrados plantios desde o Rio Grande do Sul até o Amazonas. São utilizadas pela importância de sua madeira como combustível para siderurgia, indústria moveleira, construção civil, postes, fabricação de papel e produção de folhas para a extração do óleo essencial, atividade que vem se destacando no mercado brasileiro.

De acordo com Doran (1991) entre as mais de 600 espécies de eucalipto existentes, em torno de 20 são citadas pela produção de óleo essencial, com interesse pela gama de constituintes químicos presentes em cada um desses óleos. Esses encontram-se divididos em três grupos, em função do seu uso final: óleos medicinais, óleos industriais e óleos para perfumaria.

É considerado óleo essencial para uso medicinal aqueles que apresentam teores de 1,8-cineol acima de 70% e baixos teores de felandreno. Esse tipo de óleo é encontrado nos *Eucalyptus globulus* Labill., *E. tereticornis* Sm., *E. smithii* R.T. Baker, *E. camaldulensis* Denhn., entre outros (Lassak, 1988; Doran, 1991; Vitti, 1999). Segundo Matos et al. (2004), algumas espécies de eucalipto demonstraram apresentar atividade contra bactérias, fungos,

protozoários etc. Várias doenças humanas são causadas por protozoários e vitimam centenas de milhares de pessoas por ano nos países tropicais e subtropicais, onde a população tem acesso restrito aos medicamentos tradicionais. Além disso, existe um número limitado de medicamentos utilizados nos tratamentos dessas doenças, sendo o tratamento bastante controverso pelo custo do risco-benefício, devido aos efeitos colaterais das drogas disponíveis, e também da resistência adquirida pelos protozoários patogênicos (Mello, 1997).

Os óleos essenciais de eucalipto utilizados em perfumaria possuem o citronelal como constituinte majoritário, sendo o *E. citriodora* Hook. a fonte mais rica e econômica conhecida desse composto. Esses óleos fazem parte da composição de perfumes para diversos fins, sendo mais usado em produtos de limpeza, como sabões e desinfetantes (Vitti & Brito, 2003).

Já nos óleos com finalidades industriais, os constituintes majoritários são o felandreno, matéria-prima para desinfetantes e desodorantes, o mentol que é um flavorizante de produtos medicinais, e a piperitona, que a partir dela é fabricado o timol, utilizado como preservativo para colas, pastas e gomas (Doran, 1991).

Xavier (1993) cita que os óleos essenciais de eucalipto podem sofrer variações no rendimento e na sua composição química, pela influência de vários fatores. Entre esses, pode-se citar como relevantes o genético, as condições ambientais (luz, água, temperatura, solo, tipo de manejo florestal, etc), os fisiológicos (parte utilizada da planta, a idade da planta e da folha, etc), além da técnica de extração e análise de óleo, considerado como um quarto fator na contribuição das variações qualitativa e quantitativa.

Assim, além dessa revisão bibliográfica sobre óleos essenciais de eucalipto apresentada no Capítulo I, buscou-se nos Capítulos II e III avaliar o rendimento de óleo essencial e dos seus constituintes químicos presentes em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook., *E. camaldulensis* Denhn e *E. urophylla*

L.D. Pryor, colhidas em fevereiro (verão) e agosto (inverno) de 2005, em Bom Sucesso, São Bento Abade e São João del Rei, municípios de Minas Gerais. Foi avaliado também, o efeito do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* Denhn. sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai*, apresentado no Capítulo IV.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Breve histórico e mercado dos óleos essenciais de eucalipto no Brasil

O *Eucaliptus globulus* Labill. foi a primeira espécie do gênero introduzida no Brasil, em 1855, e a partir de 1903, deu-se o início do cultivo de outras espécies para a Companhia Paulista de Estradas de Ferro (CPEF) em Jundiaí, SP (Braga, 1971). Hoje, o Brasil possui a maior área do mundo plantada com eucalipto, com mais de 3 milhões de hectares e aproximadamente 30 espécies diferentes, sendo que Minas Gerais tem a maior área do País. (Sociedade Brasileira de Silvicultura, 2001).

A exploração das folhas de *Eucalyptus* para a produção de óleo essencial é realizada no Brasil desde a II Guerra Mundial, quando do colapso na importação do óleo de citronela de Java (Romani, 1972). Com a implantação da lei dos incentivos fiscais houve uma ampliação da área plantada com eucalipto. Isso propiciou também um aumento da produção de óleo essencial, principalmente do *E. citriodora* Hook., espécie mais cultivada e considerada uma das melhores fontes naturais de citronelol e citronelal, utilizados nas indústrias de perfumaria. Das regiões produtoras no Brasil, o Estado de São Paulo apresenta-se com destaque na produção de óleo essencial de *E. citriodora* Hook., e representou, nos anos de 1970, 80% da produção mundial (Braga, 1971).

Por volta de 1990, a produção mundial de todos os tipos de óleo de eucalipto foi de 5.000 toneladas. Desses, 63% foram destinados para fins medicinais, 33% para perfumaria e 4% para indústria, sendo a China considerado o maior produtor de óleo essencial de eucalipto, respondendo por 65% a 75% da produção global (Coppen, 1995). Nessa época, no Brasil, a

produção de óleo essencial de *E. citriodora* Hook. foi de aproximadamente 500 toneladas, totalizando US\$646,117.00 (Vitti, 1999; Santos, 2002).

Ainda segundo Santos (2002), em 1995, a produção brasileira de óleo essencial de *E. citriodora* Hook. foi estimada em 1.000 toneladas, sendo 90% destinados à exportação, com produção concentrada nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

Em 2000, as exportações brasileiras desse tipo de óleo totalizaram US\$ 1,190,794.00 com um volume de 275 t e, em 2005, houve um crescimento de 10% no volume exportado, totalizando 303 t e crescimento de 63% no valor comercializado, ou seja US\$1,941,467.00, com uma recuperação de preços de US\$ 4.32 L<sup>-1</sup> em 2000 para US\$6.41 L<sup>-1</sup> em 2005, já que em 1996 o litro de óleo foi comercializado a US\$6.86. Em 2006, nos dois primeiros meses, o preço FOB de óleo exportado foi de US\$6.74 L<sup>-1</sup>, com um volume de 22 t (Brasil, 2006).

Quanto às importações de óleos essenciais de eucalipto, em 2000 e 2005, os volumes foram de 540 t e 1.060 t e os preços de US\$4.36 L<sup>-1</sup> e US\$6.31 L<sup>-1</sup>, respectivamente. Em janeiro e fevereiro de 2006, foram importados, 25 t desse óleo, no valor de US\$6.64 L<sup>-1</sup> (Brasil, 2006).

## **2.2 Óleos voláteis ou essenciais**

Os óleos voláteis são produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água, ou obtidos por expressão de pericarpos de frutos cítricos. São substâncias constituídas de numerosos compostos voláteis, lipofílicas, sendo geralmente odoríferas e líquidas. São denominados de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências, em razão de algumas de suas características físico-químicas, sendo a principal delas a volatilidade (Simões et al., 2004).

São formados por misturas que envolvem de 50 a mais de 100 compostos orgânicos voláteis e são classificados como terpenos. Esses compostos podem ser desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos com enxofre (Simões et al., 2004).

Na mistura, os compostos presentes apresentam-se em diferentes concentrações, sendo um deles o composto majoritário, outros em menores teores e alguns em baixíssimas concentrações (traços). Como exemplo, cita-se o 1,8-cineol como o principal composto de óleo de algumas espécies de eucalipto, com teores acima de 80%, e no óleo essencial de bergamota (*Citrus aurantium* subsp *bergamia* (Risso) Wight & Arn), esse composto apresenta-se com um teor em torno de 0,002% (Simões et al., 2004).

A maioria dos óleos essenciais é constituída de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, havendo predominância destes últimos.

Os fenilpropanóides são formados com base no ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e *p*-cumárico. Em seguida, por meio de reduções enzimáticas, produzem propenilbenzenos e/ou alilbenzenos; por oxidações com degradação das cadeias laterais, formam aldeídos aromáticos, e por ciclizações enzimáticas intramoleculares, produzem cumarinas (Simões et al., 2004). Compostos, como, por exemplo, o metil chavicol encontrado em folhas de *Ocimum basilicum* L. tem a sua biosíntese por essa rota (Deschamps, 2005).

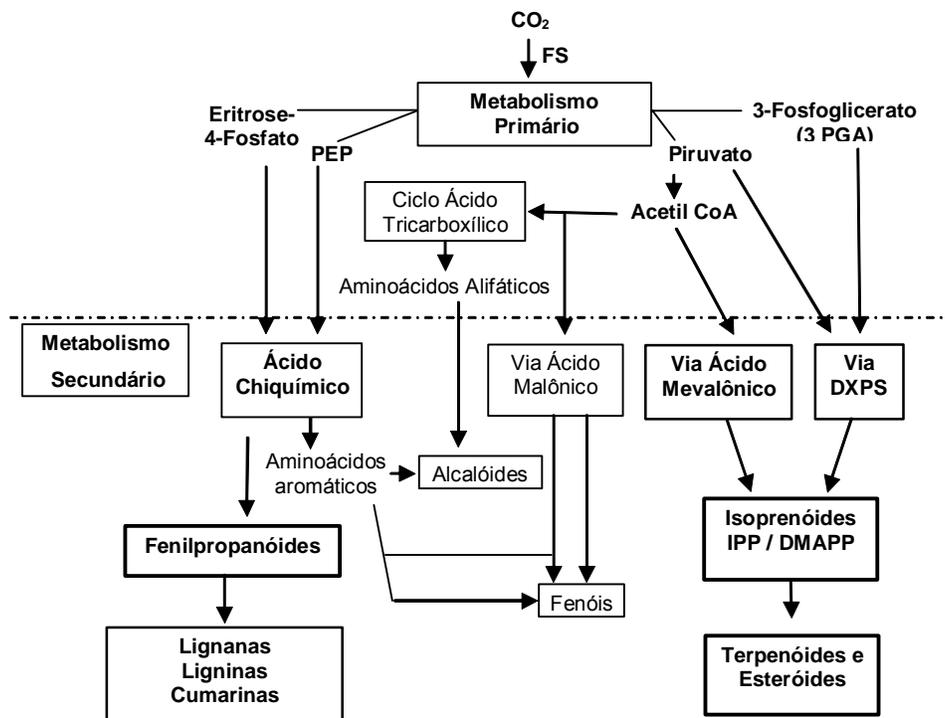
A via do mevalonato (MVA) é a mais discutida. Por meio dela, são formados os sesquiterpenos e triterpenos, derivados do isopreno. Sua ocorrência se dá no citoplasma da célula e a sua origem biossintética pode ser resumida pelo metabolismo da glicose pela via do acetato e reduzido a mevalonato, numa reação irreversível, em que o mevalonato é convertido em

isopentenil-pirofosfato (IPP) ou *isopreno ativo* (unidade básica na formação dos terpenos e esteróides, com 5 carbonos – C<sub>5</sub>) e o seu isômero dimetilalil-pirofosfato (DMAPP) (Deschamps, 2005).

Mais recentemente, outra rota, a via 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (Via DOXP, DXPS ou MEP) de ocorrência nos cloroplastos das células, tem sido discutida. Nela, o piruvato e o gliceraldeído 3-fosfato, formados durante o metabolismo primário, formam o 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DOXP) e, em seguida, o 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato (MEP). Após sucessivas reações, são formados tanto o isopentenil-pirofosfato (IPP) quanto o seu isômero, o dimetilalil-pirofosfato (DMAPP). Essa rota parece estar envolvida na biossíntese de carotenóides, fitóis, monoterpenos, diterpenos, tetraterpenos e plastoquinonas (Wanke et al., 2001; Deschamps, 2005).

Após a formação do IPP e DMAPP, tanto pela via do mevalonato quanto pela via DXPS, os esqueletos carbonados dos terpenóides são formados pela condensação de um número variável de unidades pentacarbonadas (isopreno). De acordo com a regra do isopreno, predomina a condensação cabeça-cauda, para formar o geranyl-pirofosfato (GPP), farnesil-pirofosfato (FPP) e geranylgeranyl-pirofosfato (GGPP). Com base nesses compostos, são formados os terpenóides de acordo com a classe de cada um, ou seja, o GPP dará origem aos monoterpenos (C<sub>10</sub>), que podem ser cíclicos e acíclicos; o FPP originará os sesquiterpenos (C<sub>15</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>) e triterpenos (C<sub>30</sub>); e o GGPP os diterpenos (C<sub>20</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>) (Rohdich et al., 2003; Deschamps, 2005).

Na Figura 1.1 é apresentado o esquema do ciclo biossintético dos metabólitos secundários, com destaque para as vias do chiquimato, do mevalonato e DXPS.

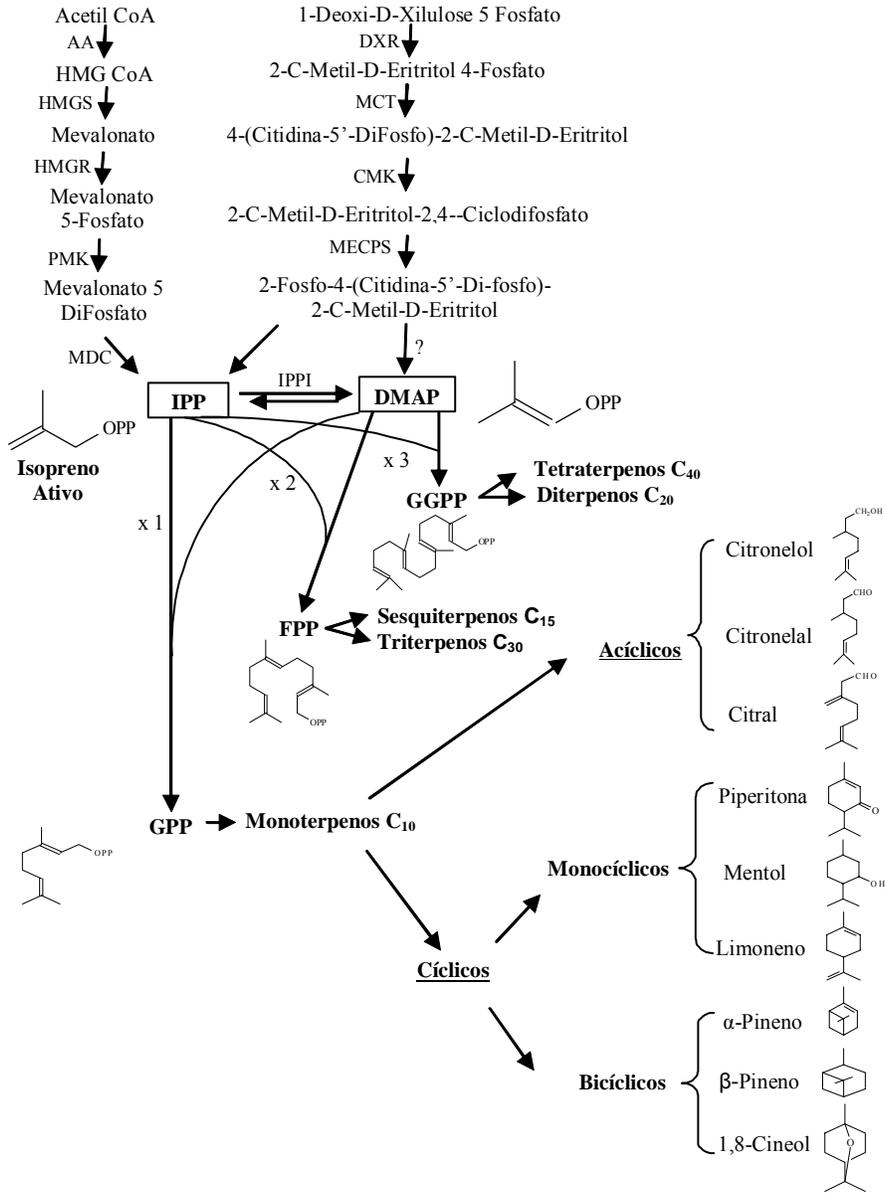


**FIGURA 1.1.** Representação do ciclo biossintético dos metabólitos secundários (Adaptado de Simões et al., 2004; Deschamps, 2005)

Na Figura 1.2 é apresentado um esquema ilustrativo das rotas de biossíntese dos terpenos pelas vias do mevalonato e 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS), com exemplos de monoterpêneos formados e presentes nos óleos essenciais de algumas espécies de eucalipto.

**? Via Mevalonato**

**? Via DXPS**



**FIGURA 1.2.** Representação esquemática da biossíntese dos terpenos pelas vias do mevalonato e 1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato (DXPS), com exemplos de monoterpenos presentes em alguns óleos essenciais de eucalipto (Adaptado de Deschamps, 2005).

### 2.3 Óleos essenciais de eucalipto

Pesquisas de Doran (1991) mostraram que os óleos essenciais de eucalipto, assim como outros óleos, são sintetizados com a finalidade de sobrevivência e/ou manutenção da planta, conferindo à ela capacidade de adaptação às condições do meio em que vive, *p.e.* contra o frio no estágio de plântula, maior proteção contra predadores, funções ecológicas e efeitos alelopáticos com outras plantas (como inibidores da germinação) e redução da perda de água. Nesses óleos, monoterpenos e sesquiterpenos representam os principais compostos e os diterpenos representam constituintes minoritários, além de hidrocarbonetos, ácidos, álcoois, cetonas, aldeídos e ésteres.

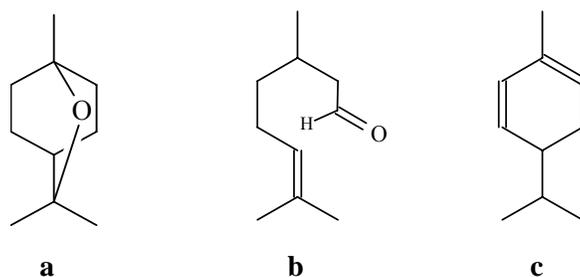
De acordo com esse mesmo autor, das próximas de 20 espécies citadas para produção de óleo essencial, o interesse se deve a presença do constituinte majoritário em cada um deles, os quais se encontram divididos em três grupos, em função do seu uso final: óleos medicinais, óleos industriais e óleos para perfumaria.

Os óleos essenciais de eucalipto para uso medicinal são aqueles que apresentam teores de 1,8-cineol (Figura 1.2.a) acima de 70% e baixos teores de felandreno, constituinte considerado indesejável pela ação cardíaca, com um teor máximo de 5% estabelecido pelas farmacopéias (Simões et al., 2004). Esse tipo de óleo é encontrado nas espécies *Eucalyptus globulus* Labill., *E. tereticornis* Sm., *E. smithii* R.T. Baker., *E. camaldulensis* Denhn., entre outros (Matos, 2002).

Os óleos para perfumaria possuem o citronelal (Figura 1.2.b) como constituinte majoritário, sendo o *E. citriodora* a fonte mais rica e econômica conhecida desse composto.

Os óleos com finalidades industriais apresentam altos teores de felandreno (Figura 1.2.c), utilizado como matéria-prima para desinfetantes e

desodorizantes; a piperitona e alfa-pineno, usados como intermediários para síntese do timol (utilizado em preservativos para gomas, pastas, colas etc); e o mentol (flavorizante de produtos medicinais e alimentícios). Espécies utilizadas para essa finalidade não são cultivadas no Brasil (Vitti & Brito, 2003; Simões et al., 2004).



**FIGURA 1.3.** Representação da estrutura molecular do: a – 1,8-cineol ( $C_{10}H_{18}O$ ); b - citronelal ( $C_{10}H_{18}O$ ); c – felandreno ( $C_{10}H_{17}$ ). UFLA, Lavras – MG, 2006.

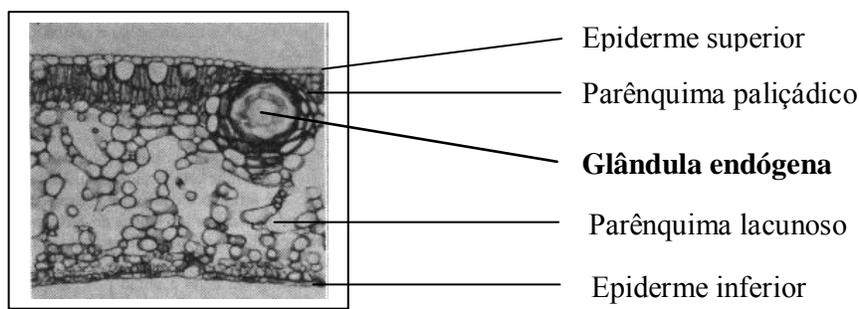
Algumas espécies utilizadas para extração de óleo essencial, conforme a finalidade, estão relacionadas na Tabela 1.1 apresentando também o rendimento e o teor do componente majoritário do óleo.

**TABELA 1.1.** Espécies de eucalipto utilizadas para produção de óleo essencial, finalidades, rendimentos, seus constituintes majoritários e teores.

Espécies	Rendimento Óleo (% p/p Folhas Frescas)	Componente majoritário	
		Nome	Teor %
<b>Óleos medicinais</b>			
<i>E. camaldulensis</i>	0,3 – 2,8	Cineol	80 - 90
<i>E. cneorifolia</i>	2,0	Cineol	40 - 90
<i>E. dives (var. cineol)</i>	3,0 - 6,0	Cineol	60 - 75
<i>E. dumosa</i>	1,0 – 2,0	Cineol	33 - 70
<i>E. eaeophara</i>	1,5 – 2,5	Cineol	60 - 80
<i>E. globulus</i>	0,7 - 2,4	Cineol	60-85
<i>E. leucoxyton</i>	0,8 – 2,5	Cineol	65 – 75
<i>E. oleosa</i>	1,0 – 2,1	Cineol	45 – 52
<i>E. polybractea</i>	0,7 – 5,0	Cineol	60 – 93
<i>E. radiata</i> subesp. <i>radiata</i> (var. <i>cineol</i> )	2,5 – 3,5	Cineol	65 - 75
<i>E. sideroxyton</i>	0,5 – 2,5	Cineol	60 – 75
<i>E. smithii</i>	1,0 – 2,2	Cineol	70 – 80
<i>E. tereticornis</i>	0,9 - 1,0	Cineol	45
<i>E. viridis</i>	1,0 – 1,5	Cineol	70 – 80
<b>Óleos Industriais</b>			
<i>E. dives</i> (var. <i>felandreno</i> )	1,5-5,0	Felandreno	60-80
<i>E. dives</i> (var. <i>piperitona</i> )	3,0-6,5	Piperitona	40-56
<i>E. elata</i> (var <i>piperitona</i> )	2,5-5,0	Piperitona	40-55
<i>E. radiata</i> subesp. <i>radiata</i> (var. <i>felandreno</i> )	3,0 – 4,5	Felandreno	35 - 40
<b>Óleos para Perfumaria</b>			
<i>E. ctriadora</i> (var <i>citronelal</i> )	0,5-2,0	Citronelal	65-80
<i>E. macarthurii</i>	0,2-1,0	Acetato de geranila	60-70
<i>E. staigeriana</i>	1,2-1,5	Citral (a + b)	16-40

Fonte: Lassak (1988) e Doran (1991).

Nas plantas do gênero *Eucalyptus* (Myrtaceae), os óleos essenciais são produzidos em estruturas secretoras, em que a secreção é formada em células (glândulas endógenas) (Figura 1.3) que eventualmente se rompem e liberam estas substâncias na cavidade resultante do rompimento das glândulas. Essas glândulas encontram-se distribuídas em todo o parênquima foliar da maioria das espécies, as quais, em algumas delas, podem ser visualizadas como pontos translúcidos quando a folha é observada contra a luz (Doran, 1991).



**FIGURA 1.4.** Esquema de corte transversal de folha de eucalipto (adaptado de Oliveira et al., 1998). UFLA, Lavras – MG, 2006.

#### 2.4 Usos e efeitos de óleos essenciais de eucalipto

A extração do óleo essencial de eucalipto apresenta uma relativa simplicidade, quando utilizado o processo de destilação por arraste com vapor d'água, sendo em muitos países a exploração desse óleo transformada em nível de indústria semi-artesanal.

Óleos essenciais contendo 1,8-cineol ou eucaliptol são utilizados em preparações e produtos farmacêuticos, em loções para uso local como anestésico suave e anti-séptico e é recomendado em cosméticos para remover manchas da pele. Em uso interno, o cineol apresenta ação secreolítica, ou seja, provoca a

atividade secretora do epitélio respiratório e facilita a fluidificação e expulsão do muco em problemas respiratórios. É usado também para aromatizar ambientes (Matos et al., 2004). O *E. tereticornis*, que produz o cineol e terpineol, também é utilizado no tratamento das vias respiratórias (Matos, 2002).

O “macrocarpal A”, isolado dos *E. macrocarpa* e *E. globulus*, é considerado o princípio antibacteriano dessas espécies, e outros “macrocarpals” mostraram-se eficazes no tratamento da laringite e foram considerados muito ativos contra bactérias orais. Os “euglobals” também apresentaram atividade antiinflamatória sendo considerado um forte inibidor da granulação tóxica, promotores de tumores (Matos et al., 2004).

A eucaliptona, outro constituinte extraído das folhas de eucalipto, apresentam ação contra *Streptococcus mutans* e *S. sobrinus* e outras bactérias cariogênicas. Extrato aquoso das folhas e o óleo essencial de *E. globulus* são ativos contra *Staphylococcus aureus*, e as sementes dessa mesma espécie apresentam efeito antiinflamatório e redução nas inflamações de ouvido (Matos et al., 2004).

Schnitzler et al. (2001), pesquisando os óleos essenciais de melaleuca e eucalipto contra o Vírus Simples da Herpes (HSV), constataram o efeito antiviral e indicaram essas espécies como promissoras nos tratamentos de infecções recorrentes de herpes.

Franceschini Filho (2004) relata que o óleo essencial de *E. citriodora*, *E. maculata* e *E. tereticornis* mostraram-se capazes de impedir a reprodução da bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, causadora da tuberculose. Devido à sua capacidade de ser solúvel em gordura, o óleo atravessa a membrana, fazendo com que suas substâncias bactericidas atuem diretamente dentro do bacilo, impedindo sua reprodução, em detrimento dos remédios tradicionais, que, por não se dissolverem em gordura, não ultrapassam a membrana do bacilo.

Dos óleos para perfumaria, o *E. citriodora* é a fonte mais rica e econômica conhecida de citronelal, substância irritante para mucosa do trato respiratório, mas que apresenta um poder anti-séptico, que justifica seu uso como agente de limpeza, como aromatizante e desinfetante de pisos e sanitários, (Matos, 2002).

## **2.5 Variações no rendimento de óleos essenciais de eucalipto e dos constituintes químicos**

Segundo Vitti & Brito (2003), os óleos essenciais de eucaliptos podem sofrer variações na sua composição química e no rendimento, de acordo com a parte utilizada da planta, a idade da planta e da folha, as condições ambientais, o tipo de manejo florestal, os métodos para amostragem das folhas, os processos para extração e de análise de óleo, além da variabilidade genética. Desses, o genético tem sido um dos mais estudados, pois é o instrumento utilizado para o melhoramento de espécies, visando ao incremento na produção e componente químico desejável.

O ambiente no qual a planta se desenvolve exerce grande influência sobre a produção e a composição dos óleos. Temperatura, umidade relativa, insolação, ventos etc são relatados como fatores de influência. Estudos realizados em outros países apresentaram resultados de maiores produções de óleo essencial de eucaliptos em determinadas épocas do ano, como no inverno e primavera (Wang et al., 1997; Vitti & Brito, 2003).

## **2.6 Protozoários tripanosomatídeos e uso de plantas para seu controle**

Em vários estudos com tripanosomas, tem sido demonstrado a viabilidade do uso de plantas com possíveis propriedades tripanosomicidas.

Mikus et al. (2000) relataram o efeito tóxico dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Melaleuca alternifolia* sobre o *Trypanosoma brucei*, a tripanosomíase africana transmitida pela mosca “tse-tsé”. Essa doença causa mais de 350 mil vítimas anuais, principalmente no continente africano, tendo merecido ao longo dos tempos o empenho dos cientistas, que tentam a todo custo minorar o sofrimento causado pela picada da mosca.

Plantas de uso popular têm sido utilizadas nos tratamentos de doenças causadas por protozoários, como no caso da malária, em que mais de 30 espécies de vegetais são utilizadas, sendo algumas com validação médica (Hidalgo, 2003).

Holetz et al. (2002) verificaram o efeito no crescimento e diferenciação celular de *H. samuelpeessoai* sob o efeito de extratos brutos ou óleos essenciais de 15 plantas medicinais adicionados ao meio definido. Concluíram que a *Lippia alba*, *Piper regnellii*, *Stryphnodendron adstringens* e *Tanacetum vulgare* apresentaram atividade antiprotozoário. Esses mesmos autores sugeriram que esses vegetais podem ser utilizados como modelos para seleção de plantas que contêm drogas tripanosomicidas.

Holetz et al. (2003), em trabalho semelhante, verificaram que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* também abre perspectivas promissoras para o uso de mais drogas de origem vegetal com propriedade tripanomicida.

Sarquis (2003), em estudos de aspectos epidemiológicos da doença de Chagas na zona rural de Jaguaruana, Ceará, observou 1.773 exemplares de espécies de triatomídeos (barbeiros) capturados e identificou 302 deles infectados pelo *T. cruzi*. Constatou também que das 631 pessoas residentes na comunidade, 23 indivíduos apresentaram soropositividade, sendo confirmada em 17 desses casos.

Na bibliografia acerca dessas doenças tropicais, demonstra-se a importância que essas doenças representam, principalmente aos moradores da

zona rural das mais diversas regiões do Brasil e outros países tropicais. Dessa maneira, há um consenso de que compostos que apresentam atividade tripanosomicida, principalmente os obtidos de extratos de plantas de uso popular, precisam ser mais investigados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRAGA, N.C. **Os óleos essenciais no Brasil: estudo econômico.** Rio de Janeiro: Instituto de Óleos, 1971. 158p.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior. Exportação e importação de óleo essencial de eucalipto. **Brasil Exportador**, Brasília, 2006. Disponível em: <<http://www.aliceweb.desenvolvimento.gov.br/consulta>>. Acesso em: 23 mar. 2006.

COPPEN, J.J.W. **Flavours and fragrances of plant origin: non-wood forest products 1.** Rome: FAO, 1995.

DESCHAMPS, C. Biossíntese de óleos essenciais. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. **Palestras...** Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/sboe2005/palestras.htm>>. Acesso em: 26 fev. 2006.

DORAN, J.C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. **Eucalyptus leaf oils, use, chemistry, distillation and marketing.** Melbourne: Inkata, 1991. p.11-28.

FRANCESCHINI FILHO, S. **Plantas terapêuticas.** São Paulo: Andrei, 2004.

HIDALGO, A.F. **Plantas de uso popular para o tratamento da malária e males associados da área de influência do Rio Solimões e região de Manaus.** 2003. 202p. Tese (Doutorado em Agronomia. Horticultura)-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

HOLETZ, F.B. et al. Effect of plant extracts used in folk medicine on cell growth and differentiation of *Herpetomonas samuelpessoai* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) cultured in defined medium. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.3, p.657-662, 2002.

HOLETZ, F.B. et al. Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the Trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai*. **Acta Protozoologica**, v.42, n.4, p.269-276, 2003.

LASSAK, E.V. The Australian *Eucalyptus* oil industry, past and present. **Chemistry in Australia**, v.55, p.396-398, 1988.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 4.ed. Fortaleza: UFC, 2002.

MATOS, F.J.A. (Org.). **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: UFC, 2004.

MELLO, G.K. **Identificação de antígenos recombinantes de *Trypanosoma cruzi* com potencial para diagnóstico da infecção chagásica humana e sua caracterização na resposta humoral e celular.** 1997. 131p. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

MIKUS, J. et al. In vitro effect of essential oils and isolated mono and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. **Planta Med.**, v.66, n.4, p.366-368, May 2000.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. **Farmacognosia.** São Paulo: Atheneu, 1998.

PEREIRA, M. Formação de população base de *Eucalyptus citriodora* Hook. **Brasil Flor.**, v.62, p.12-16, 1987.

RODIGHERI, H.R. **Viabilidade econômica de plantios florestais solteiros e de sistemas agroflorestais.** Colombo, PR: Embrapa. Centro Nacional de Pesquisas de Florestas, 1998. p.1-4. (Comunicado Técnico, 22).

ROHDICH, F. et al. Deoxyxylulose phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis. Discovery and function of *ispDEFGH* genes and their cognate enzymes. **Pure Appl. Chem.**, v.75, n.2/3, p.393-505, 2003.

ROMANI, R.A. **Óleos essenciais de eucalipto.** Piracicaba: USP/ESALQ, 1972. 8p. (Seminário apresentado no Departamento de Silvicultura).

SANTOS, A.S. **Análise técnica, econômica e de tendências da indústria brasileira de óleos essenciais.** Rio de Janeiro: Papel Virtual, 2002.

SARQUIS, O.M.F. **Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas na zona rural de Jaguaruana, Ceará, Brasil.** 2003. 112p. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária)-Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

SCHNITZLER, P.; SCHON, K.; REICHLING, J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. **Pharmazie**, v.56, n.4, p.343-347, Apr. 2001.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed.ver. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE SILVICULTURA. **Estatísticas – Setor Florestal Brasileiro. Área plantada com pinus e eucaliptos no Brasil (há) – 2001**. Disponível em: <<http://www.sbs.org.br/estatisticas.htm>> Acesso em: 10 abr. 2006.

VITTI, A.M.S. **Avaliação do crescimento e do rendimento e qualidade do óleo essencial de procedências de *Eucalyptus citriodora***. 1999. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. **Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba, SP: ESALQ, 2003. (Documentos Florestais, 17).

WANG, H.; WANG, Z.; XIE, P. Genetic and environmental variations of eucalypt leaf oils. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTUS, 1997, Salvador, BA. **Anais...** Colombo, PR: EMBRAPA/CNPF, 1997. v.1, p.213-215.

WANKE, M.; SKORUPINSKA-TUDEK, K.; SWIEZEWSKA, E. Isoprenoid biosynthesis *via* 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate/2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate (DOXP/MEP) pathway. **Acta Biochimica Polonica**, v.48 n.3, p.663-672, 2001.

XAVIER, A. **Variabilidade genética de óleo essencial e de crescimento em progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus citriodora* Hook**. 1993. 72p. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

## **CAPÍTULO II**

### **AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Eucalyptus citriodora* Hook. COLHIDAS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO EM MUNICÍPIOS DE MINAS GERAIS**

## RESUMO

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. Avaliação do rendimento e dos constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. colhidas em diferentes épocas do ano em municípios de Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 2006. Cap. 2, p.22-41. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

O óleo essencial de *Eucalyptus citriodora* Hook. é a fonte mais rica e econômica de citronelal, substância bastante utilizada nas indústrias de perfumaria, terapêutica, etc. A exploração dessa substância pode apresentar excelentes perspectivas comerciais. Fatores ambientais são capazes de afetar o rendimento, a composição e a quantidade dos constituintes dos óleos essenciais. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar o rendimento do óleo essencial e dos constituintes químicos extraídos de folhas frescas de *E. citriodora* em fevereiro e agosto de 2005, nos municípios de Bom Sucesso, São Bento Abade e São João del Rei. O óleo essencial foi obtido por meio de hidrodestilação, com posterior centrifugação do hidrolato. Determinou-se a umidade da matéria-prima, sendo o rendimento de óleo essencial expresso em volume por peso com Base Livre de Umidade (%v/p BLU). Os constituintes do óleo essencial foram identificados e quantificados, utilizando-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Pelos resultados obtidos, verificou-se que o teor de óleo essencial foi influenciado pela época e local de cultivo. A colheita realizada no município de São João del Rei no mês de fevereiro foi a que propiciou os maiores rendimentos. Os dados cromatográficos indicaram haver alterações na composição química, sendo o citronelal o constituinte majoritário, apresentando teores entre 67% a 87%, seguido do citronelol, com teores entre 8% a 20%, atendendo, portanto as exigências das indústrias de perfumaria.

---

<sup>1</sup> **Comitê orientador:** Dr Gabriel José de Carvalho – UFLA (Orientador), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## ABSTRACT

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. Yield and main chemical components evaluation of essential oil from *Eucalyptus citriodora* Hook. leaves harvested in different seasons in several locations of the Commonwealth of Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Phytochemical and biological evaluation of eucalyptus essential oil**. 2006. Chapter 2, p.22-41. Thesis (Doctorate in Agronomy Crop Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG<sup>1</sup>

The essential oil from *Eucalyptus citriodora* Hook. is the richest and the most economical source of citronellal, a substance used in perfumery and therapeutic industries, etc. The growing market provides an excellent opportunity of exploration. Oil composition, components and yield can be affected by environmental factors, therefore, this work aimed to evaluate both essential oil of fresh leaves of *E. citriodora* main components and yield in different seasons. The harvest took place in February and August of 2005 in three different municipalities. Hydrodistillation followed by hydrosol centrifugation were used to extract essential oil. Raw material content and yield (volume/weight) on a Moisture Free Basis (BLU) were determined. Essential oil components were identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG-EM). Results showed that essential oil content were influenced by both timing and location of the harvest. February harvest in the City of São João del Rei, MG showed the highest yield. Chromatographic data showed changes in chemical composition being citronellal the major component (67-87%) followed by citronellol (8- 20%) meeting perfumery industries requirements.

---

<sup>1</sup> **Guidance Committee:** Dr Gabriel José de Carvalho - UFLA (Major Professor), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO

A denominação de óleo essencial refere-se a um grupo de substâncias naturais aromatizantes, que são extraídas de diversas partes de plantas, por meio de destilação por arraste com vapor d'água, e os obtidos por expressão de pericarpos cítricos. São constituídos de numerosos compostos voláteis, com tensões de vapor elevadas, odoríferos, insolúveis em água, porém, solúveis em álcool e em vários solventes imiscíveis na água (Simões et al., 2004).

Os óleos essenciais presentes em algumas espécies de *Eucalyptus* (Myrtaceae) são sintetizados em estruturas secretoras, em que a secreção é formada em glândulas endógenas que eventualmente se rompem e liberam substâncias na cavidade resultante do rompimento das glândulas. Esses óleos podem estar envolvidos nas interações animal-planta, planta-microrganismos e planta-planta, com a finalidade de sobrevivência e/ou manutenção da planta, conferindo a ela capacidade de adaptação às condições do meio em que vive, *p.e.*, contra o frio no estágio de plântula, maior proteção contra predadores, apresentar funções ecológicas e efeitos alelopáticos com outras plantas (inibidoras de germinação) e redução da perda de água (Doran, 1991).

Nolasco (1996) considerou que as perspectivas comerciais de utilização dos óleos essenciais são excelentes, diante das restrições ao uso de aromatizantes artificiais. Das espécies do gênero *Eucalyptus*, em torno de 20 produzem óleos essenciais e são citadas comercialmente pela gama de constituintes químicos identificados em cada óleo e encontram-se divididos em três grupos em função do seu uso final: óleos medicinais, óleos industriais e óleos para perfumaria.

Dos óleos para perfumaria, o *E. citriodora* Hook. é a fonte mais rica e econômica conhecida de citronelal, substância irritante para a mucosa do trato respiratório, porém utilizada desde a fabricação de cosméticos até a aromatização de produtos de limpeza, como sabões e detergentes, além de

possuir propriedade anti-séptica, justificando seu uso como agente de limpeza, aromatizantes e desinfetantes de pisos e sanitários (Vitti, 1999; Matos, 2002).

Vitti (1999) ressalta que fatores ambientais são capazes de afetar a produtividade, a composição e a quantidade dos constituintes dos óleos essenciais. Dentre esses, a umidade relativa, a radiação solar, a temperatura e o estresse hídrico são relevantes. Esse pesquisador cita que os óleos essenciais de eucalipto podem sofrer variações na sua composição química e no rendimento, de acordo com a parte utilizada, a idade, as condições ambientais, o tipo de manejo florestal, os métodos para amostragem das folhas, os processos para extração e de análise de óleo, além da variabilidade genética.

Wang et al. (1997) apresentaram resultados de maiores produções de óleo essencial de eucaliptos em determinadas épocas do ano (inverno e primavera). Vitti & Brito (2003) corroboram com essas informações e relatam maior rendimento de óleo essencial e de citronelal em *E. citriodora* quando a colheita foi realizada no inverno e primavera.

O monitoramento dos princípios ativos e o estudo dos fatores envolvidos na variação dos teores desses constituintes são fundamentais nas recomendações de manejo do ambiente, otimizando a produção e a conservação desses compostos químicos, conforme Castellani (1997).

Nesse contexto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar a ocorrência de variações nos rendimentos do óleo essencial e dos constituintes químicos presentes em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. colhidas nos meses de fevereiro e agosto de 2005, em Bom Despacho, São Bento do Abade e São João del Rei, municípios de Minas Gerais.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado, folhas jovens e frescas de *Eucalyptus citriodora* Hook., foram colhidas em reflorestamentos da Gerdau Florestal, em Bom Sucesso (20°58'S, 44°48'W e 950 m alt.), São Bento Abade (21°36'S, 44°59'W e 970 m alt.) e São João del Rei (21°16'S, 44°54'W e 910 m alt.), municípios de Minas Gerais. Esses locais estão distantes entre si de aproximados 100 Km, e apresentam clima do tipo Cwb pela classificação climática de Köppen, caracterizado por verão chuvoso e inverno seco e precipitação média anual de 1.411 mm, sendo a temperatura média anual de 19,3 °C.

As colheitas foram realizadas entre os dias 25 - 28 de fevereiro e 25 - 30 de agosto de 2005, sempre até as 10 horas, em dias sem precipitação pluviométrica, com umidade relativa máxima de 60%.

As análises de solo utilizadas foram realizadas pela empresa para fins de adubação de manutenção da fertilidade da área do reflorestamento. O espaçamento utilizado foi de 2,0 x 3,0 m, com a finalidade para produção de madeira e carvão utilizado em siderurgia.

As parcelas utilizadas para o experimento foram constituídas de 67 plantas em 400 m<sup>2</sup> (20 x 20 m) nos três locais, localizadas no interior de talhões com a referida espécie. Dessas 67, foram sorteadas e identificadas 20 plantas para posterior colheita de folhas, e constituíram um tratamento. Cada tratamento foi estabelecido como folhas de *E. citriodora* colhidas em cada época e local, totalizando seis tratamentos.

As plantas utilizadas eram rebrotas com três anos de idade (com 5,0 a 7,0 metros de altura), de árvores com um corte realizado aos sete anos. As folhas colhidas situavam-se no terço inferior da planta, de ramos com diâmetro inferior a 1,5 cm.

Foram colhidas para fins de análise, em torno de 200 g de folhas jovens por planta, totalizando quatro quilogramas de folhas das 20 plantas de cada talhão em cada época e local, e constituiu uma amostra composta. Em seguida, estas foram homogeneizadas e retiradas amostras de 50 gramas cada, que constituiu uma amostra. Foram utilizadas três amostras de cada tratamento para as extrações de óleo essencial e avaliação de umidade das folhas.

Para determinação do teor de umidade das folhas, utilizou-se o Sistema de Dean & Stark, cujo funcionamento baseia-se no princípio da imiscibilidade de solventes; nesse caso, o ciclohexano e a água, de acordo com Pimentel et al., (2006).

Para obtenção do óleo essencial das folhas frescas, empregou-se a técnica por hidrodestilação, utilizando o aparelho Clevenger modificado. As amostras (50 g) foram acondicionadas em balões com 500 mL de água destilada. A extração foi realizada no período de duas horas, conforme Matos (1988). Centrifugou-se o hidrolato, em uma centrífuga de cruzeta horizontal (raio = 5 cm) a 4.500 rpm (aproximados 1.130 forças g) por 60 segundos, conforme estudos preliminares (Castro et al., 2005). O rendimento do óleo essencial foi calculado e expresso em volume de óleo por peso de folhas frescas (%v/p) e com base na matéria seca ou Base Livre de Umidade (%v/p BLU) (Pimentel et al., 2006).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo os efeitos das épocas de colheita e dos locais de cultivo comparados pelo teste de Tukey quando significativos (Ferreira, P, 2000). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análise de Variância – SISVAR, segundo Ferreira, D. (2000).

As análises qualitativas dos óleos foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM), utilizando-se um aparelho Shimadzu CG-17A com detector seletivo de massa modelo QP 5000 sob as

seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5 (0,25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme); temperatura do injetor de 220  $^{\circ}\text{C}$ ; programação da coluna com temperatura inicial de 40  $^{\circ}\text{C}$ , sendo acrescidos 3  $^{\circ}\text{C}$  a cada minuto até atingir 240  $^{\circ}\text{C}$ ; gás carreador hélio (1  $\text{mL min}^{-1}$ ); taxa de split 1:10; volume injetado de 1  $\mu\text{L}$  (1% de solução em diclorometano) e pressão inicial na coluna de 100,2 KPa. As condições de EM foram: energia de impacto de 70 eV; velocidade de decomposição 1.000; intervalo de decomposição de 0,50; e fragmentos de 45 Da a 450 Da decompostos. Injetou-se, nas mesmas condições das amostras, uma mistura de hidrocarbonetos ( $\text{C}_9\text{H}_{20}$ ;  $\text{C}_{10}\text{H}_{22}$ ;  $\text{C}_{11}\text{H}_{24}$ ; ...  $\text{C}_{24}\text{H}_{50}$ ;  $\text{C}_{25}\text{H}_{52}$  e  $\text{C}_{26}\text{H}_{54}$ ). A identificação dos constituintes foi realizada comparando-se os espectros obtidos com os do banco de dados do aparelho e pelo índice de Kovats calculado para cada constituinte, conforme Adams (1995).

A determinação dos teores dos constituintes químicos do óleo essencial foi efetuada por meio de cromatografia gasosa por ionização de chamas (FID), utilizando-se um aparelho Shimadzu GC-17A, nas seguintes condições experimentais: coluna capilar DB5; temperatura do injetor de 220  $^{\circ}\text{C}$ ; temperatura de detector FID de 240  $^{\circ}\text{C}$ ; programação da coluna com temperatura inicial de 40  $^{\circ}\text{C}$  até 240  $^{\circ}\text{C}$ ; gás carreador nitrogênio (2,2  $\text{mL min}^{-1}$ ); taxa de split 1:10; e volume injetado de 1  $\mu\text{L}$  (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 KPa. A quantificação de cada constituinte foi realizada por meio de normalização de áreas (%). Para as análises qualitativas e quantitativas utilizou-se apenas uma amostra de óleo essencial de eucalipto obtido em cada tratamento.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas três áreas onde foram realizadas as colheitas de folhas frescas, o plantio de eucalipto tem sido utilizado, pelas características favoráveis de topografia, tipo de solo, clima etc, além da proximidade das unidades consumidoras – siderúrgicas.

Os resultados das análises de solo das três áreas onde foram realizadas as colheitas estão apresentados no Anexo 1.

Pelos resultados dos valores de umidade (U%) obtidos e apresentados na Tabela 2.1, pode-se observar que folhas colhidas no mês de fevereiro apresentaram maiores teores de umidade em relação às folhas colhidas no mês de agosto, para as três localidades. Provavelmente, esses maiores valores de umidade ocorreram devido à maior precipitação pluviométrica em fevereiro (207 mm), em relação ao mês de agosto (33 mm).

**TABELA 2.1.** Teor de umidade (U%) obtido no Sistema Dean & Stark de folhas jovens e frescas de *Eucalyptus citriodora* Hook. colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Local	Épocas de colheita	
	Fevereiro	Agosto
Bom Sucesso	52,0	44,0
São Bento Abade	54,0	50,0
São João del Rei	60,0	48,0

A importância de se determinar a umidade das amostras frescas utilizadas em extrações de óleos essenciais é que essa, em termos de massa

absoluta de material úmido, pode conduzir a rendimentos expressivamente diferentes e levar a interpretações distintas do rendimento de óleo essencial de *E. smithii* R.T.Baker, conforme pesquisou Fabrowski (2002).

Dessa maneira, o rendimento de óleo essencial extraído de folhas jovens de *E. citriodora* Hook. foi avaliado em Base Livre de Umidade (BLU) e pelos resultados obtidos, verificou-se que houve efeito significativo a 5% de probabilidade pela análise de variância para as variáveis: época de colheita e local de cultivo e também para a interação desses. Por meio dessa interação, observou-se haver variação do rendimento de óleo essencial extraído de folhas jovens de *E. citriodora* dependendo da época de colheita e do local de cultivo. Os resultados das análises de variância e do teste de médias são apresentados nas Tabelas 2.2 e 2.3, respectivamente.

**TABELA 2.2.** Análise de variância com teste F a 5% de probabilidade para o rendimento de óleo essencial extraído de folhas jovens de *E. citriodora* Hook.colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Época	1	16.492939	16.492939	63.333	0.0000 *
Local	2	6.524811	3.262406	12.528	0.0012 *
Época * Local	2	3.551944	1.775972	6.820	0.0105 *
Erro	12	3.125000	0.260417	--	--
<b>Total corrigido</b>	<b>17</b>	<b>29.694694</b>	--	--	--

\* Significativo a 5% pelo teste F; CV = 13,57%; Média geral = 3,76%

**TABELA 2.3.** Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas, em Base Livre de Umidade (% v/p BLU) de *E. citriodora* Hook., colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Local de cultivo	Época de colheita	
	Fevereiro	Agosto
São João del Rei	6,15 aA	3,06 bA
Bom Sucesso	4,28 aB	2,56 bA
São Bento Abade	3,72 aB	2,79 bA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Esses resultados dos rendimentos de óleo essencial em %v/pBLU foram superiores e variaram de 180% a 250% em relação aos resultados dos rendimentos quando não se considerou a umidade das folhas (%v/p), os quais estão apresentados na Tabela 2.4.

**TABELA 2.4.** Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas (% v/p) de *E. citriodora* Hook., colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Local de cultivo	Época de colheita	
	Fevereiro	Agosto
São João del Rei	2,46 aA	1,59 bA
Bom Sucesso	2,05 aB	1,43 bA
São Bento Abade	1,71 aB	1,39 aA

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Independente do local, quando a colheita foi realizada no mês de fevereiro, os resultados foram superiores para o rendimento de óleo essencial de eucalipto. Esses resultados divergem das informações obtidas na literatura acerca da produção de metabólitos secundários, nas quais cita-se que esses são obtidos em maiores rendimentos quando a planta encontra-se em situações menos favoráveis ou “stress”, ou seja, esperavam-se maiores rendimentos de óleos essenciais no mês de agosto, por se tratar de uma época que apresenta uma baixa precipitação pluviométrica (33 mm), e temperaturas diurnas reduzidas (média de 15 °C, chegando a 5 °C), em relação ao mês de fevereiro, que apresentou precipitações e temperaturas favoráveis ao desenvolvimento das plantas.

Ao considerar a época de colheita, a de fevereiro em São João del Rei apresentou resultados superiores de produção de óleo, ao passo que para a colheita realizada em agosto, não houve diferença significativa entre os três locais.

Esses valores diferem daqueles encontrados por Andrade & Gomes (2.000), que estudaram o rendimento de óleo essencial de *E. citriodora* no município de Seropédica, RJ, onde foram obtidos maiores rendimentos de óleo extraído de folhas maduras colhidas no outono (início da estiagem), quando comparado com folhas colhidas no verão (período chuvoso). De maneira semelhante, Galanti (1987) e Vitti & Brito (1999) ressaltaram que a colheita de folhas de eucalipto realizada nos meses mais secos do ano (abril a setembro) propicia um maior rendimento de óleo essencial e consideram que nesse período essa concentração é maior em razão do menor teor de umidade nas folhas, obtendo-se melhor qualidade da essência.

Com relação ao rendimento de óleo essencial e ao local de cultivo, Chalchat et al. (2001) estudaram a dinâmica do acúmulo de óleo essencial em folhas de *E. camaldulensis* Dehnh. Os autores encontraram rendimentos de 1,0%

a 2,6% de óleo em plantas cultivadas na Tailândia; de 0,8% a 1,3% de óleo em plantas cultivadas no Marrocos, e, de plantas cultivadas em Israel (Jerusalém), encontraram rendimento médio de 0,50% de óleo essencial. Ressaltaram que essas variações ocorreram provavelmente devido ao local de cultivo, o que interfere no desenvolvimento fisiológico das plantas e produção de óleos.

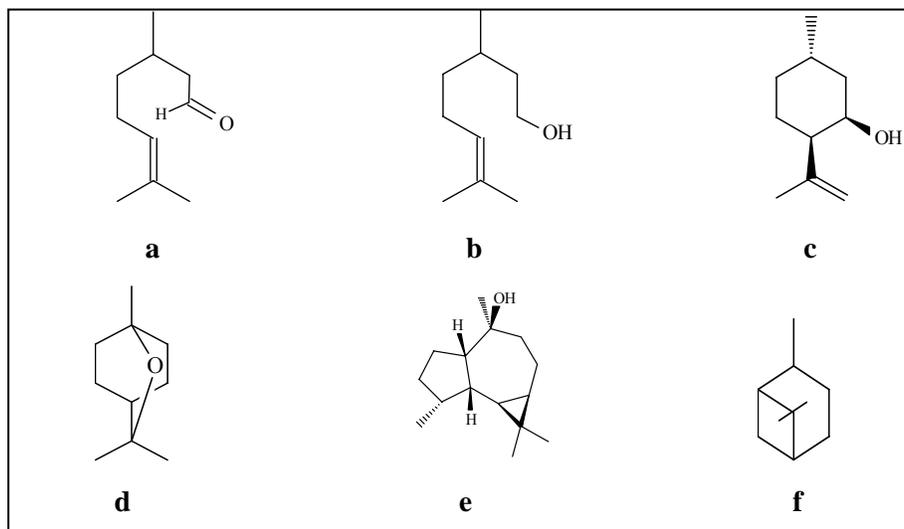
Na Tabela 2.5, são apresentados os constituintes identificados com seus teores (%) e seus respectivos índices de Kovats, no óleo essencial de *E. citriodora* nas duas épocas de colheita e nos três municípios considerados.

Na identificação e quantificação dos constituintes químicos no óleo essencial de folhas frescas de *E. citriodora*, analisados por CG-EM e CG com detector FID das amostras colhidas nas duas épocas e nos três locais, pelos resultados verificou-se haver uma similaridade na composição química. Foram identificados seis constituintes principais, além de outros, sendo o citronelal o mais abundante, seguindo-se de citronelol e dos constituintes  $\beta$ -pineno, 1,8-cineol, isopulegol e viridiflorol (Figura 2.1).

**TABELA 2.5.** Constituintes presentes (%) no óleo essencial extraído de folhas jovens e frescas de *E. citriodora* Hook. colhidas em duas épocas em três municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

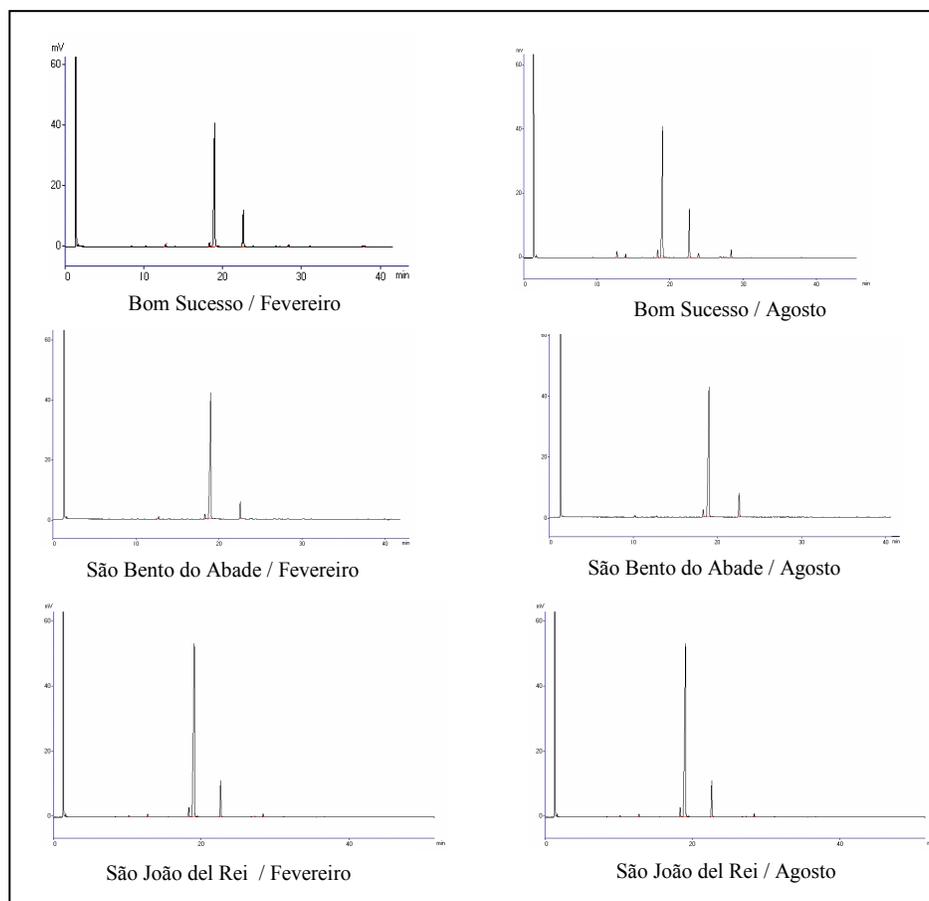
Compostos presentes	IK	Épocas de colheita					
		Fevereiro			Agosto		
		BS	SBA	SJR	BS	SBA	SJR
$\beta$ -Pineno	980	--	--	0,36	--	0,58	0,52
1,8-Cineol	1.033	1,38	1,32	1,02	2,25	0,40	--
Isopulegol	1.145	1,61	2,39	2,95	2,92	3,30	2,33
Citronelal	1.153	77,87	87,99	83,03	67,64	84,33	86,11
Citronelol	1.228	18,04	8,30	11,60	20,84	11,39	11,05
Viridiflorol	1.590	0,22	--	--	--	--	--
Outros		0,88	0,00	1,04	6,35	0,00	0,00
<b>Total</b>		<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>

BS – Bom Sucesso; SBA – São Bento Abade; SJR – São João del Rei.



**FIGURA 2.1.** Representações das estruturas moleculares dos constituintes químicos encontrados no óleo essencial de *E. citriodora* Hook. a - citronelal ( $C_{10}H_{18}O$ ); b - citronelol ( $C_{10}H_{20}O$ ); c - isopulegol ( $C_{10}H_{18}O$ ); d - 1,8-cineol ( $C_{10}H_{18}O$ ); e - viridiflorol ( $C_{15}H_{26}O$ ); f -  $\beta$ -pineno ( $C_{10}H_{16}$ ). UFLA, Lavras - MG, 2006.

Os cromatogramas obtidos na identificação e quantificação dos constituintes químicos presentes no óleo essencial de eucalipto de folhas frescas colhidas nas duas épocas e em três locais de MG, estão apresentados na Figura 2.2, na qual se podem observar os maiores picos, correspondentes aos constituintes citronelal e citronelol.



**FIGURA 2.2.** Cromatogramas obtidos do óleo essencial de folhas jovens e frescas de *E. citriodora* Hook., colhidas em duas épocas em três locais de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Pelos resultados obtidos, infere-se que no mês de fevereiro a concentração de citronelal foi superior no óleo essencial extraído de folhas colhidas em São Bento Abade, diferentemente de folhas colhidas em São João del Rei, onde o teor foi superior no óleo de folhas colhidas em agosto.

O teor de citronelal, o constituinte majoritário, variou de 2% a até 30% de acordo com o tratamento utilizado, ou seja, entre as épocas de colheita e os locais considerados.

Observa-se também que os teores de citronelal e citronelol, os constituintes majoritários presentes no óleo de *E. citriodora*, variaram de acordo com as épocas de colheita e os locais de cultivo. Esperava-se que a variação de citronelal fosse inversamente proporcional à variação de citronelol, devido a reações de oxidação desse. No entanto, verificou-se essa ocorrência apenas no óleo obtido de folhas colhidas em São Bento Abade para as duas épocas avaliadas. No óleo obtido de folhas colhidas em Bom Sucesso, o teor de citronelal reduziu 10%, de fevereiro para agosto, enquanto o citronelol aumentou apenas 2% entre as mesmas duas épocas. Já no município de São João del Rei, o citronelol praticamente não sofreu alteração no teor entre essas épocas enquanto o citronelal aumentou mais de 3% de fevereiro para agosto. Esses dados indicam uma necessidade no conhecimento da extração de óleos essenciais, quando se deseja obter um produto com maiores rendimentos e com maiores teores do constituinte desejado em cada óleo.

Esses resultados diferem em parte dos obtidos por Vitti & Brito (1999), que relataram ocorrer um maior teor de citronelal no óleo essencial de folhas de eucalipto colhidas nos meses mais secos do ano (abril a setembro), com obtenção de melhor qualidade da essência. Fabrowski (2002), estudando a sazonalidade de óleo essencial de *E. smithii*, encontrou maiores teores de 1,8-cineol (85,16%) em folhas adultas colhidas no verão, seguindo-se da colheita realizada no outono (82,34%), primavera (80,44%) e inverno (78,25%).

Quanto aos compostos presentes nos óleos essenciais, Magalhães (1988) considera que no óleo de *E. citriodora*, como em outros óleos essenciais, cada componente tem um perfil característico e cada aroma e sabor é uma combinação dos perfis de seus constituintes; em certos casos, pode haver

predominância de um componente, como, por exemplo, do citronelal no óleo essencial dessa espécie.

Ao considerar os constituintes do óleo essencial e o local de cultivo, Chalchat et al. (2001) encontraram teores de 1,8-cineol no *E. camaldulensis* entre 69% a 75% na Tailândia, de 72% a 84% na Austrália e Marrocos, de 43% a 55% na Turquia e Burundi e de 29% no Sri Lanka e Austrália; nesse último local, os constituintes variaram também conforme a época de colheita.

De forma geral, os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com os obtidos pelos autores acima citados, mostrando variações no rendimento de óleo essencial e dos constituintes majoritários, de acordo com a época de colheita das folhas e do local de cultivo das plantas.

Deve-se, portanto, tentar aliar as condições de cultivo, como o local e a época de colheita, quando se deseja maximizar os rendimentos na extração de óleo essencial de *E. citriodora* Hook., bem como dos teores do constituinte químico de interesse presente no óleo.

#### 4 CONCLUSÕES

Pode-se inferir que houve uma influência do local de cultivo e da época de colheita no rendimento do óleo essencial e dos constituintes químicos presentes em folhas frescas de *Eucalyptus citriodora* Hook.

O maior rendimento de óleo essencial de *E. citriodora* foi obtido da extração de folhas colhidas no mês de fevereiro em São João del Rei, MG.

O citronelal foi o constituinte químico encontrado em maiores teores no óleo essencial de *E. citriodora*, em folhas colhidas em fevereiro em São Bento Abade, MG.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469p.
- ANDRADE, A.M.; GOMES, S.S. Influência de alguns fatores não genéticos sobre o teor de óleo essencial em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. **Floresta e Ambiente**, v.7, n.1, p.181-189, Jan./Dez. 2000.
- CASTELLANI, D.C. **Crescimento, anatomia e produção de ácido erúico em *Tropaeolum majus* L.** 1997. 108p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- CASTRO, N.E.A.; CARDOSO, M.G.; CARVALHO, G.J. Avaliação de métodos de obtenção de óleo essencial de *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: IAC, 2005.
- CHALCHAT, J.C.; KUNDAKOVIC, T.; GORUNOVIC, M.S. Essential oil the leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn., Myrtaceae from Jerusalem. **Journal of Essential Oil Research**, v.13, p.105-107, Mar./Apr. 2001.
- DORAN, J.C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. ***Eucalyptus* leaf oils: use, chemistry, distillation and marketing**. Melbourne: Inkata, 1991. p.11-28.
- FABROWSKI, F. J. **Caracterização de *Eucalyptus smithii* R.T. Baker (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial em Colombo-PR.** 2002. 225p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.
- FERREIRA, P.V. **Estatística experimental aplicada à agronomia**. 3.ed. Maceió: EDUFAL, 2000. 422p.

GALANTI, S. **Produção de óleo essencial do *Eucalyptus citriodora* Hooker, no município de Torrinha, Estado de São Paulo.** 1987.48p. Monografia (Apresentada ao departamento de Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

MAGALHÃES, M.T. Composição química de óleos essenciais. In: SIMPÓSIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 1988, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 1988. p.21-25.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza: UFC, 1988. 128p.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas:** sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4.ed. Fortaleza: UFC, 2002.

NOLASCO, F. **Deficiências nutricionais em manjeriço (*Ocimum spp.*) sob hidroponia.** 1996. 19p. Monografia (Pós-Graduação) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

PIMENTEL, F. A. et al. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.2,1, 2006. Disponível em: <<http://www.quimicanova.sbq.org.br/>> No prelo. Acesso em: 08 fev. 2006.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia:** da planta ao medicamento. 5.ed.ver. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004.

VITTI, A.M.S. **Avaliação do crescimento e do rendimento e qualidade do óleo essencial de procedências de *Eucalyptus citriodora*.** 1999. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Produção de óleo essencial de eucalipto. Piracicaba: ESALQ/USP/IPEF. **Notícias**, v. 23, n.146, set./out. 1999. (Documentos Florestais).

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. **Óleo essencial de eucalipto.** Piracicaba, SP: ESALQ, 2003. (Documentos Florestais, 17).

WANG, H.; WANG, Z.; XIE, P. Genetic and environmental variations of eucalypt leaf oils. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador, BA. **Anais...** Colombo, PR: EMBRAPA/CNPF, 1997. v.1, p.213-215.

### **CAPÍTULO III**

**AVALIAÇÕES DE RENDIMENTOS E DOS CONSTITUINTES  
QUÍMICOS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES  
DE *Eucalyptus* COLHIDAS EM DIFERENTES ÉPOCAS DO ANO EM  
MUNICÍPIOS DE MINAS GERAIS**

## RESUMO

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. Avaliações de rendimentos e dos constituintes químicos de óleos essenciais de folhas de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em diferentes épocas do ano em municípios de Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 2006. Cap. 3, p.42-61. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Os óleos essenciais de *Eucalyptus* apresentam finalidades múltiplas de acordo com o constituinte majoritário presente em cada um deles. Óleos para fins medicinais apresentam o 1,8-cineol como composto majoritário; óleos industriais apresentam o felandreno em maiores teores; e naqueles utilizados em indústrias de perfumaria, o citronelal é o constituinte majoritário. O rendimento, a composição e a quantidade dos constituintes majoritários desses óleos essenciais podem sofrer influência de fatores ambientais e genéticos. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar o rendimento e os constituintes químicos no óleo essencial de folhas frescas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. citriodora* Hook. e *E. urophylla* L.D. Pryor. Essas foram colhidas em fevereiro e agosto de 2005, nos municípios de Bom Sucesso e São João del Rei (Minas Gerais). Os óleos essenciais foram obtidos por meio de hidrodestilação utilizando-se o aparelho de Clevenger modificado. Determinou-se a umidade da matéria-prima, sendo o rendimento de óleo essencial expresso em volume de óleo por peso de folhas secas com Base Livre de Umidade (% v/pBLU). Para o estudo da identificação e quantificação dos constituintes presentes do óleo essencial, utilizou-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Pelos resultados obtidos, verificou-se que o teor de óleo essencial foi influenciado pela interação da espécie utilizada, da época e do local de colheita. O *E. citriodora* coletado em São João del Rei apresentou maior rendimento de óleo no mês de fevereiro. O citronelal foi o constituinte majoritário identificado no óleo de *E. citriodora*, enquanto nos óleos de *E. camaldulensis* e *E. urophylla*, o constituinte majoritário foi o 1,8-cineol.

---

<sup>1</sup> **Comitê orientador:** Dr Gabriel José de Carvalho – UFLA (Orientador), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## ABSTRACT

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. Yield and main chemical components evaluation of essential oil from leaves of three species of Eucalyptus harvested in different seasons locations of the Commonwealth of Minas Gerais. In: \_\_\_\_\_. **Phytochemical and biological evaluation of eucalyptus essential oil**. 2006. Chapter 3, p.42-61. Thesis (Doctorate in Agronomy Crop Science)-Federal University of Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

*Eucalyptus* essential oil serves multiple purposes according to their major chemical constituent. Oils used for medical purposes show 1,8-cineole as the major compound, also known as eucalyptol; oils used for industrial purposes show higher contents of phellandrene; and oils used for perfumery industry show citronellal as major component. Yield, composition as well as major components quantity of these essential oils can be influenced by both genetic and environmental factors. This work aimed to evaluate essential oil major components and yield of fresh leaves of *E. camaldulensis* Dehnh., *E. citriodora* Hook. and *E. urophylla* L.D.Pryor. Harvest took place in February and August of 2005, in three different municipalities. Hydrodistillation was used to extract essential oil using the modified Clevenger apparatus. The raw material moisture was determined. The essential oil yield was expressed in volume of oil per dry leaves weight on moisture free basis. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was used in order to identify and to quantify essential oil components. Results showed that interaction among species, harvest time and location had influence on essential oil yield. The *E. citriodora* showed a higher oil yield in February in the City of São João del Rei. Citronellal was found to be the major component in *E. citriodora* oil and 1,8-cineole was the major component in *E. camaldulensis* and *E. urophylla*.

---

<sup>1</sup> **Comitê orientador:** Dr Gabriel José de Carvalho – UFLA (Orientador), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

## 1 INTRODUÇÃO

Segundo a International Organization for Standardization (ISO), óleos voláteis são produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação por arraste com vapor d'água, ou obtidos por expressão de pericarpos de frutos cítricos. São substâncias constituídas de numerosos compostos voláteis, lipofílicas, sendo geralmente odoríferas e líquidas. Também denominados de óleos essenciais, óleos etéreos ou essências, devido a algumas de suas características físico-químicas, sendo a principal delas a volatilidade (Simões et al., 2004).

Doran (1991) e Harbone (1993) mostraram que em algumas espécies de *Eucalyptus* os óleos essenciais são sintetizados em glândulas endógenas, que eventualmente se rompem liberando substâncias na cavidade resultante do rompimento dessas glândulas. Considera-se que há uma relação entre os óleos essenciais com funções ecológicas da planta, como a sobrevivência e/ou manutenção dessa conferindo a ela capacidade de adaptação às condições do meio em que vive. Podem estar envolvidos em efeitos alelopáticos, como nas interações animal-planta, planta-microrganismos e planta-planta. Os óleos essenciais de algumas espécies de *Eucalyptus* apresentam boas perspectivas de comercialização, sendo o Brasil um dos países que mais produzem alguns desses óleos. Cerca de 20 espécies de eucaliptos produzem óleos essenciais de interesse comercial, sendo esses óleos divididos em três grupos em função do seu uso final: óleos medicinais, óleos industriais e óleos para perfumaria.

Entre os óleos para perfumaria, a espécie *E. citriodora* Hook. é a fonte mais rica e econômica de citronelal, utilizado desde a fabricação de cosméticos até a aromatização de produtos de limpeza, como sabões e detergentes. Possui propriedade anti-séptica, o que justifica seu uso como agente de limpeza, aromatizante e desinfetante de pisos e sanitários (Vitti, 1999; Matos, 2002).

Segundo Simões et al. (2004), óleos de eucaliptos que apresentam propriedades medicinais são aqueles que apresentam em sua composição o 1,8-cineol, como por exemplo encontrado no óleo essencial da espécie *E. globulus* Labill. Essa espécie não é muito cultivada no Brasil, sendo sugerido que outras espécies que também apresentem o 1,8-cineol na sua composição devam ser mais investigadas.

De acordo com Wang et al., (1997), a produtividade, a composição e os teores dos constituintes químicos dos óleos essenciais podem sofrer alterações devido a fatores genéticos e ambientais. A umidade relativa, radiação solar, temperatura e o estresse hídrico são alguns dos fatores ambientais citados como relevantes. Além desses, citam-se, entre outros, a parte utilizada, a idade da planta e da folha, o tipo de manejo florestal, métodos de amostragem das folhas, processos de extração e de análise de óleo (Simon et al., 1992; Vitti, 1999).

Vitti & Brito (2003) encontraram maiores rendimentos e maiores concentrações de citronelal no óleo essencial da espécie *E. citriodora* Hook. em determinadas épocas do ano (inverno e primavera).

Chalchat et al. (2001) mostraram que o óleo essencial de *E. camaldulensis* Dehnh. apresentou como constituinte majoritário, o 1,8-cineol, ocorrendo variações nos teores desse de acordo com o local de cultivo das plantas utilizadas.

Assim, no presente trabalho objetivou-se verificar as variações dos rendimentos e dos constituintes químicos do óleo essencial de três espécies de *Eucalyptus* em diferentes épocas e locais de colheita.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado, folhas jovens e frescas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. citriodora* Hook. e *E. urophylla* L.D.Pryor. foram colhidas em reflorestamentos da Gerdau Florestal em Bom Sucesso (20°58'S, 44°48'W e 950 m alt.) e São João del Rei (21°16'S, 44°54'W e 910 m alt.), municípios de Minas Gerais. Esses apresentam clima do tipo Cwb pela classificação climática de Köppen, caracterizado por verão chuvoso e inverno seco com precipitação média anual de 1.411 mm e temperatura média anual de 19,3 °C.

As colheitas foram realizadas entre os dias 25 - 28 de fevereiro e 25 - 30 de agosto de 2005, sempre até as 10 horas, em dias sem precipitação pluviométrica com umidade relativa máxima de 60%. As folhas frescas foram fragmentadas e separadas em amostras de 50 gramas; quando necessário, foram mantidas sob refrigeração com temperatura em torno de 2 °C.

As análises de solo utilizadas foram realizadas pela empresa para fins de adubação de manutenção da fertilidade da área do reflorestamento. O espaçamento utilizado foi de 2,0 x 3,0 m, com a finalidade para produção de madeira e carvão utilizado em siderurgia.

As parcelas utilizadas para o experimento foram constituídas de 67 plantas em 400 m<sup>2</sup> (20 x 20 m) nos dois locais, localizados no interior de talhões com a referida espécie. Dessas 67, foram sorteadas e identificadas 20 plantas para posterior colheita de folhas, e constituíram um tratamento. Cada tratamento foi estabelecido como folhas de eucalipto de cada espécie em cada época e local, totalizando 12 tratamentos.

As plantas utilizadas eram rebrotas com três anos de idade (com 5,0 a 7,0 m de altura) de árvores com um corte realizado aos sete anos. As folhas

colhidas situavam-se no terço inferior da planta, de ramos com diâmetro inferior a 1,5 cm.

Foram colhidas para fins de análise, em torno de 200 g de folhas jovens por planta, totalizando quatro quilogramas das 20 plantas de cada talhão de cada espécie em cada época e local, e constituíram uma amostra composta. Em seguida, essas foram homogeneizadas e retiradas amostras de 50 gramas cada uma, constituindo uma amostra. Foram utilizadas três amostras de cada tratamento para as extrações de óleos essenciais e avaliação de umidade das folhas.

Para determinação do teor de umidade das folhas, utilizou-se o Sistema de Dean & Stark, cujo funcionamento baseia-se no princípio da imiscibilidade de solventes; nesse caso, o ciclohexano e a água, conforme Pimentel et al., (2006).

Para obtenção do óleo essencial das folhas frescas, utilizou-se o aparelho Clevenger modificado, conforme Matos (1988). As amostras (50 g) foram acondicionadas em balões com 500 mL de água destilada. A extração foi realizada no período de duas horas. Centrifugou-se o hidrolato utilizando uma centrífuga de cruzeta horizontal (raio = 5 cm) a 4.500 rpm (aproximados 1.130 forças g) por 60 segundos, conforme estudos preliminares (Castro et al., 2005). O rendimento do óleo essencial foi calculado e expresso em volume de óleo por peso de folhas frescas (%v/p) e com base na matéria seca ou Base Livre de Umidade (%v/p BLU) (Pimentel et al., 2006).

Os dados obtidos nas avaliações foram submetidos à análise de variância, sendo os efeitos das espécies de eucalipto, das épocas de colheita e dos locais de cultivo comparados pelo teste de Tukey quando significativos (Ferreira, P., 2000). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o Sistema de Análise de Variância – SISVAR, conforme Ferreira, D. (2000).

As análises qualitativas dos óleos foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM), utilizando-se um aparelho Shimadzu CG-17A com detector seletivo de massa modelo QP 5000 sob as seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5 (0,25 µm de espessura de filme); temperatura do injetor de 220 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 40 °C, sendo acrescidos 3 °C a cada minuto até atingir 240 °C; gás carreador hélio (1 mL min<sup>-1</sup>); taxa de split 1:10; volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão inicial na coluna de 100,2 KPa. As condições de EM foram: energia de impacto de 70 eV; velocidade de decomposição 1.000; intervalo de decomposição de 0,50; e fragmentos de 45 Daltons a 450 Daltons decompostos. Injetou-se, nas mesmas condições das amostras, uma mistura de hidrocarbonetos (C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>; C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>; C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>; ... C<sub>24</sub>H<sub>50</sub>; C<sub>25</sub>H<sub>52</sub> e C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>). A identificação dos constituintes foi realizada comparando-se os espectros obtidos com os do banco de dados do aparelho e pelo índice de Kovats calculado para cada constituinte, conforme Adams (1995).

A determinação dos teores dos constituintes químicos do óleo essencial foi efetuada por meio de cromatografia gasosa por ionização de chamas (FID), utilizando-se um aparelho Shimadzu GC-17A nas seguintes condições experimentais: coluna capilar DB5; temperatura do injetor de 220 °C; temperatura de detector FID de 240 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 40 °C até 240 °C; gás carreador nitrogênio (2,2mL min<sup>-1</sup>); taxa de split 1:10; e volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 KPa. A quantificação de cada constituinte foi realizada por meio de normalização de áreas (%).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizadas as espécies *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *E. citriodora* Hook. e *E. urophylla* L.D. Pryor nas duas localidades, pela disponibilidade de mesmas espécies com a mesma idade nesses reflorestamentos da Gerdau Florestal (rebrotas com 3 anos).

Nas duas áreas onde foram realizadas as colheitas de folhas frescas, o plantio de eucalipto é utilizado pelas características favoráveis de topografia, tipo de solo, clima etc, além da proximidade das unidades consumidoras – siderúrgicas.

Os resultados das análises de solo, das duas áreas onde foram realizadas as colheitas, estão apresentados no Anexo 1.

Pelos resultados dos valores de umidade (U%) obtidos e apresentados na Tabela 3.1, constatou-se que folhas colhidas no mês de fevereiro apresentaram maiores teores de umidade, independente da espécie e local de colheita. Provavelmente, esses maiores valores ocorreram devido à maior precipitação pluviométrica média em fevereiro (207 mm) em relação ao mês de agosto (33 mm), na média dos dois municípios.

**TABELA 3.1.** Teor de umidade (U%) obtido em folhas jovens e frescas de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Espécie	Municípios			
	Bom Sucesso		São João del Rei	
	Fevereiro	Agosto	Fevereiro	Agosto
<i>E. citriodora</i>	52	44	60	48
<i>E. camaldulensis</i>	54	46	58	48
<i>E. urophylla</i>	57	46	54	46

Essa consideração deve-se ao fato de que a umidade, em termos de massa absoluta de material úmido, pode conduzir a rendimentos diferentes com interpretações distintas, conforme pesquisa com óleo essencial de *E. smithii* R.T. Baker realizada por Fabrowski (2002).

Os rendimentos de óleos essenciais extraídos de folhas jovens e frescas das três espécies de eucalipto foram avaliados em Base Livre de Umidade (BLU) e pelos resultados obtidos, verificou-se que houve efeito significativo a 5% de probabilidade pela análise de variância, para as variáveis espécie de eucalipto utilizada, época de colheita e local de cultivo, e também para a interação desses. A probabilidade foi não-significativa apenas para a interação local de cultivo e época de colheita. Ou seja, existe uma probabilidade de que ocorra variação na produção de óleos essenciais de eucaliptos, das três espécies consideradas, dependendo da época de colheita e do local de cultivo.

Os resultados da análise de variância e do teste de médias são apresentados nas Tabelas 3.2 e 3.3, respectivamente.

**TABELA 3.2.** Análise de variância com teste F a 5% de probabilidade para o rendimento de óleo essencial extraído de folhas jovens e frescas de três espécies de *Eucalyptus* em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

FV	G	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Espécie	2	72.443817	36.221908	148.105	0.0000 *
Local	1	1.120069	1.120069	4.580	0.0427 *
Época	1	5.499025	5.499025	22.485	0.0001 *
Espécie* Local	2	4.366772	2.183386	8.927	0.0013 *
Espécie*Época	2	12.600950	6.300475	25.761	0.0000 *
Local*Época	1	0.153403	0.153403	0.627	0.4361 NS
Espécie*Época*Local	2	3.798572	1.899286	7.766	0.0025 *
Erro	24	5.869667	0.244569		
<b>Total corrigido</b>	<b>35</b>	<b>105.85557</b>			

\* Significativo a 5% pelo teste F; CV = 24,21%; Média geral: 2,04

**TABELA 3.3.** Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por peso de folhas jovens e frescas, em Base Livre de Umidade (% v/p BLU), de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Espécie	Municípios			
	Bom Sucesso		São João Del Rei	
	Fevereiro	Agosto	Fevereiro	Agosto
<i>E. citriodora</i>	4,28 bA	2,56 cA	6,15 aA	3,06 cA
<i>E. camaldulensis</i>	1,45 bB	0,93 bB	0,93 bB	2,22 aA
<i>E. urophylla</i>	1,24 aB	0,74 aB	0,55 aB	0,39 abB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Esses resultados dos rendimentos de óleo essencial em %v/p BLU foram superiores e variaram de 180 a 250% em relação aos resultados obtidos quando não se considerou a umidade das folhas (% v/p), e esses estão apresentados na Tabela 3.4.

**TABELA 3.4.** Rendimento de óleo essencial em porcentagem de volume de óleo por de folhas jovens e frescas (%v/p) de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Espécie	Municípios			
	Bom Sucesso		São João Del Rei	
	Fevereiro	Agosto	Fevereiro	Agosto
<i>E. citriodora</i> Hook.	2,05 bA	1,43 cA	2,46 aA	1,59 cA
<i>E. camaldulensis</i> Dehnh	0,67 bB	0,50 bB	0,40 bB	1,20 aA
<i>E. urophylla</i> L.D.Pryor	0,53 aB	0,40 aB	0,25 aB	0,21 aB

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Independente da época de colheita e do local de cultivo, a espécie *E. citriodora* Hook. apresentou os maiores rendimentos de óleo essencial

Em relação ao local de cultivo, plantas cultivadas em São João del Rei expressaram maior produção de óleo essencial.

Quanto à época de colheita, para a realizada no mês de fevereiro, os resultados foram superiores para o rendimento de óleo essencial, exceto para o tratamento em que a espécie *E. camaldulensis* foi cultivada em São João del Rei, sendo o mês de agosto aquele em que houve o maior rendimento de óleo.

Essa divergência nos resultados, apesar de contraditória, nos direcionam no sentido de se esperar que isso ocorra, ou seja, os maiores teores de óleos

ocorreriam de fato em agosto, devido às condições menos favoráveis, o que poderia condicionar a planta a alguma condição de “stress”, como menores precipitação pluviométrica (33 mm) e temperaturas (média de 15 °C, chegando a 5 °C), em relação ao mês de fevereiro, que apresentou precipitações e temperaturas favoráveis ao desenvolvimento das plantas.

Com relação à época de colheita das folhas, os resultados obtidos diferem dos encontrados por Andrade & Gomes (2000) no município de Seropédica, RJ, já que obtiveram maior rendimento de óleo essencial de *E. citriodora* de folhas maduras colhidas no outono em relação às folhas colhidas no verão. Com resultados semelhantes, Vitti & Brito (1999) consideraram que folhas de eucalipto colhidas nos meses mais secos do ano (abril a setembro) propiciaram um maior rendimento de óleo essencial, em razão do menor teor de umidade nas folhas.

Para a espécie *E. camaldulensis*, folhas colhidas no mês de agosto no município de São João del Rei apresentaram maior rendimento de óleo (2,22%v/pBLU) sendo semelhantes aos resultados encontrados pelos autores acima citados.

Já para a espécie *E. urophylla*, praticamente não houve diferença significativa entre os locais e épocas de colheita para o rendimento de óleo essencial. Esta espécie apresentou os menores rendimentos de óleo essencial porém não diferiram estatisticamente dos tratamentos com *E. camaldulensis*.

O local de cultivo também demonstrou exercer influência no rendimento de óleo essencial de *E. camaldulensis* e *E. citriodora*. Resultados semelhantes a esses, foram obtidos por Chalchat et al. (2001), os quais encontraram rendimentos de óleo essencial de *E. camaldulensis* de 1,0% a 2,6% em plantas cultivadas na Tailândia, enquanto plantas cultivadas no Marrocos produziram de 0,8% a 1,3% e apenas 0,50% foi obtido de plantas cultivadas em Israel

(Jerusalém). Concluíram que o local de cultivo influenciou largamente na produção de óleo essencial.

Magalhães (1988) ressalta que no óleo de *E. citriodora*, como em outros óleos, cada constituinte tem um perfil característico e cada aroma e sabor é uma combinação dos perfis de seus constituintes; em certos casos, pode haver predominância de um componente, como, por exemplo do citronelal no óleo essencial dessa espécie.

Na identificação e quantificação dos constituintes químicos presentes nos óleos essenciais de folhas frescas das três espécies de *Eucalyptus*, analisados por CG-EM e CG com detector FID das amostras colhidas nas duas épocas e nos dois locais, pelos resultados verificou-se uma composição química definida para cada um dos óleos conforme a espécie de eucalipto utilizada.

O óleo extraído de cada uma das espécies apresentou uma composição química definida; esses constituintes apresentaram variações nos seus teores, de acordo com a época de colheita das folhas e do local de cultivo.

Para o *E. citriodora*, o constituinte majoritário citronelal variou de 67,64% a 86,11%, e não seguiu um padrão, ou seja, no município de Bom Sucesso, o maior teor foi obtido de folhas colhidas em fevereiro, ao passo que em São João del Rei, o maior teor foi obtido de folhas colhidas em agosto. Os maiores teores de citronelal foram obtidos em plantas cultivadas em São João del Rei.

Para as espécies de *E. camaldulensis* e *urophylla*, o constituinte majoritário identificado foi o 1,8-cineol, com variações de 25,73% a 70,27% e de 36,73% a 72,54%, respectivamente. Para as duas espécies, os óleos extraídos de folhas no mês de agosto no município de Bom Sucesso foram os que apresentaram maiores teores desse constituinte.

Na Tabela 3.5 são apresentados os constituintes identificados com seus teores (%) e respectivos índices de Kovats, presentes nos óleos essenciais das três espécies de eucaliptos, colhidas em duas épocas nos dois municípios de MG.

**TABELA 3.5.** Constituintes presentes (%) nos óleos essenciais extraídos de folhas jovens e frescas de três espécies de *Eucalyptus* colhidas em duas épocas em dois municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Espécies e constituintes	IK	Municípios			
		Bom Sucesso		São João del Rei	
		Fevereiro	Agosto	Fevereiro	Agosto
<i>E. camaldulensis</i> Dehnh.					
$\alpha$ -Pineno	939	--	5,00	--	12,39
$\beta$ -Pineno	980	0,70	3,99	1,51	14,85
$\rho$ -Cimeno	1.026	2,94	0,77	--	--
1,8-Cineol	1.033	25,73	70,27	46,61	63,69
$\gamma$ -Terpineno	1.062	0,74	0,53	--	--
4-Transpinocarveol	1.139	--	--	3,31	--
4-Terpineol	1.177	1,51	1,55	--	--
$\alpha$ -Terpineol	1.189	2,54	5,61	13,28	2,55
(E)-Farneseno	1.458	--	--	4,70	--
Ledol	1.565	--	--	2,85	--
Globulol	1.583	3,91	8,32	18,92	6,51
Viridiflorol	1.590	--	--	5,26	--
Benzil Benzoato	1.762	34,18	--	--	--
Mandelonitrila		22,61	--	--	--
Outros		5,14	3,96	3,56	0,1
<b>Total</b>		<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

“Continua....”

“TABELA 3.5. Continuação.”

Espécies e constituintes	IK	Municípios			
		Bom Sucesso		São João del Rei	
		Fevereiro	Agosto	Fevereiro	Agosto
<b><i>E. citriodora</i> Hook.</b>					
β-Pineno	980	--	--	0,36	0,51
1,8-Cineol	1.033	1,38	2,25	1,02	--
Isopulegol	1.145	1,61	2,92	2,95	2,33
Citronelal	1.153	77,87	67,64	83,03	86,11
β-Citronelal	1.153	0,90	2,82	0,80	--
Citronelol	1.228	18,04	20,84	11,60	11,05
Viridiflorol	1.590	0,20	--	--	--
Outros		0,00	3,53	0,24	0,00
<b>Total</b>		<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>
<b><i>E. urophylla</i> L.D.Pryor</b>					
α-Pineno	939	--	--	--	26,00
β-Pineno	980	--	--	--	4,63
O-Cimeno	1.022	1,47	4,77	--	9,26
1,8-Cineol	1.033	36,73	72,54	43,00	47,43
Isopulegol	1.145	17,12	--	13,39	--
α-Terpineol	1.189	3,22	1,35	4,13	1,40
Terpenil Acetato	1.315	2,74	--	--	--
Citronelil Acetato	1.354	13,05	16,15	12,75	9,65
Espatulanol	1.576	--	1,30	--	0,70
Óxido de Cariófileno	1.581	6,64	3,89	6,20	0,93
Outros		19,03	0,00	20,53	0,00
<b>Total</b>		<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

IK – Índice de Kovats (Adams, 1995).

Ao considerar o local de cultivo, Chalchat et al. (2001) encontraram teores variáveis de 1,8-cineol no *E. camaldulensis* em diversos locais considerados, como de 69% a 75% na Tailândia; de 72% a 84% na Austrália e

Marrocos; de 43% a 55% na Turquia e Burundi e de 29% no Sri Lanka e Austrália; nesse último local variou também conforme a época de colheita.

De forma geral, os resultados do presente trabalho corroboram com os obtidos pelos autores acima citados, que sugeriram ocorrer variações no rendimento de óleo essencial e do composto majoritário, de acordo com a espécie utilizada, a época de colheita das folhas e o local de cultivo das plantas.

Assim, é importante definir a melhor época para se expressar o maior potencial de produção de óleos essenciais e seus constituintes químicos, para cada espécie e região, de tal forma que o produtor possa ter maior rendimento a partir de suas plantas.

## 4 CONCLUSÕES

A produção de óleos essenciais foi influenciada pela espécie de eucalipto utilizada, época de colheita e local de cultivo.

A espécie *Eucalyptus citriodora* Hook. apresentou o maior rendimento de óleo essencial, obtido da extração de folhas jovens colhidas no mês de fevereiro de 2005, em São João del Rei, MG, e pode ser considerada como promissora para produção de óleo essencial na região, principalmente para óleos com altos teores de citronelal, de interesse das indústrias de perfumaria.

Já para o *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., o melhor rendimento de óleo essencial foi obtido de folhas colhidas no mês de agosto de 2005, em São João del Rei; porém, com teor médio de 1,8-cineol. Sugere-se mais estudos sobre a referida espécie para justificar seu uso como produtora de óleos essenciais de uso medicinal, principalmente se cultivada na região considerada neste estudo.

A espécie *E. urophylla* L.D. Pryor não apresentou resultados promissores de produção de óleos essenciais com altos teores de 1,8-cineol, não sendo considerada para tal finalidade na região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469p.
- ANDRADE, A.M.; GOMES, S.S. Influência de alguns fatores não genéticos sobre o teor de óleo essencial em folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook. **Floresta e Ambiente**, v.7, n.1, p.181-189. Jan./Dez. 2000.
- CASTRO, N.E.A.; CARDOSO, M.G.; CARVALHO, G.J. Avaliação de métodos de obtenção de óleo essencial de *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: IAC, 2005.
- CHALCHAT, J.C.; KUNDAKOVIC, T.; GORUNOVIC, M.S. Essential oil the leaves of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn., Myrtaceae from Jerusalem. **Journal of Essential Oil Research**, v.13, p.105-107, Mar./Apr. 2001.
- DORAN, J.C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. ***Eucalyptus* leaf oils, chemistry and marketing**. Melbourne: Inkata, 1991. p.11-28.
- FABROWSKI, F.J. **Caracterização de *Eucalyptus smithii* R.T. Baker (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial em Colombo-PR**. 2002. 225p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- FERREIRA, D.F. Análise estatística por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.
- FERREIRA, P.V. **Estatística experimental aplicada à agronomia**. 3.ed. Maceió: EDUFAL, 2000. 422p.
- HARBONE, J.B. **Ecological biochemistry**. 4.ed. London: Academic, 1993.
- MAGALHÃES, M.T. Composição química de óleos essenciais. In: SIMPÓSIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 1988, Viçosa. **Anais...** Viçosa, MG: UFV, 1988. p.21-25.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 1988. 128p.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas**: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4.ed. Fortaleza: UFC, 2002.

PIMENTEL, F.A. et al. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.2,1, 2006. Disponível em: <<http://www.quimicanova.sbq.org.br/Prelo.>>. Acesso em: 08 fev. 2006.

SALGADO, A.P.S.P. **Estudo dos constituintes químicos e da atividade fungitóxica do óleo essencial das folhas de *Eucalyptus***. 2001. 52p. Dissertação (Mestrado em Fitoquímica)–Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5.ed.ver. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004.

SIMON, J. E. et al. Water stress-induced alterations in essential oil content and composition of sweet basil. **Journal of Essential Oil Research**, v.4, p.71-75, 1992.

VITTI, A.M.S. **Avaliação do crescimento e do rendimento e qualidade do óleo essencial de procedências de *Eucalyptus citriodora***. 1999. 83p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais)-Escola Superior Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. Produção de óleo essencial de eucalipto. Piracicaba: ESALQ/USP/IPEF. **Notícias**, v.23, n.146, set./out. 1999 (Documentos Florestais).

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. **Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba, SP: ESALQ, 2003. (Documentos Florestais, 17).

WANG, H.; WANG, Z.; XIE, P. Genetic and environmental variations of eucalypt leaf oils. In: IUFRO CONFERENCE ON SILVICULTURE AND IMPROVEMENT OF EUCALYPTS, 1997, Salvador, BA. **Anais...** Colombo, PR: EMBRAPA/CNPQ, 1997. v.1, p.213-215.

## **CAPÍTULO IV**

### **IDENTIFICAÇÃO DOS CONSTITUINTES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH. E O EFEITO DESSE ÓLEO SOBRE O CRESCIMENTO DO PROTOZOÁRIO TRIPANOSOMATÍDEO**

*Herpetomonas samuelpessoai*

## RESUMO

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. Identificação dos constituintes do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. e o efeito desse óleo sobre o crescimento do protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai*. In: \_\_\_\_\_. **Caracterização fitoquímica de óleos essenciais de eucalipto e seu efeito sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai***. 2006. Cap. 4, p.62-81. Tese (Doutorado em Agronomia. Fitotecnia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Extratos de plantas com compostos biologicamente ativos vêm sendo testados em *Herpetomonas samuelpessoai*, um protozoário tripanosomatídeo não-patogênico utilizado como modelo de estudo devido às suas semelhanças biológicas com o *Trypanosoma cruzi*, agente causador da Doença de Chagas. Algumas espécies de *Eucalyptus* (Myrtaceae) apresentam interesse por sua produção e composição de óleos essenciais. De acordo com a composição química de cada um, podem ser utilizados para produtos farmacêuticos, perfumarias e industriais. O óleo essencial de *E. camaldulensis* Dehnh apresenta como componente majoritário o 1,8-cineol, composto com propriedades medicinais comprovadas. Objetivou-se neste trabalho identificar e quantificar os constituintes químicos presentes no óleo essencial de *E. camaldulensis* e avaliar o efeito desse sobre o crescimento celular do protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai*. Folhas frescas foram utilizadas para obtenção do óleo essencial. Para a identificação e quantificação dos constituintes presentes no óleo, utilizaram-se a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) e a cromatografia gasosa com detector FID. O componente majoritário encontrado no óleo essencial de *E. camaldulensis* foi o 1,8-cineol, com 59,43%, um composto com propriedades medicinais comprovadas. Culturas de *H. samuelpessoai* na concentração de  $5 \times 10^6$  células mL<sup>-1</sup> foram incubadas em meio Brain Heart Infusion suplementado com 10% de soro fetal bovino e contendo diferentes concentrações do óleo (10, 1 e 0,1 mg mL<sup>-1</sup>). Após 24 horas, realizou-se a contagem das células em câmara de Neubauer em microscópio ótico de campo claro com aumento de 40x. Resultados do estudo biológico demonstraram um efeito inibitório do óleo essencial de *E. camaldulensis* sobre o crescimento celular de *H. samuelpessoai*. A dose que inibiu 50% do crescimento celular (IC<sub>50</sub>) foi estimada em aproximadamente

---

<sup>1</sup> **Comitê orientador:** Dr Gabriel José de Carvalho – UFLA (Orientador), Drª Maria das Graças Cardoso – UFLA.

90,1  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Concluiu-se que o óleo essencial de *E. camaldulensis* apresenta-se como um potencial agente fitoterápico para o controle de protozoários tripanosomatídeos e de outros parasitos que afetam a saúde humana.

## ABSTRACT

CASTRO, Nilmar Eduardo Arbex de. *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. essential oil chemical components and their effect on trypanosomatid protozoan *Herpetomonas samuelpessoai* growth. In: \_\_\_\_\_. **Phytochemical and biological evaluation of eucalyptus essential oil**. 2006. Chapter 4, p.62-81. Thesis (Doctorate in Agronomy Crop Science) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

Plant extracts with biologically active compounds have been tested on *Herpetomonas samuelpessoai*, a non-pathogenic trypanosomatid protozoan, used as a study model due to its biological similarities with *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas' disease. Some *Eucalyptus* (Myrtaceae) species are of interest, related to essential oils production and composition. Essential oil serves pharmaceutical, phytochemical, perfumery industries according to their major chemical constituents. *E. camaldulensis* essential oil has 1,8-cineol as main compound, that is known to have medical properties. The aim of this work was to identify and quantify the major components of the *E. camaldulensis* essential oil and to evaluate its effect on trypanosomatid protozoan *Herpetomonas samuelpessoai* cell growth. Hydrodistillation of fresh leaves followed by hydrosol centrifugation were used to extract essential oil. Gas chromatography with FID detector was used to identify and quantify essential oil chemical components. Oil from *E. camaldulensis* was found to have the highest levels of 1,8-cineol (59,43%), well known for its medical properties. *H. samuelpessoai* cultures with concentration of  $5 \times 10^6$  cells.mL<sup>-1</sup> were incubated in Brain Heart Infusion supplemented with 10% fetal calf serum and containing different essential oil concentrations (10, 1 or 0.1 mg.mL<sup>-1</sup>). Assessment of growth by cell counting in a Neubauer chamber was determined after 24 h, by light microscopy, using a 40X objective. The results showed the inhibitory effect of *E. camaldulensis* essential oil on *H. samuelpessoai* cell growth. A dose of about 90.1 µg.mL<sup>-1</sup> inhibited 50% cell growth (IC<sub>50</sub>). Therefore, *E. camaldulensis* essential oil is a potential phytotherapeutic agent for the control of parasites that affect the humans such as trypanosomatid protozoa.

---

<sup>1</sup> **Comitê orientador:** Dr Gabriel José de Carvalho – UFLA (Orientador), Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Cardoso – UFLA.

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Aspectos gerais sobre protozoários tripanosomatídeos

Doenças causadas por protozoários causam grande mortalidade humana em países tropicais e subtropicais, com um número limitado de medicamentos utilizados no tratamento de tripanosomíases, amebíases, leishmanioses e malária.

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, é uma infecção endêmica das Américas Central e do Sul. Nas pessoas infectadas, grande parte dos casos é diagnosticado durante a fase crônica e o tratamento específico apresenta-se controverso, devido às dificuldades para avaliar sua eficácia e os custos do risco-benefício, sobretudo ao se considerarem os efeitos colaterais das drogas disponíveis e a resistência que os protozoários patogênicos adquirem a elas (Mello, 1997; Essawi & Srour, 2000).

Protozoários da família Trypanosomatidae compreendem um vasto número de espécies, algumas das quais podem causar doenças como as leishmanioses e a doença de Chagas. No entanto, outros tripanosomatídeos não-patogênicos aparecem como importantes modelos para o estudo sobre os processos da biologia celular básica, replicação de RNA, variação gênica, etc. (De Souza & Motta, 1999). Diversos grupos de pesquisas utilizam como modelo biológico a *Herpetomonas samuelpessoai*, um tripanosomatídeo não patogênico de insetos que apresenta antígenos semelhantes ao *T. cruzi* (Souza et al, 1974; Tagboto & Townson, 2001).

O ciclo do *T. cruzi* envolve uma fase em mamíferos, em que o parasita se multiplica intracelularmente sob a forma amastigota, e uma fase no intestino de insetos hematófagos da família *Reduviidae* conhecidos popularmente como “barbeiros”, onde esses protozoários se desenvolvem extracelularmente sob a

forma epimastigota. A forma responsável pela transferência entre hospedeiros e vetores, é a tripomastigota, que ocorre tanto nos mamíferos quanto nos insetos. Nos mamíferos os tripomastigotas localizam-se no sangue e recebem o nome de tripomastigotas sanguíneas, enquanto que nos insetos recebem o nome de tripomastigotas metacíclicos e localizam-se no trato digestivo. Essa heterogeneidade genética e biológica do *T. cruzi* permite infectar um número elevado de hospedeiros, o que dificulta ainda mais seu controle nas várias fases de seu ciclo (Carreira, 2001).

Gonzalez (1997) estudou a interação parasita/hospedeiro com insetos vetores infectados com *T. cruzi*, tendo sugerido a existência de um controle neuro-endócrino dos insetos sobre as células epiteliais do tubo digestivo e o crescimento da membrana perimicrovilar (revestimento interno do estômago), o que fornece um ambiente propício ao desenvolvimento e à sobrevivência do *T. cruzi*.

Sarquis (2003), em estudos de aspectos epidemiológicos da doença de Chagas na zona rural de Juguarana, Ceará, observou 1.773 exemplares de espécies de triatomíneos (barbeiros) capturados e identificou 302 deles infectados pelo *T. cruzi*. Constatou também que das 631 pessoas residentes na comunidade, 23 indivíduos apresentaram soro-positividade, confirmada em 17 desses casos.

## **1.2 Uso de espécies vegetais com propriedades tripanosomicidas**

Plantas de uso popular têm sido utilizadas nos tratamentos de doenças causadas por protozoários, como no caso da malária, onde mais de 30 espécies de vegetais são utilizadas, sendo algumas com validação médica (Hidalgo, 2003). Em vários estudos com tripanosomas verificou-se a viabilidade do uso de plantas com possíveis propriedades tripanosomicidas. Mikus et al. (2000)

relataram o efeito tóxico dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Melaleuca alternifolia* sobre o *Trypanosoma brucei*, o agente causador da tripanosomíase- africana, transmitida pela mosca “tsé-tsé”. Esse mal causa mais de 350 mil vítimas anuais, principalmente no continente africano, tendo merecido ao longo dos tempos o empenho dos cientistas, em tentar minorar a todo custo, o sofrimento causado pela doença.

Holetz et al. (2002) verificaram o efeito de extratos brutos ou óleos essenciais de 15 plantas medicinais adicionados ao meio definido sobre o crescimento e diferenciação celular do tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpeessoai*. Concluíram que *Lippia alba*, *Piper regnellii*, *Stryphnodendron adstringens* e *Tanacetum vulgare* apresentaram atividade anti-protozoário. Esses pesquisadores sugeriram que esses vegetais podem ser utilizados como modelos para seleção de plantas que contêm drogas tripanosomicidas.

Holetz et al. (2003), em trabalho semelhante com *Herpetomonas samuelpeessoai*, verificaram que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* teve um efeito inibitório sobre o crescimento dos parasitas, abrindo, assim, perspectivas promissoras para o uso de mais drogas de origem vegetal com propriedades tripanosomicidas.

Nesses trabalhos demonstram-se a diversidade de pesquisas e a importância que essas doenças representam, principalmente aos moradores da zona rural, nas mais diversas regiões do Brasil e outros países tropicais. Pela vasta bibliografia acerca dessas doenças tropicais, existe um consenso de que compostos que apresentem atividade tripanosomicida, principalmente os obtidos de extratos de plantas de uso popular, precisam ser mais bem investigados.

Nolasco (1996) considera que as perspectivas comerciais de utilização dos óleos essenciais são excelentes, pelas finalidades a que se destinam. O uso desses óleos na terapia é um conceito que precisa ser amplamente estudado, pelo potencial que representam nas formulações farmacêuticas, além de um número

bastante amplo de vegetais existentes nas diversas regiões, onde os habitantes locais poderiam fazer mais uso e com maior segurança dessas espécies.

### 1.3 Óleos essenciais de eucalipto

Os óleos essenciais referem-se a um grupo de substâncias naturais aromatizantes, que são extraídas de diversas partes de alguns vegetais por meio de destilação por arraste com vapor d'água ou obtidas ao se espremer pericarpos cítricos. São substâncias líquidas constituídas de numerosos compostos voláteis, com tensões de vapor elevadas, odoríferos, insolúveis em água, porém solúveis em álcool e em vários solventes imiscíveis na água. Também são descritos como óleos voláteis, óleos etéreos ou essências (Simões et al., 2004).

Das espécies do gênero *Eucalyptus* (Myrtaceae), cerca de 20 espécies produzem óleos essenciais e são citadas comercialmente pela gama de constituintes químicos identificados em cada óleo. Estes óleos encontram-se divididos em três grupos em razão do seu uso final: óleos medicinais, óleos industriais e óleos para perfumaria (Doran, 1991).

Óleos essenciais de eucaliptos com propriedades medicinais são aqueles que apresentam em sua composição o 1,8-cineol. Entre as espécies produtoras desse tipo de óleo, o *E. globulus* é uma das principais, apresentando teores de 30% a 90% de 1,8-cineol. Essa espécie não é muito cultivada no Brasil, razão pela qual existem estudos com outras espécies como *E. camaldulensis*, *E. smithii*, *E. tereticornis* e *E. dives* (var. *cineol*), que também apresentam cineol na composição de seus óleos, com rendimentos variados em cada espécie (Vitti & Brito, 2003).

Óleos essenciais contendo cineol ou eucaliptol são utilizados em preparações e produtos farmacêuticos, em loções para uso local como anestésico suave e anti-séptico. A eucaliptona, outro constituinte extraído das folhas,

apresenta ação contra *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus* e outras bactérias cariogênicas. O extrato aquoso das folhas e o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* mostraram-se ativos contra *Staphylococcus aureus* (Matos et al., 2004).

Segundo Franceschini Filho (2004), em pesquisa realizada na Universidade Estadual Paulista - UNESP Araraquara, constatou-se que os óleos essenciais de *E. citriodora*, *E. maculata* e *E. tereticornis* mostraram-se capazes de impedir a reprodução da bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, causadora da tuberculose, pois devido à sua solubilidade em gordura, atravessam a membrana, fazendo com que suas substâncias bactericidas atuem diretamente dentro do bacilo.

Schnitzler et al. (2001), em avaliações dos óleos essenciais de melaleuca e eucalipto contra o Vírus da Herpes Simples (HSV), constataram o efeito anti-viral e indicaram essas espécies como promissoras nos tratamentos como agentes anti-virais em infecções recorrentes de herpes.

Nesse contexto, com o presente trabalho objetivou-se identificar os constituintes químicos do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* Denhn e avaliar o efeito desse óleo sobre o protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado foi obtido no reflorestamento da Gerdau Florestal em Bom Sucesso, Minas Gerais (20°58'S, 44°48'W e 950 m alt.). Essa região apresenta clima do tipo Cwb pela classificação climática de Köppen, caracterizado por verão chuvoso e inverno seco e precipitação média anual de 1.411 mm, sendo a temperatura média anual de 19,3 °C. Foram utilizadas folhas frescas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. colhidas em janeiro de 2005.

As plantas utilizadas eram rebrotas com três anos de idade (com 5,0 a 7,0 m de altura), de rebrotas com um corte realizado aos sete anos. As folhas colhidas situavam-se no terço inferior da plantas, de ramos com diâmetro inferior a 1,5 cm.

Foram colhidas para fins de análise, em torno de 200 g de folhas jovens por planta, totalizando quatro quilogramas das 20 plantas do talhão considerado. Em seguida, essas foram homogeneizadas e retiradas amostras de 50 gramas cada uma, constituindo uma amostra. Foram utilizadas três amostras/repetições para as extrações de óleo e avaliações de umidade das folhas frescas e de rendimento de óleo essencial. Para o ensaio biológico, as três amostras de óleo essencial, obtidas por meio da hidrodestilação, foram misturadas, de onde foi retirada uma amostra de 1 mL.

Para a determinação do teor de umidade das folhas, utilizou-se o Sistema de Dean & Stark, cujo funcionamento baseia-se no princípio da imiscibilidade de solventes; nesse caso, o ciclohexano e a água, conforme Pimentel et al. (2006).

Para a obtenção do óleo essencial das folhas frescas, utilizou-se o aparelho Clevenger modificado. As amostras (50 g) foram acondicionadas em balões, juntamente com 500 mL de água destilada. A extração foi realizada no

período de duas horas, conforme Matos (1988). Para a separação do óleo, utilizou-se o método de centrifugação do hidrolato numa centrífuga de cruzeta horizontal (raio = 5 cm) e centrifugado a 4.500 rpm (aproximados 1.130 forças g) por 60 segundos, conforme estudos preliminares (Castro et al., 2005). As extrações de cada tratamento foram realizadas em três repetições. O rendimento médio do óleo essencial obtido foi calculado com base na matéria seca ou Base Livre de Umidade, e apresentado em volume de óleo produzido por quantidade de folhas secas (%v/p BLU) (Pimentel et al., 2006).

As análises qualitativas dos óleos foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM), utilizando-se um aparelho Shimadzu CG-17A com detector seletivo de massa modelo QP 5000 sob as seguintes condições experimentais: coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada DB5 (0,25 µm de espessura de filme); temperatura do injetor de 220 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 40 °C, sendo acrescidos 3 °C a cada minuto até atingir 240 °C; gás carreador hélio (1 mL min<sup>-1</sup>); taxa de split 1:10; volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão inicial na coluna de 100,2 KPa. As condições de EM foram: energia de impacto de 70 eV; velocidade de decomposição 1.000; intervalo de decomposição de 0,50; e fragmentos de 45 Daltons a 450 Daltons decompostos. Injetou-se, nas mesmas condições das amostras, uma mistura de hidrocarbonetos (C<sub>9</sub>H<sub>20</sub>; C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>; C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>; ... C<sub>24</sub>H<sub>50</sub>; C<sub>25</sub>H<sub>52</sub> e C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>). A identificação dos constituintes foi realizada comparando-se os espectros obtidos com os do banco de dados do aparelho e pelo índice de Kovats calculado para cada constituinte, conforme Adams (1995).

A determinação dos teores dos constituintes químicos do óleo essencial foi efetuada por meio de cromatografia gasosa por ionização de chamas (FID), utilizando-se um aparelho Shimadzu GC-17A nas seguintes condições experimentais: coluna capilar DB5; temperatura do injetor de 220 °C;

temperatura de detector FID de 240 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 40 °C até 240 °C; gás carreador nitrogênio (2,2mL min<sup>-1</sup>); taxa de split 1:10; e volume injetado de 1 µL (1% de solução em diclorometano) e pressão na coluna de 115 KPa. A quantificação de cada constituinte foi realizada por meio de normalização de áreas (%).

Foram utilizadas culturas axênicas de *Herpetomonas samuelpessoai*, mantidas a 28 °C em meio Brain Heart Infusion (BHI) contendo 10% de soro fetal bovino, com passagens a cada 24 horas. Uma solução-estoque de óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* foi preparada com 2 g mL<sup>-1</sup> em dimetilsulfóxido (DMSO), seguindo-se de diluição em meio BHI a 1:100 (concentração final do óleo: 20 mg mL<sup>-1</sup>); nessas condições, a concentração final de DMSO é de 0,01% e não apresenta efeito tóxico sobre as células. Esse meio foi, então, diluído no momento de uso, de modo a se obter diferentes concentrações de trabalho do óleo essencial (10, 1 e 0,1 mg mL<sup>-1</sup>).

Os protozoários (5x10<sup>6</sup> células mL<sup>-1</sup>) foram incubados por 24 horas a 28 °C em placas de 24 poços contendo o meio BHI com as diferentes concentrações do óleo. Após o tempo de incubação, realizou-se a contagem das células em um hemacitômetro (câmara de Neubauer), em microscópio ótico com objetiva de 40 vezes. O experimento foi realizado em triplicata, sendo os resultados expressos em porcentagem de inibição de crescimento da população de protozoários em 24 horas para cada concentração utilizada. Com base nesses dados, foi calculado o valor da dose IC<sub>50</sub>, isto é, a concentração de óleo essencial que inibiu o crescimento das culturas dos parasitas em 50%.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A umidade das folhas jovens e frescas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. colhidas em janeiro e avaliadas pelo Sistema de Dean & Stark, indicou um teor médio de 57% para as três amostras. Esta consideração deve-se ao fato de que a umidade, em termos de massa absoluta de material úmido, pode conduzir a rendimentos diferentes com interpretações distintas, conforme pesquisa com óleo essencial de *E. smithii* R.T. Baker, realizada por Fabrowski (2002).

O óleo essencial, extraído dessas folhas, foi avaliado em Base Livre de Umidade, e o resultado obtido indicou um rendimento médio das três amostras de 2,80% v/pBLU.

Na identificação e quantificação dos constituintes químicos no óleo essencial, extraído de folhas frescas de *E. camaldulensis* colhidas em janeiro no município de Bom Sucesso, MG, analisados por CG-EM e CG com detector FID das amostras, os resultados indicaram a presença de nove constituintes, sendo o 1,8-cineol o mais abundante com 59,43%. Na Tabela 4.1 são apresentados esses constituintes com seus teores e respectivos índices de Kovats.

**TABELA 4.1.** Teores (%) dos constituintes identificados no óleo essencial extraído de folhas frescas de *E. camaldulensis* Dehnh. colhidas em janeiro de 2005 em Bom Sucesso, MG. UFLA, Lavras – MG, 2006.

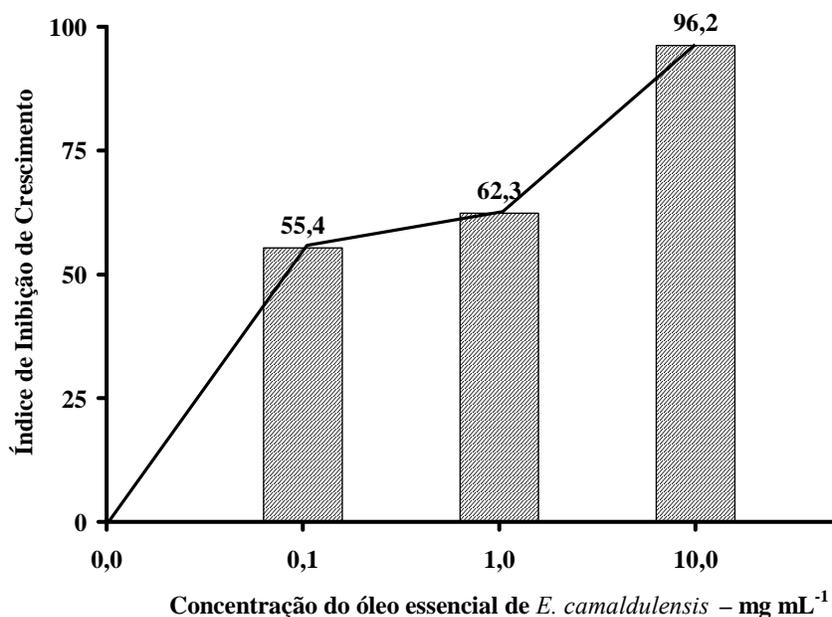
Constituintes	IK	% no óleo essencial
$\alpha$ -Pineno	939	0,75
$\beta$ -Pineno	980	0,52
1,8-Cineol	1.033	59,43
4-Terpineol	1.177	2,93
$\alpha$ -Terpineol	1.189	9,10
(E)-Farneseno	1.458	4,06
Ledol	1.565	1,86
Globulol	1.583	13,37
Viridiflorol	1.590	3,26
Outros	--	4,72
<b>Total</b>		<b>100,0</b>

Fabrowski (2002), em pesquisa de óleo essencial de *E. smithii* R.T. Baker., encontrou maiores teores de 1,8-cineol (85,16%) em folhas adultas colhidas no verão, seguindo-se da colheita realizada no outono (82,34%), primavera (80,44%) e inverno (78,25%).

Chalchat et al., (2001) encontraram teores variados de 1,8-cineol no *E. camaldulensis*, entre 69% a 75% na Tailândia, de 72% a 84% na Austrália e Marrocos, de 43% a 55% na Turquia e Burundi e de 29% no Sri Lanka e Austrália; nesse último local, os constituintes variaram também conforme a época de colheita.

No ensaio biológico, o óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. apresentou efeito inibitório sobre o crescimento celular de *Herpetomonas samuelpeossoi*, de uma maneira dose-dependente. Pelos dados obtidos e apresentados na Figura 4.1, pode-se observar que o crescimento foi inibido em 55,4%, 62,3% e 96,2% nas concentrações de 0,1, 1 e 10 mg mL<sup>-1</sup>,

respectivamente. A dose que inibiu 50% do crescimento celular ( $IC_{50}$ ) foi estimada em aproximadamente  $90,1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ .



**FIGURA 4.1.** Resultado do efeito do óleo essencial de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. sobre o crescimento do protozoário tripanosomatídeo *Herpetomonas samuelpessoai*. UFLA, Lavras – MG, 2006.

Efeito similar sobre o crescimento de culturas de *Herpetomonas samuelpessoai* foi obtido no tratamento com óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, e esse apresentou um  $IC_{50}$  que variou de  $90 \text{ mg mL}^{-1}$  a  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  (Holetz et al., 2003).

O óleo essencial de *E. camaldulensis* demonstrou atividade contra o protozoário *H. samuelpessoai*. Em outros estudos, demonstrou-se que alguns

óleos essenciais de eucaliptos apresentaram um potencial efeito microbicida. Assim, o extrato aquoso das folhas e o óleo essencial de *Eucalyptus globulus* mostraram-se ativos contra *Staphylococcus aureus* (Matos et al., 2004), ao passo que óleos essenciais de *E. citriodora*, *E. maculata* e *E. tereticornis* mostraram-se capazes de impedir a reprodução da bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (Franceschini Filho, 2004). Óleos essenciais de eucalipto também apresentaram efeitos antivirais, sendo ativos contra o Vírus da Herpes Simples (Schnitzler et al., 2001).

O óleo essencial de *E. camaldulensis* é rico em 1,8-cineol (59,43%), que possivelmente é o principal componente que atua sobre o tripanosomatídeo *H. samuelpessoai*. Sabe-se que esse óleo tem efeito como anestésico suave e anti-séptico (Matos et al., 2004). Sua característica anestésica é conseqüente de sua solubilidade em lipídeos, facilitando, assim, a sua penetração através das membranas celulares, podendo, então, atuar diretamente em alvos dentro das células. Mais estudos são necessários para se verificar que organelas ou vias metabólicas do protozoário estão sendo atingidas pelo óleo essencial de *E. camaldulensis*.

#### 4 CONCLUSÕES

O *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. cultivado na região de Bom Sucesso apresentou rendimento satisfatório de óleo essencial, com teores intermediários de 1,8-cineol, seu constituinte majoritário.

Pelos resultados do efeito inibitório do óleo essencial de *E. camaldulensis* sobre a *Herpetomonas samuelpessoai*, verificou-se que esse óleo é um potencial agente fitoterápico para o controle de protozoários tripanosomatídeos e de outros parasitos que afetam a saúde humana.

São sugeridas, mais investigações sobre esse óleo essencial, e sua atividade inibitória sobre o crescimento de protozoários.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469p.
- CARREIRA, J.C.A. **O ciclo extracelular do *Trypanosoma cruzi*: cinética de colonização nas glândulas de cheiro do gambá (*Didelphis marsupialis*), a interação entre diferentes subpopulações do parasita e o papel dos Glicoinositolfosfolípídeos (GIPLS) nesta interação "in vitro" "in vivo"**. 2001. 100p. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária)-Fundação Oswaldo Cruz-Rio de Janeiro.
- CASTRO, N.E.A.; CARDOSO, M.G.; CARVALHO, G.J. Avaliação de métodos de obtenção de óleo essencial de *Eucalyptus*. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: IAC, 2005.
- DE SOUZA, W.; MOTTA, M.C.M. Endosymbiosis in protozoa of the Trypanosomatidae family. **FEMS. Microbiol. Lett.**, v.173, p.1-8, 1999.
- DORAN, J.C. Commercial sources, uses, formation, and biology. In: BOLAND, D.J.; BROPHY, J.J.; HOUSE, A.P.N. ***Eucalyptus* leaf oils, chemistry and marketing**. Melbourne: Inkata, 1991. p.11-28.
- ESSAWI, T.; SROUR, M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal Ethnopharmacol**, v.70, p.343-349, 2000.
- FABROWSKI, F.J. **Caracterização de *Eucalyptus smithii* R.T. Baker (Myrtaceae) como espécie produtora de óleo essencial em Colombo-PR**. 2002. 225p. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.
- FRANCESCHINI FILHO, S. **Plantas terapêuticas**. São Paulo: Andrei, 2004.
- GONZALEZ, M.S. ***Trypanosoma cruzi*/*Rhodnius prolixus* como modelo de interação parasita/hospedeiro: a proliferação e diferenciação do *Trypanosoma cruzi* depende de componentes da dieta e do sistema neurendócrino do hospedeiro invertebrado**. 1997. 90p. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular)-Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

HIDALGO, A.F. **Plantas de uso popular para o tratamento da malária e males associados da área de influência do Rio Solimões e região de Manaus.** 2003. 202p. Tese (Doutorado em Agronomia. Horticultura)-Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

HOLETZ, F.B. et al. Effect of plant extracts used in folk medicine on cell growth and differentiation of *Herpetomonas samuelpessoai* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) cultivated in defined medium. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.24, n.3, p.657-662, 2002.

HOLETZ, F.B. et al. Effect of essential oil of *Ocimum gratissimum* on the Trypanosomatid *Herpetomonas samuelpessoai*. **Acta Protozoologica**, v.42, n.4, p.269-276, 2003.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza, UFC, 1988. 128p.

MATOS, F.J.A. (Org.). **Constituintes químicos ativos e propriedades biológicas de plantas medicinais brasileiras.** Fortaleza: UFC, 2004.

MELLO, G.K. **Identificação de antígenos recombinantes de *Trypanosoma cruzi* com potencial para diagnóstico da infecção chagásica humana e sua caracterização na resposta humoral e celular.** 1997. 131p. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia)–Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MIKUS, J. et al. In vitro effect of essential oils and isolated mono and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*. **Planta Med.**, v.66, n.4, p.366-368, May 2000.

NOLASCO, F. **Deficiências nutricionais em manjeriço (*Ocimum spp.*) sob hidroponia.** 1996. 19p. Monografia (Pós-graduação Fitotecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

PIMENTEL, F.A. et al. A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.2,1, 2006. Disponível em: <<http://www.quimicanova.sbq.org.br/Prelo>>. Acesso em: 08 fev. 2006.

SARQUIS, O.M.F. **Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas na zona rural de Jaguaruana, Ceará, Brasil.** 2003. 112p. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária)-Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

SCHNITZLER, P.; SCHON, K.; REICHLING, J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. **Pharmazie**, v.56, n.4, p.343-347, Apr. 2001.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/ UFSC, 2004.

SOUZA, M.C. et al. Mechanism of acquired immunity induced by “*Leptomonas pessoai*” against *Trypanosoma cruzi* in mice. **Journal Protozool.**, v.21, p.579-584, 1974.

TAGBOTO, S.; TOWNSON, S. Antiparasitic properties of medicinal plants and other naturally occurring products. **Adv. Parasitol.**, v.50, p.199-295, 2001.

VITTI, A.M.S.; BRITO, J.O. **Óleo essencial de eucalipto**. Piracicaba, SP: ESALQ, 2003. (Documentos Florestais, 17).

## ANEXO

**TABELA 1A.** Resultados das análises de solo realizadas nas três áreas utilizadas para colheita de folhas jovens e frescas de *Eucalyptus* em municípios de Minas Gerais. UFLA, Lavras – MG, 2006.

<b>Atributos</b>	<b>Bom Sucesso</b>	<b>São Bento Abade</b>	<b>São João del Rei</b>
pH em água	4,8	4,9	5,4
P (mg/dm <sup>3</sup> )	0,9	2,4	0,9
K (mg/dm <sup>3</sup> )	30,0	46,0	20,0
Ca (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,4	0,5	0,4
Mg (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,2	0,5	0,4
Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,6	1,0	0,5
H + Al (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	5,2	5,8	3,4
S (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	0,7	1,1	0,9
T (cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> )	5,9	6,9	4,3
V (% dag/kg)	11,9	15,9	20,9
MO (% dag/kg)	2,5	3,0	1,9
B (mg/dm <sup>3</sup> )	0,2	0,3	0,3
Zn (mg/dm <sup>3</sup> )	0,6	1,4	0,8
Cu (mg/dm <sup>3</sup> )	2,9	1,4	1,9
Fe (mg/dm <sup>3</sup> )	47,6	54,5	40,7
Mn (mg/dm <sup>3</sup> )	10,1	30,4	4,4
S-SO <sub>4</sub> (mg/dm <sup>3</sup> )	2,7	12,6	2,7
P-rem (mg/L)	14,4	17,2	15,2