

## Comparação dos voláteis das folhas de *Ocimum micranthum* Willd. obtidos por hidrodestilação e destilação-extração simultânea

Rosas, J.F.; Silva, A.C.M. da; Zoghbi, M.G.B.; Andrade, E.H.A.

Departamento de Botânica, Museu Paraense Emílio Goeldi, CP 399, 66040-170 Belém, PA, Brasil

**RESUMO:** Os componentes voláteis das folhas de *Ocimum micranthum* foram obtidos através de hidrodestilação (HD) e destilação-extração simultânea (DES) utilizando-se pentano como solvente, e analisados através de CG e CG/EM. A eficácia da técnica destilação-extração simultânea para os principais componentes do óleo essencial de *O. micranthum*, (E)-cinamato de metila, carvona, limoneno, (Z)-cinamato de metila e linalol, foi determinada variando-se a quantidade de amostra submetida à extração. Os melhores resultados foram obtidos. A reprodutibilidade da composição química para os principais componentes foi avaliada utilizando-se até 0,00250mg de amostra.

**Palavras-Chave:** *Ocimum micranthum*, Lamiaceae, óleos essenciais, linalol, plantas medicinais.

**ABSTRACT:** The comparison of the volatiles of the *Ocimum micranthum* Willd. leaves obtained by hydrodistillation and simultaneous distillation and extraction. The leaf volatile components of the *Ocimum micranthum* were obtained by hydrodistillation (HD) and simultaneous distillation-extraction (SDE) using pentane as solvent, and analyzed by GC and GC/MS. The effectiveness of the simultaneous distillation-extraction technique for the major components of the essential oil of *O. micranthum*, (E)-methyl cinnamate, carvone, limonene, (Z)-methyl cinnamate and linalool, were determined by varying the amount of the samples extracted. The best results were obtained using until 0.0250mg of the sample.

**Key words:** *Ocimum micranthum*, Lamiaceae, linalool, essential oil, medicinal plants.

### INTRODUÇÃO

O gênero *Ocimum* (Lamiaceae) compreende em torno de 200 gêneros com aproximadamente 3200 espécies (Joly, 1966), distribuídas principalmente na África, na América do Sul e na Ásia (Sobti *et al.*, 1976). A espécie *O. micranthum* Willd. (sin: *O. campechianum* Mill.) é uma herbácea fortemente aromática, conhecida na cidade de Belém (PA), pela denominação de estoraque. É cultivada em hortas, e vendida diariamente no complexo do Ver-o-Peso, para uso em rituais tradicionais da região. Há relatos na literatura de uso na culinária, e na farmacopéia amazônica como estimulante, carminativa, antiespasmódica, diurética, no tratamento de resfriados, gripes, febres, tosses, bronquites, nas infecções intestinais e estomacais e nas otites (Berg, 1993; Grenand *et al.*, 1987; Estrella, 1995). Os óleos essenciais das partes aéreas de algumas espécimens de *O. micranthum* coletado no norte e no nordeste do Brasil, e da Índia, foram previamente anteriormente estudados (Charles *et al.*, 1990; Silva *et al.*, 1998; Vieira & Simon, 2000; Maia *et al.*, 1988), e apresentaram diferentes composições químicas. A análise prévia do óleo essencial obtido das partes aéreas de *O. micranthum* cultivado no estado do Pará

revelou a presença de (E)-cinamato de metila como componente principal, despertando o interesse por estudos de propagação, e a necessidade de utilização de uma semi-micro técnica de extração dos seus componentes voláteis para monitoramento químico de genótipos da espécie em experimentos de propagação. A eficácia da extração de voláteis utilizando destilação-extração simultânea tem fornecido excelentes resultados quando comparada aos obtidos por hidrodestilação (Dardioli *et al.*, 1997; Bartley & Schwede, 1987). O objetivo deste trabalho foi o de comparar os teores dos voláteis de *O. micranthum* obtidos por hidrodestilação e destilação-extração simultânea, e determinar a quantidade mínima de amostra para extração.

### MATERIAL E MÉTODO

As folhas de *O. micranthum* foram obtidas no complexo do Ver-o-Peso na cidade de Belém (PA), Brasil, e uma exsiccata (#165833) foi depositada no herbário "João Murça Pires" do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). A planta foi obtida em pleno florescimento, em fevereiro de 2003/outubro de 2002. A amostra foi seca sobre telas de plástico em sala com ar condicionado e desumidificador, por um período de 7 dias, trituradas manualmente, e acondicionadas em sacos plásticos vedados e mantidos sob refrigeração (-18°C). Uma amostra de 5g de folhas foi

Recebido para publicação em 28/05/2004

Aceito para publicação em 14/06/2004

submetida a extração por hidrodestilação (HD), em sistema tipo Clevenger durante 3h. O óleo essencial foi secodesidratado com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, centrifugado, e imediatamente analisado através de cromatografia de gás (CG) e de cromatografia de gás-espectrometria de massas (CG/EM). O rendimento foi expresso em mL/g de amostra seca; o teor de umidade foi determinado através de destilação azeotrópica com o uso de tolueno, durante 3h, utilizando sistema Dean & Stark (WHO, 1998) e o rendimento na amostra livre de umidade foi calculado. A densidade relativa do óleo foi obtida utilizando-se picnômetro de 1 ml, e o índice de refração em refratômetro Abbe (Pregnotato & Pregnotato, 1985), ambos à temperatura ambiente (25°C). A extração por destilação-extração simultânea (DES) foi feita com amostras de 10001, 0,500, 0,100, 0,070, 0,050, 0,025 e 0,010 mg em sistema

Chrompack, utilizando-se pentano (3mL) como solvente. Todas as extrações foram todas feitas em duplicata.

#### ANÁLISE DOS COMPONENTES VOLÁTEIS POR CG

Os componentes foram identificados através de CG/EM, em sistema Finnigan Mat INCOS XL, equipado com coluna capilar de sílica DB-5MS (30m x 0,25mm; 0,25mm de espessura de filme) nas seguintes condições operacionais: gás de arraste: hélio, em velocidade linear de 32 cm/s (medida a 100°C); "split flow": numa razão de 20:1; "septum sweep": 10ml/min; tipo de injeção: "splitless", (2ml de óleo em 1ml uma solução 2:1000 de hexano); temperatura do injetor e do detetor: 250°C; programa de temperatura: 60°C-240°C (3°C/min); EM: impacto

**TABELA 1** - Composição química dos Voláteis (%) das amostras de folhas de do óleo essencial e do extrato pentânico de *Ocimum micranthum* obtidos por HD e DES.

Componentes	IR*	HD				DES			
		5g	1g	0,5g	0,1g	0,07g	0,05g	0,025g	
(Z)-Hexen-3-ol	856	0,3	0,3	0,2	0,2	0,4	0,3		
a-Tujeno	930	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3			
a-Pineno	938	0,5	0,3	0,3	0,3	0,5			
Mirceno	990	0,1	tr	tr					
Limoneno	1030	8,3	5,6	5,4	4,1	7,3	6,0	4,0	
Fenchona	1090	1,3	1,0	1,1	0,6	1,3	1,0	0,6	
Linalol	1099	5,4	4,0	4,7	4,2	5,1	5,1	3,8	
exo-Fenchol	1118	0,1	tr	tr					
cis-Óxido de limoneno	1135	tr	tr	tr					
Cânfora	1144	0,1	0,1	0,1					
Terpinen-4-ol	1178	0,1	0,1	0,1	0,1				
a-Terpineol	1192	0,1	0,1	0,1	0,1				
trans-Piperitol	1208	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5		
Acetato de endo-fenchila	1221	0,4	0,5	0,6	0,6	0,5	0,4	0,6	
Carvona	1240	12,4	11,5	12,7	12,3	12,8	11,8	11,2	
(Z)-Cinamato de metila	1304	5,7	6,0	6,2	6,3	7,4	9,0	8,6	
trans-Acetato de carvila	1335	0,1	0,2	0,2	0,3				
(E)-Cinamato de metila	1382	50,8	55,6	55,6	58,7	54,9	56,9	59,4	
(Z)-b-Farneseno	1445	5,5	5,4	4,8	4,6	4,1	4,5	5,6	
(E)-b-Farneseno	1458	1,3	1,2	1,0	0,9	0,9	0,9	1,1	
b-Selineno	1484	2,1	1,9	1,6	1,5	1,2	1,4	2,0	
a-Selineno	1495	1,8	1,8	1,5	1,4	1,3	1,3	1,8	
b-Bisaboleno	1508	1,3	1,3	1,0	1,0	0,9	0,9	1,3	
d-Cadineno	1526	0,4	0,4	0,3	0,3	0,3			
b-Sesquifelandreno	1528	0,1	0,1	0,1	0,1				
(E)-Nerolidol	1564	0,1	0,1	0,1	0,1				
Germacreno D-4-ol	1575	0,1	0,2	0,1	0,2				
Óxido de cariofileno	1580	0,1	0,3	0,2	0,2				
b-Eudesmol	1651	0,2	0,3	0,2	0,3				
14-Hidroxi-9-epi-b-cariofileno	1665	0,3	0,4	0,3	0,4				
epi-a-Bisabolol	1686	0,2	0,4	0,3	0,3				
Benzoato de benzila	1764	0,1	0,1	0,1	0,1				

IR – índice de retenção, HD – hidrodestilação, DES – destilação-extração simultânea, \*Índices de retenção em DB-5MS, tr = traços

eletrônico, 70 eV; temperatura da fonte de íons e partes de conexão: 180°C. Os componentes foram identificados através da comparação dos seus espectros de massas e índices de retenção (IR) com os de substâncias padrão existentes nas bibliotecas do sistema e, com dados da literatura (Adams, 1995). Os IR foram obtidos utilizando a série homóloga dos *n*-alcanos. A quantificação dos componentes foi obtida através de CG, HP5890-II, equipado com detector de ionização de chama (FIDIC), e acoplado a um integrador HP 3396-II, nas mesmas condições operacionais, exceto o gás de arraste que foi o hidrogênio. A porcentagem da composição foi obtida através das áreas dos picos sem uso de fator de resposta. A composição química dos voláteis das folhas de *O. micranthum* obtidos por HD e DES encontram-se relacionados na Tabela 1.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A composição química dos voláteis das folhas de *O. micranthum* obtidos por HD e DES encontram-se relacionados na Tabela 1. O rendimento em óleo essencial obtido das folhas de *O. micranthum* contendo 18% de umidade foi de 4,5% (amostra sem umidade: 5,5%); forneceu rendimento de 5,5% a partir de uma amostra com umidade residual de 18,0% densidade 0,9918, e índice de refração 1,531. Foram identificados 32 componentes, dos quais o principal foi o (E)-cinamato de metila (50,8%), seguido de teores significativos de carvona (12,4%), limoneno (8,3%), (Z)-cinamato de metila (5,7%), (Z)-b-farneseno (5,5%) e linalol (5,4%). (E)-Cinamato de metila também é o principal componente de outras espécies do gênero *Ocimum*, tais como, *O. basilicum* e *O. americanum* var. *americanum* (Vieira & Simon, 2000), *O. basilicum* var. *thyrsiflorum*, *O. basilicum* var. *purpurascence*, e *O. forskolei* (Demissew, 1993; Gupta, 1996). A eficácia das duas técnicas utilizadas, em termos de componentes extraídos, foi avaliada por comparação da porcentagem dos componentes do óleo essencial e da amostra de 1g extraída por DES, através de um fator de diferenciação  $D = (a-b)/(a+b)$ , onde "a" significa a porcentagem de um dado componente usando HD e "b" a porcentagem do mesmo componente usando DES (Dardioti *et al.*, 1997). Os dados obtidos indicaram a eficácia da extração utilizando DES para *O. micranthum*, onde 56,3% dos componentes apresentaram  $D \leq 0,1$ , incluindo os componentes principais, com exceção do limoneno. Valores negativos foram obtidos para 31,3% indicando melhor extração por DES, onde se incluem alguns dos principais componentes: o (E)-cinamato de metila e o (Z)-cinamato de metila. A menor quantidade de amostra utilizada no experimento foi de 0,0250mg, que ainda permitiu monitorar os componentes principais. A redução do volume do solvente utilizado em DES tem sido relatado para

detecção de alguns componentes em teores traços (Núñez & Bemelmans, 1984).

O resultado obtido indicou que a técnica DES é uma forte ferramenta para estudos da composição química do óleo essencial de *O. micranthum* em experimentos onde a quantidade de amostra é reduzida.

## AGRADECIMENTO

Os autores são gratos ao CNPq/PIBIC pelo apoio financeiro, e ao Dr. Sérgio de Mello Alves, Chefe Adjunto da Embrapa Amazônia Oriental, pela determinação do índice de refração.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / Quadrupole mass spectroscopy**. Carol Stream, IL: Allured Publ Corp., 1995 456p.
- BARTLEY, J.P., SCHWEDE, A. Volatile flavor components in the headspace of the Australia "Bowen" Mango. **Journal of Food Science**, v.52, p.353-5, 1987.
- BERG, M.E.V.D. **Plantas Medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático**. 2. ed. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 1993. 207p.
- CHARLES, D.J., SIMON, J.E., WOOD, K.V. Essential oil constituents of *Ocimum micranthum* Willd. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.38, p.120-2, 1990.
- DARDIOTI, A., COOK, C.M., KOKKINI, S., LANARAS, T. Composition of *Satureja horvatii* subsp. *macrophylla* Oil isolated by hHydrodistillation and mMicro-simultaneous dDistillation/extraction. **Journal Essential Oil Research**, v.9, p.663-6, 1997.
- DEMISSEW, S. A. Description of some essential oil bearing plants in Ethiopia and their indigenous uses. **Journal Essential Oil Research**, v.5, p.465-79, 1993
- ESTRELLA, E. **Plantas Medicinales Amazonicas: realidad y perspectivas**. Lima: GEF/PNUD, 1995. 302p.
- GRENAND, P., MORETTI, C., JACQUEMIN, H. **Pharmacopées traditionnelles en guyane: Créoles, Palikur, Wayãpi**, Paris: ORSTOM, 1987. 569p. Collection Mémoires n°108
- GUPTA, S.C. Variation in herbage yield, oil yield and major component of various ocimum species/ varieties (Chemotypes) harvested at different stages of maturity. **Journal Essential Oil Research**, v.8, p.275-9, 1996.
- JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1966, p.473.

- MAIA, J.G.S., RAMOS, L.S., LUZ, A.I.R. *et al.*, Uncommon Brazilian essential oils of the Labiatae and Compositae. In: Lawrence, B. M.; Mookherjee, B.D., Willis, B.J. (Eds.). **Flavors and fragrances: a world perspective**. Amsterdam: Elsevier, 1988 p.177-88 (Science Publication, B.5)
- NÚÑEZ, A.J., BEMELMANS, Jo M.H. Recoveries from an Aqueous Model System Using a Semi-micro Steam Distillation-solvent Extraction Procedure. **Journal of Chromatography**, v.294, p.361-5, 1984.
- PREGNOLATO, W., PREGNOLATO, N. P. (Coords.) **Normas Analíticas do Instituto Adolpho Lutz**. 3ed. São Paulo: Instituto Adolpho Lutz, 1985, v.1, p.18-9.
- SILVA, M.G.V., CRAVEIRO, A.A., MACHADO, M.I.L., Essential oils from leaves and inflorescences of *Ocimum micranthum* Willd from Northeastern Brazil. **Journal Essential Oil Research**, v.10, p.77-8, 1998.
- SOBTI, S.N., PUSHANGADAN, P., ATAL, C.K. Genus *Ocimum* - a potential source of new essential oils. **Indian Perfumery**, v.20, p.59-68, 1976.
- VIEIRA, R.F., SIMON, J.E. Chemical characterization of Basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic Botany**, v.54, p.207-16, 2000.
- WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: World Health Organization, 1998, p.30-4.