



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PARNAÍBA
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA

DANILO DA COSTA FRANCO

**ESTUDO CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DA ESPÉCIE *Eugenia punicifolia*
(Kunth) DC. DO MUNICÍPIO DE ILHA GRANDE DO PIAUÍ**

PARNAÍBA-PI
2018

DANILO DA COSTA FRANCO

ESTUDO CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DA ESPÉCIE *Eugenia punicifolia*
(Kunth) DC. DO MUNICÍPIO DE ILHA GRANDE DO PIAUÍ

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial de obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.
Campus Parnaíba.

Orientador: Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho

PARNAÍBA-PI
2018

FICHA CATALOGRÁFICA

Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente com dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F825e Franco, Danilo da Costa
Estudo circadiano do óleo essencial da espécie *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. do município de Ilha Grande do Piauí / Danilo da Costa Franco - 2018.
55 p. : il. color.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Parnaíba, Licenciatura em Química, 2018.

Orientador : Prof Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho.

1. Estudo circadiano. 2. Cariófileno. 3. Óleo essencial. I.Título.

CDD 540

DANILO DA COSTA FRANCO

ESTUDO CIRCADIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DA ESPÉCIE *Eugenia punicifolia*
(Kunth) DC. DO MUNICÍPIO DE ILHA GRANDE DO PIAUÍ

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial de obtenção do
diploma do Curso de Licenciatura em Química do Instituto
Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.
Campus Parnaíba.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho (Orientador)
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof^a. Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Prof. Dr. Haroldo Luís Sousa Neres
Instituto Federal do Piauí (IFPI)

Dedico este trabalho a Deus, por ter sempre me dado forças e vitórias em meu trajeto. Aos meus pais Luiz Antônio de Souza Franco e Luzia Sá da Silva, ao meu irmão Daniel da costa Franco e todos meus familiares que me apoiaram. A Flávia Alice Pimenta e ao Rodrigo Rodrigues dos Santos pelo apoio e ajuda, a minha namorada Maria Helena Alves Feitosa pelo carinho e paciência. Aos meus amigos e professores, e ao meu professor orientador Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela proteção e força durante essa trajetória, muito obrigado pela coragem e fé que me proporcionou, pois sem ti jamais teria chegado até aqui.

Aos Meus pais Luiz Antônio de Souza Franco e Luzia Sá da Silva por ter sido guerreiros em minha criação, por sempre me apoiarem e confiarem em mim. Ao meu irmão Daniel da Costa Franco, por ser um bom irmão e um grande amigo. A minha prima, madrinha e anjo Flávia Alice Pimenta que Deus mandou para cuidar de mim e me ajudar em qualquer hora, ao Rodrigo Rodrigues dos Santos por ser um grande amigo e por me ajudar. A minha namorada Maria Helena Alves Feitosa pela motivação, amor, carinho, paciência, inspiração e por sempre está ao meu lado. Ao meu orientador, Prof. Dr. Bartolomeu Araújo Barros Filho, pela orientação, paciência, inspiração, amizade, ensinamentos e a oportunidade de trabalhar com aquilo que gosto, obrigado por ter sido presente e sempre com um bom humor, pois isso fez com que se tornasse possível a realização deste trabalho.

Ao IFPI e a UFC, pela colaboração na obtenção e análises dos resultados deste trabalho. Aos meus professores e professoras do IFPI – *Campus* Parnaíba, pela motivação e ensinamentos. Em especial às Professoras, Esp. Gilvana Ferreira Parente, Me. Vilma Dias de Araújo Veloso, Me. Evânia Carvalho dos Santos, Dr^a. Ana Maria Athayde Uchôa Thomaz, Dr^a. Márcia Valéria Silva Lima, Dr^a. Janiciara Botelho Silva, Esp. Iriane do Nascimento Rosa, Esp. Janete César Ribeiro, Dr^a Simone Gallani Rodrigues e aos professores, Dr. Haroldo Luís Sousa Neres, Me. Diego Prudêncio Soares, Me. Jeová Calisto dos Santos.

Aos meus amigos do curso e a todos que me ajudaram nesta minha jornada. Em especial Luciano Barros, Willian José, Tony Markus, Samuel Vasconcelos, Eduardo Neto, Marcelo Costa, Iago Medeiros, Hiago Campos, Joelson Freitas, Luciane Nascimento, Betânia Pereira, Camila Souza, Simone Santos, Rilgard Gomes, Kalbérís de Arimatéia, Gustavo Henrique, Francisco Felipe, Everan Martins, Edson Aires, Rhuan Lucas, Tomaz Xavier, Jarline Marques, Ana Claudia, Romário França, Júnior Cardozo, José de Arimatéia, Ermecy Augusto e Sebastião Régis.

A todos os servidores do IFPI que colaboraram com minha formação. Em especial as tias do refeitório, ao Horácio (Bibliotecário), ao Bruno (Assistente de alunos), a Isabel (Técnica em Laboratório) e aos motoristas, Seu Vagner e Seu Alberto.

“Ninguém pode voltar atrás e fazer um
novo começo, mas é possível começar de
novo e fazer um novo fim.”
(Chico Xavier)

RESUMO

A espécie *Eugenia punicifolia* (Kunth) é um arbusto aromático da família Myrtaceae, conhecida popularmente como murta e cereja do campo, utilizada popularmente como planta medicinal. Com o objetivo de extrair e identificar os constituintes voláteis desta espécie foi realizado um estudo circadiano do óleo essencial das folhas de *Eugenia punicifolia* (Kunth) do município de Ilha Grande do Piauí. Os óleos essenciais, foram extraídos de um mesmo exemplar, em três horários diferentes (08:00, 12:00 e 16:00 horas), utilizando a técnica de hidrodestilação em aparelho doseador tipo Clevenger modificado por O. R. Gottlieb, e analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. O rendimento dos óleos obtidos teve uma considerável variação, sendo o melhor rendimento obtido na coleta de 16:00h (0,087%). Os óleos extraídos apresentaram variações em seus constituintes químicos voláteis, sendo identificados 59 compostos diferentes no estudo circadiano. Dentre eles, onze compostos apresentaram teores majoritários, ou seja, igual ou acima de 3% (α -Pineno, (1S)-6,6-dimetil-2-metilenobiciclo[3.1.1]heptano, (Z)-3,7-dimetil-1,3,6-trieno, 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)ciclohexano, cariofileno, [3aS-(3a. α .,3b. β .,4. β .,7. α .,7aS*)octahidro-7-metil-3-metilen-4-(1-metiletil)-1H-ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno, [1S-(1. α .,2. β .,4. β .)]-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-ciclohexano, óxido de cariofileno, 1-metil-2-(1-metiletil)-benzeno e (E)-3,7-dimetil-1,3,6-trieno), destacando o cariofileno com maior percentual nos três horários de coleta. Este estudo é importante pois servirá como base para futuros pesquisadores que pretendam estudar atividades farmacológicas/biológicas como antifúngica, anti-inflamatória e a toxicidade da espécie.

Palavras-chave: Estudo circadiano. Cariofileno. Óleo essencial.

ABSTRACT

The species *Eugenia punicifolia* (Kunth) is an aromatic shrub of the family Myrtaceae, popularly known as murta and field cherry, popularly used as a medicinal plant. With the objective of extract and identify the volatile constituents of this species, a circadian study of the essential oil of the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) of the municipality of Large Island from Piauí was carried out. The essential oils were extracted from the same exemplary at three different times (08:00, 12:00 and 16:00 hours), using the Hydrodistillation technique in a Clevenger dosing device modified by OR Gottlieb, and analyzed by Coupled Gas Chromatography Mass Spectrometry. The yield obtained of the oils had a considerable variation, being the best yield obtained in the collection of 16:00h (0,087%). The extracted oils presented variations in their volatile chemical constituents, being identified 59 different compounds in the circadian study. Among them, eleven compounds presented major contents, that is, equal to or above 3% (α -pinene, (1S)-6,6-dimethyl-2-methylenebicyclo[3.1.1]heptane, (Z)-3,1-methylethyl-2-(1-methylethenyl)-4-cyclohexanecarboxylate, 1-ethenyl-1-methyl-7-dimethyl-1,3,6-triene, 3,7,7-trimethylbicyclo [4.1.0]hept-2-ene, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene) cyclohexane, caryophyllene, [3aS-(3a.alpha.,3.beta.,4.beta.,7.alpha.,7.alpha.-octahydro-7-methyl-3-methylethyl)-1H-cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)-1-ethenyl-2,4-bis(1-methylethyl)cyclohexane, caryophyllene oxide, 1-methyl-2-(1-methylethyl)benzene and (E)-3,7-dimethyloct-1,3,6-triene), highlighting the caryophyllene with the highest percentage in the three collection times. The study is important because it will serve as the basis for future researchers who want to study pharmacological/biological activities as antifungal, anti-inflammatory and toxicity of the species.

Key words: Circadian study. Caryophyllene. Essential oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Representação esquemática das vias de síntese de metabólitos secundários em plantas.	18
Figura 02 - Exemplos de compostos monoterpênicos de ocorrência em óleos voláteis	21
Figura 03 - Principais fatores que influenciam na composição e no teor de metabólitos secundários dos óleos voláteis	22
Figura 04 - Aparelhagem utilizada no método de hidrodestilação	24
Figura 05 - Aparelhagem utilizada no método de destilação por arraste a vapor	25
Figura 06 - Estados brasileiros onde a família Myrtaceae têm ocorrências confirmadas.....	27
Figura 07 - Partes da espécie <i>Eugenia punicifolia</i>	28
Figura 08 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>E. punicifolia</i> na coleta de 8h	40
Figura 09 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>E. punicifolia</i> na coleta de 12h	41
Figura 10 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de <i>E. punicifolia</i> na coleta de 16h	42
Figura 11 - Espectro de massas do α -pineno.....	43
Figura 12 - Espectro de massas do (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano	43
Figura 13 - Espectro de massas do (Z)- 3,7-dimetil-1,3,6-trieno.....	43
Figura 14 - Espectro de massas do 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno.....	43
Figura 15 - Espectro de massas do 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-ciclohexano	44
Figura 16 - Espectro de massas do cariofileno.....	44
Figura 17 - Espectro de massas do [3aS-(3a. α .,3b. β .,4. β .,7. α .,7aS*)octahidro-7-metil-3-metileno-4-(1-metiletil)-1H-ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno.....	44
Figura 18 - Espectro de massas do [1S-(1. α .,2. β .,4. β .)]-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-ciclohexano	45
Figura 19 - Espectro de massas do óxido de cariofileno	45
Figura 20 - Espectro de massas do 1-metil-2-(1-metiletil)-benzeno	45
Figura 21 - Espectro de massas do (E)-3,7-dimetil-1,3,6-trieno	46

Fluxograma 01 - Fluxograma de obtenção e identificação do óleo essencial	33
Quadro 01 - Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides..	20
Gráfico 01 - Variação dos metabólitos voláteis majoritários identificados nos três horários de coleta.....	48
Gráfico 02 - Variação dos metabólitos voláteis majoritários identificados nos três horários de coleta (continuação).	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 01- Classificação científica do arbusto <i>E. punicifolia</i>	27
Tabela 02 - Espécies medicinais do gênero <i>Eugenia</i> no Brasil e suas utilidades.....	29
Tabela 03 - Rendimento do óleo essencial da espécie <i>E. punicifolia</i>	35
Tabela 04 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de <i>E. punicifolia</i>	36
Tabela 05 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de <i>E. punicifolia</i> (continuação).....	37
Tabela 06 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de <i>E. punicifolia</i> (continuação).....	38
Tabela 07 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de <i>E. punicifolia</i> (continuação e conclusão)	39
Tabela 08 - Metabólitos voláteis identificados em único horário de coleta	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG – Cromatografia gasosa

CG-MS – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DQOI-UFC – Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará

UFC – Universidade Federal do Ceará

IFPI – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí

SPE – Solid-phase extraction

SPME – Solid-phase microextraction

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	EMBASAMENTO TEÓRICO.....	16
2.1	PRODUTOS NATURAIS NO BRASIL.....	16
2.2	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	17
2.3	ÓLEOS ESSENCIAIS	19
2.3.1	Fatores que afetam na composição dos óleos essenciais.....	21
2.3.2	Métodos gerais de extração e análise de óleos essenciais	23
2.4	CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA ESPÉCIE <i>E. punicifolia</i>	26
2.4.1	Família Myrtaceae	26
2.4.2	Espécie <i>E. punicifolia</i>	27
2.4.2.1	Atividades biológicas de <i>Eugenia punicifolia</i>	28
2.4.2.2	Metabólitos secundários da espécie <i>Eugenia punicifolia</i>	30
3	OBJETIVOS	31
3.1	OBJETIVO GERAL	31
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
4	METODOLOGIA	32
4.1	TIPO DE PESQUISA.....	32
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.2.1	Coleta da amostra	32
4.2.2	Procedimento	32
4.2.2.1	Obtenção e identificação dos óleos essenciais	32
4.2.2.2	Técnica e instrumentos para as análises.....	33
4.3	INTERPRETAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	35
5.2	IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS	35
5.2.1	Componentes do óleo essencial extraído 8 horas	39
5.2.2	Componentes do óleo essencial extraído 12 horas	40
5.2.3	Componentes do óleo essencial extraído 16 horas	41
5.2.4	Compostos voláteis majoritários extraídos nos horários de 8h, 12h e 16h.....	42

5.2.5	Comparação dos óleos essenciais e seus constituintes obtidos a partir das folhas da espécie <i>E. punicifolia</i>	46
5.2.6	Comparação dos compostos identificados nos óleos essenciais obtidos das folhas da espécie <i>E. punicifolia</i> com a literatura.....	48
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERÊNCIAS.....	51

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, existe uma pequena porcentagem (2%) de espécies catalogadas, que seu uso na medicina é comprovado cientificamente. Com base nisto, devem ser priorizados os estudos com as plantas nativas, pois o Brasil possui a maior diversidade de espécies vegetais do mundo (MARTINS, 2012). A utilização de plantas medicinais é uma prática bastante aperfeiçoada a ação humana, uma vez que seus estudos tem um marco histórico para a prevenção e até mesmo cura de doenças. Vale ressaltar a capacidade que as plantas têm em produzir uma grande variedade de metabólitos secundários.

Tradicionalmente, as plantas têm sido empregadas no controle de várias doenças e pragas por populações de todos os continentes (LUPE, 2007). Assim, estudos sobre produtos naturais têm aumentado no decorrer dos anos, possibilitando o isolamento de novos compostos com potencial farmacológico/biológico, assim como taninos, terpenóides, alcalóides, fenóis, flavonóides, dentre outras classes (GURIB-FAKIM, 2006).

Diversas espécies são capazes de produzir metabólitos secundários voláteis, estas, são também conhecidas como plantas aromáticas. Esses vegetais constituem um grupo importante das plantas medicinais, principalmente por apresentarem óleos essenciais em suas folhas, flores, cascas de frutas e outras partes, tendo muitos destes óleos alguma atividade biológica (NUNES et al., 2006). Os compostos voláteis extraídos podem ser utilizados nas mais diversas áreas tais como, indústrias químicas de perfumes, farmacologia, inseticidas, alimentos, bebidas, fumos, estimulantes e antissépticos (MENDES, 2016).

A espécie *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. é um arbusto aromático da família Myrtaceae, conhecida popularmente como murta, pedra-ume-caá e cereja do campo, utilizada no tratamento de diabetes na medicina popular amazônica, com ocorrência em alguns países da América do Sul, como Brasil, Venezuela e Paraguai (SOBRAL, 1987; COSTA et al., 2011, RIBEIRO, 2016).

No Brasil esta espécie pode ser encontrada na maioria dos estados brasileiros, apresentando uma maior distribuição na região amazônica (COSTA et al., 2011), com abundância em áreas de campinaranas, capoeiras e capoeirões (ARRUDA e DA COSTA, 1978). De acordo com Souza e Lorenzi (2005), o período

de floração dessa espécie é de Junho a Março e a época de frutificação pode ocorrer por todo o ano.

Com base nos autores supracitados anteriormente, a extração e a análise de óleos essenciais dessa espécie podem gerar benefícios à humanidade, pois seus constituintes químicos podem ser benéficos, tanto para o tratamento de doenças, quanto na utilização como cosméticos. Para que isso ocorra são necessários inúmeros estudos e análises, para identificar quais utilidades serão mais apropriadas para os óleos essenciais extraídos de *E. puniceifolia* e quais as atividades maléficas que esta espécie pode apresentar.

Dado isso, a presente pesquisa tem a finalidade de fazer o estudo circadiano do óleo essencial, dando ênfase na análise, obtenção, identificação e variação da composição volátil das folhas da espécie *E. puniceifolia* coletadas no Município de Ilha Grande do Piauí.

Os resultados obtidos serão utilizados na comparação com os estudos da literatura e pode proporcionar o desenvolvimento de novos produtos com uma importante atividade econômica, sendo o óleo essencial utilizado como fragrância em cosméticos, aromatizantes de alimentos, bebidas e produtos de utilidade doméstica. Desta forma, a produção e extrativismo desta espécie pode ser uma alternativa ao pequeno produtor, que pode comercializar este produto *in natura* ou desidratado, ou beneficiá-lo para a produção de óleo essencial, gerando produtos com maior valor agregado.

2 EMBASAMENTO TEÓRICO

2.1 PRODUTOS NATURAIS NO BRASIL

A colonização portuguesa, bem como as disputas por posses de terras no Brasil é marcada na história pela comercialização de produtos naturais, ou seja, as especiarias. Isso possibilitou a busca do conhecimento sobre a natureza através dos povos primitivos e indígenas. Pois o conhecimento adquirido por esses povos é considerado um ponto de partida essencial para as descobertas de substâncias tóxicas e também medicinais ao longo do tempo, uma vez que o aprendizado adquirido na convivência com os diferentes grupos étnicos teve sua contribuição significativa para o desenvolvimento de pesquisas na área de produtos naturais (VEIGA-JÚNIOR et al., 2005).

De acordo com Pinto et al., (2002):

A vinda da Corte Real para o Brasil, em 1808, e o decreto de D. João VI que abriu os portos brasileiros às nações amigas pode ser considerado como um dos primeiros marcos históricos oficiais na ciência brasileira, porque foi a partir deste decreto que começaram a chegar ao País as primeiras expedições científicas, cujo principal objetivo era dar conhecimento aos europeus da exuberância de nossa fauna e de nossa flora (PINTO et al., 2002).

Nessas expedições de carácter científico vieram, o médico e botânico Carl Friederich Von Martius e o Zoólogo Johann Baptist Spix, dois dos responsáveis pelo nascimento do estudo sistemático da flora e fauna brasileira (PINTO et al., 2002).

Segundo Pinto et al. (2002):

Martius teve implicação direta com o início da fitoquímica brasileira. Esta afirmação é feita porque foi por sugestão de von Martius que o jovem farmacêutico alemão, Theodoro Peckolt, em 1847, veio para o Brasil para estudar a flora. Este farmacêutico pode ser considerado, pelo seu trabalho fantástico, o pai da fitoquímica brasileira, além de ser o patriarca de uma família de cientistas notáveis que se entregaram de corpo e alma ao estudo químico de plantas brasileiras (PINTO et al., 2002).

A maior floresta equatorial e tropical úmida do planeta é localizada no território brasileiro, sendo considerado um país de maior posse litorânea, não pode renunciar às suas riquezas em produtos naturais. No Brasil, a área mais antiga de estudos é a química de produtos naturais, e ainda assim nos dias atuais com o

grande número de pesquisadores, há uma variedade de plantas que até então não foi estudada e nem mesmo descoberta (PINTO et al., 2002).

O Brasil é um país rico quanto sua diversidade, pois possui cinco principais biomas, sendo mencionados como cerrado, floresta amazônica, caatinga, pantanal e mata atlântica (SOUSA et al., 2008). E como isso, diversos pesquisadores de várias instituições de ensino e pesquisa, ao longo das últimas décadas, tem realizado levantamentos florísticos, sendo o principal objetivo conhecer a fitodiversidade do nordeste brasileiro, o qual pode ser favorecido com a elaboração de estratégias de conservação e uso sustentável da região (GUZZI, 2012).

2.2 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Diversas reações químicas estão sempre ocorrendo no interior das células, e o metabolismo representa o conjunto dessas reações, visando à manutenção de importantes funções vitais, no caso dos vegetais, atua na fotossíntese, respiração, transporte de solutos entre outras funções essenciais (FURLAN & MOTTA, 2004; SILVA, 2014, p. 21). Para Simões et al., (2010) os compostos químicos que são formados, degradados ou apenas transformados denominam-se de metabólitos.

As plantas são responsáveis pela produção de metabólitos, segundo Raven (2007):

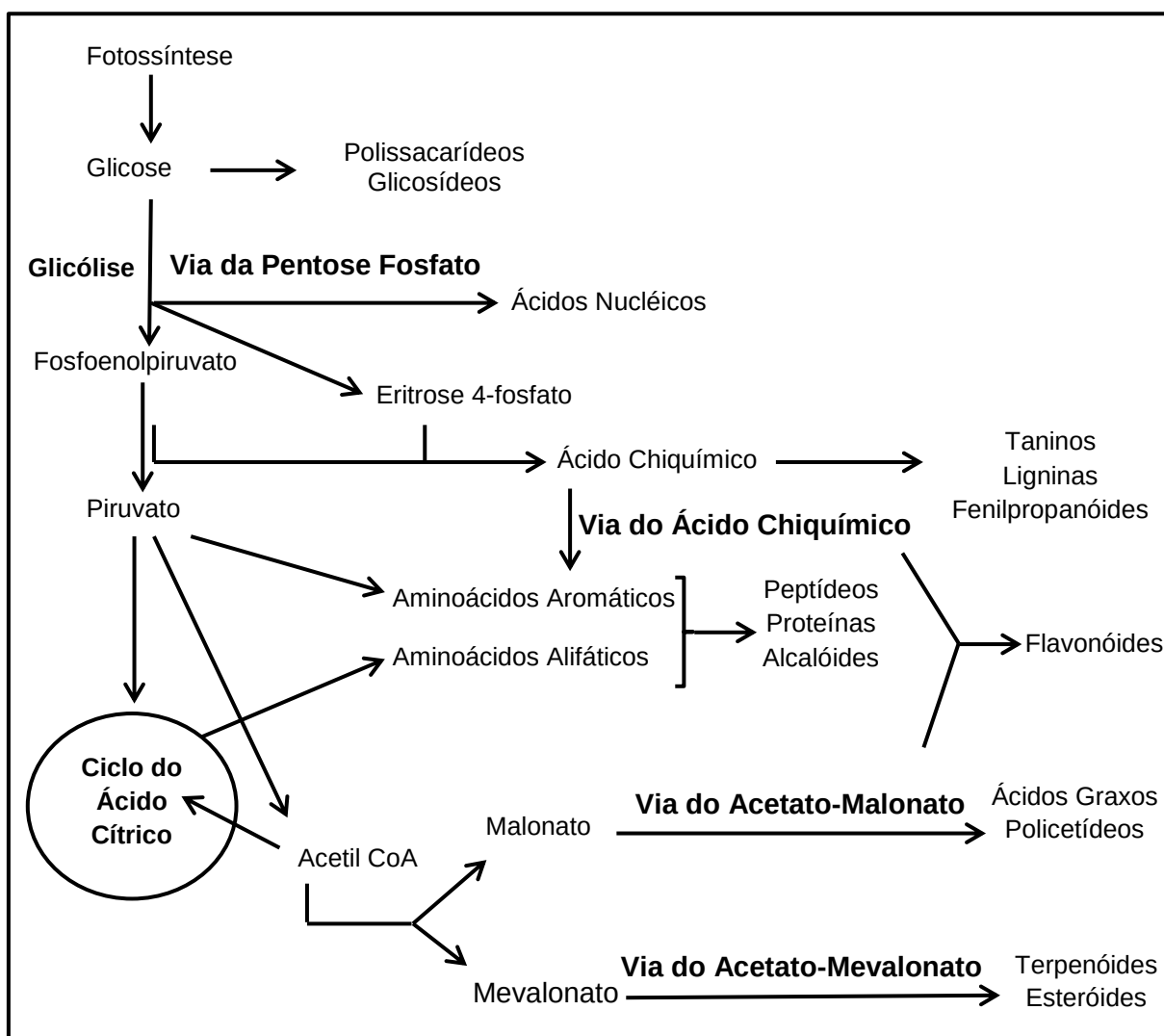
[...] Os compostos produzidos pelas plantas têm sido separados em metabólitos ou produtos primários e secundários. Os metabólitos primários, por definição, são moléculas que são encontradas em todas as células vegetais e são necessários para a vida da planta. Exemplos de metabólitos primários são os açúcares simples, os aminoácidos, as proteínas e os ácidos nucleicos. Os metabólitos secundários, ao contrário, são restritos em sua distribuição, tanto dentro da planta quanto entre diferentes espécies de plantas. Considerados em certa ocasião como produtos de dejetos, sabe-se agora que os metabólitos secundários são importantes para a sobrevivência e a propagação das plantas que os produzem (RAVEN, 2007, p.30).

Os metabólitos secundários não são distribuídos de maneira uniforme na espécie vegetal. São produzidos em um órgão ou tecido específico ou tipo de célula em determinado estágio de desenvolvimento, sendo que isso pode ocorrer durante o desenvolvimento de flores, frutos, sementes e plântulas (RAVEN, 2007 p.30). Essas substâncias são produzidas em pequenas quantidades (SILVA, 2014, p. 21), diferentemente dos metabólitos primários, não são encontradas em toda espécie

vegetal e nem sempre estão incluídas nas funções vitais da planta (RAVEN, 2007, p. 30; SILVA, 2014, p. 21).

De uma forma sucinta, os metabólitos secundários provenientes das plantas, são produzidos a partir de três vias de síntese: a via do ácido chiquímico, a via do acetato-malonato e a via do acetato-mevalonato, além de substâncias que se originam a partir de aminoácidos (FURLAN & MOTTA, 2004). A figura 01 mostra a origem dos metabólitos secundários que pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose (SIMÕES et al., 2007).

Figura 01 - Representação esquemática das vias de síntese de metabólitos secundários em plantas.



Fonte: Adaptado de FURLAN & MOTTA, (2004).

De acordo com Furlan & Motta (2004):

É a partir do metabolismo secundário que são produzidas substâncias como, por exemplo, os compostos fenólicos (taninos, ligninas, fenilpropanóides – derivados da via do ácido chiquímico), os terpenóides (monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, esteróides – derivados da via do acetato-mevalonato), os alcalóides (derivados de aminoácidos), constituintes de ceras epicuticulares (derivados da via do acetato-malonato), entre outros exemplos (FURLAN & MOTTA, 2004, p. 45).

Simões et al., (2007), ressalta que os produtos do metabolismo secundário, garantem vantagens para a sobrevivência de sua espécie e para a perpetuação em seu ecossistema, embora não sejam necessariamente essenciais, para o organismo produtor (SIMÕES et al., 2007).

A maioria dos metabólitos secundários apresenta uma grande importância comercial, tanto na área farmacêutica quanto em outras áreas, tais como: alimentar, agrônômica, perfumaria, etc. (SIMÕES et al., 2007).

Os metabólitos secundários podem ser subdivididos em metabolitos fixos e voláteis, sendo os óleos essenciais formados pela mistura de vários metabolitos voláteis produzidos pelas plantas e são responsáveis pelo aroma das plantas aromáticas.

2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

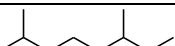
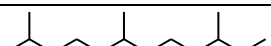
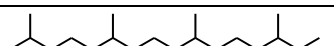
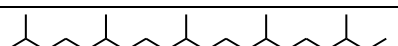
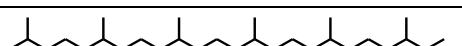
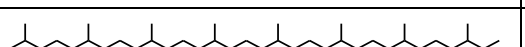
De forma geral, os óleos essenciais podem ser chamados de óleos etéreos ou essências e são definidos como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, comumente odoríferas e líquidas (SIMÕES et al., 2007). Utilizados como matéria-prima principalmente na produção de alimentos e bebidas, como aromatizantes, apresenta uma crescente utilidade na área farmacêutica, principalmente na produção de cosméticos devido às suas propriedades medicinais comprovadas cientificamente, assim como conhecidas pela medicina popular. Embora apresentem caráter lipofílico, são quimicamente diferentes dos óleos fixos constituídos principalmente por triacilglicerídeos (MONTANARI, 2010).

Os óleos essenciais são constituídos principalmente por substâncias terpênicas e por moléculas menores como fenilpropanóides, ésteres e outras substâncias de peso molecular baixo, estes óleos são usados normalmente “*in natura*”, ou seja, através de misturas, devido suas propriedades organolépticas que

estão associadas às diferentes substâncias que fazem parte de sua composição volátil. (CRAVEIRO & QUEIROZ, 1993).

De acordo com Raven (2007), os terpenóides (também chamados de terpenos) ocorrem em todas as plantas e é de longe a maior classe de metabólitos secundários, havendo mais de 22.000 compostos terpenóides identificados. Eles podem ser classificados de acordo com o seu número de unidades de isopreno (C_5H_8) como mostra o Quadro 01. Dentre as categorias de terpenos, as que mais se destacam são os monoterpenos, cujas moléculas são formadas pela condensação de duas unidades de isopreno e apresentam dez átomos de carbono em suas estruturas; os sesquiterpenos, que consistem em três unidades de isopreno e apresentam quinze átomos de carbono em suas estruturas e os diterpenos, que consistem em quatro unidades de isopreno, apresentando vinte átomos de carbono em suas estruturas (CROTEAU et al., 2000; RAVEN, 2007).

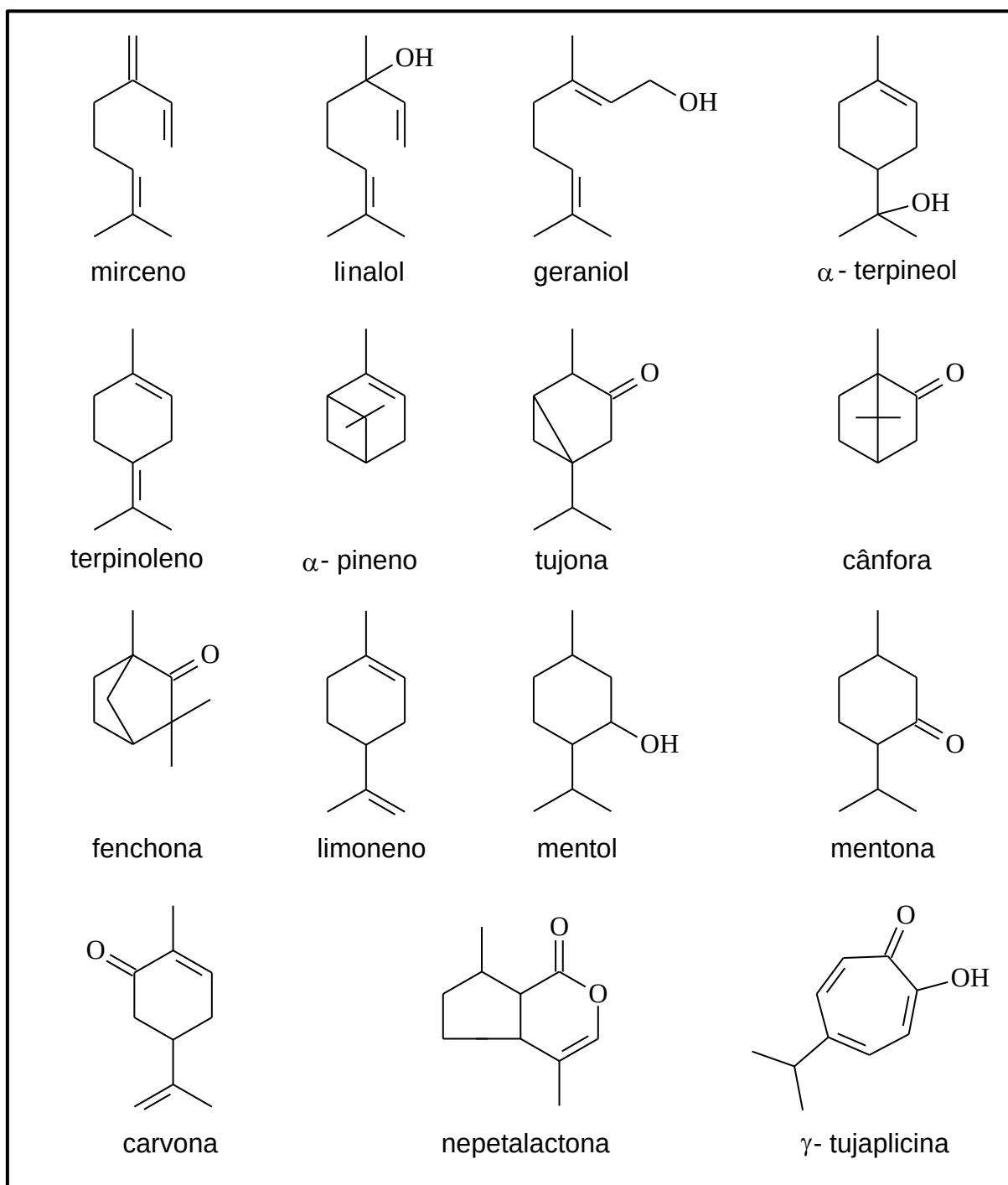
Quadro 01 - Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides

Número de Unidade	Números de átomos de carbono	Nome ou classe
1	5 	Isopreno
2	10 	Monoterpenóides
3	15 	Sesquiterpenóides
4	20 	Diterpenóides
5	25 	Sesterpenóides
6	30 	Triterpenóides
8	40 	Tetraterpenóides
n	N	Polisoprenóides

Fonte: Adaptado de SIMÕES et al., (2007).

Segundo Simões et al., (2007) os monoterpenos podem ser divididos em três subgrupos: acíclicos (mirceno, linalol, geraniol), monocíclicos (alfa-terpineol e terpinoleno) e bicíclicos (alfa-pineno, tujona, cânfora, fenchona). Dentre esses subgrupos há ainda outras classificações: hidrocarbonetos insaturados (limoneno), álcoois (mentol), aldeídos ou cetonas (mentona, carvona), lactonas (os monoterpenos lactônicos são chamados de iridóides, ex. nepetalactonas), e tropolonas (gama-tujaplicina) podendo ser visualizado alguns exemplos na figura 02.

Figura 02 - Exemplos de compostos monoterpênicos de ocorrência em óleos voláteis



Fonte: Adaptado de SIMÕES et al., (2007).

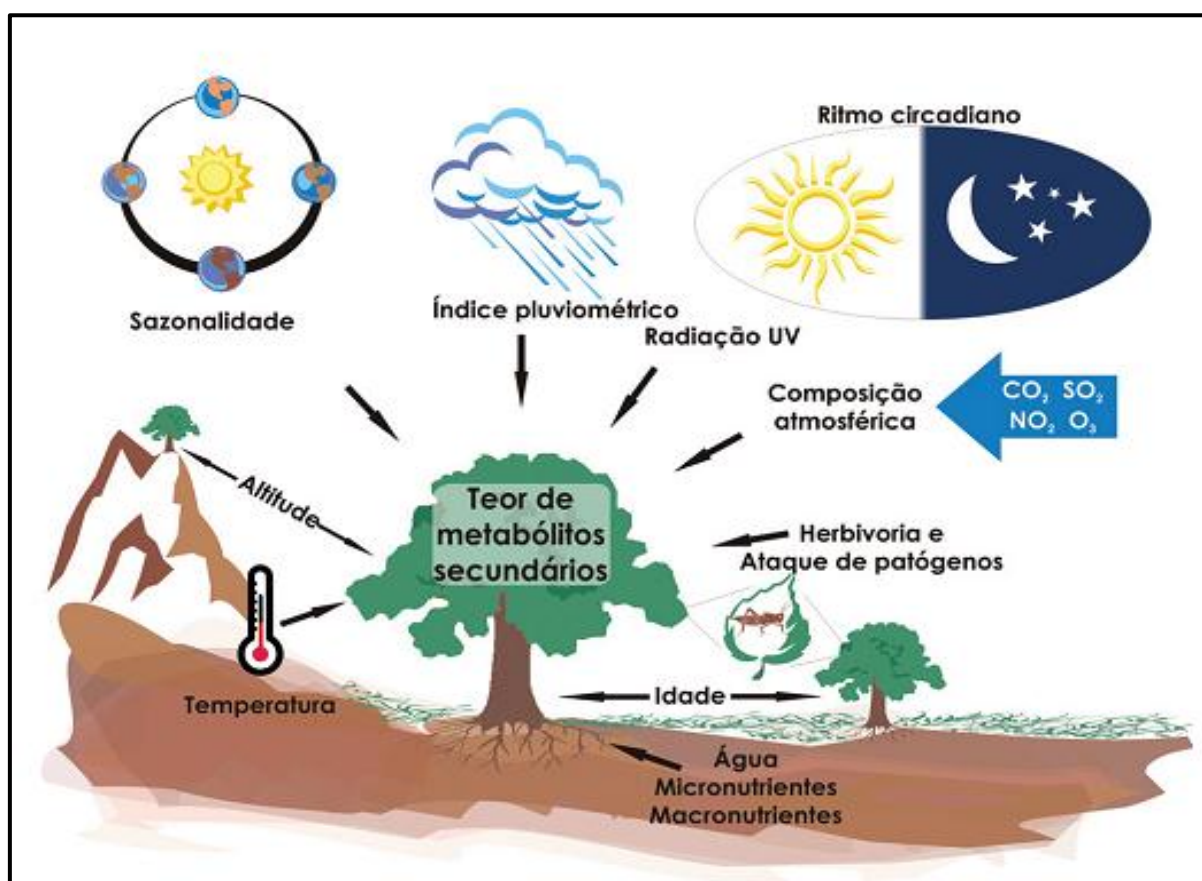
2.3.1 Fatores que afetam na composição dos óleos essenciais

A composição química do óleo essencial extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal pode variar significativamente, de acordo com o período de

coleta, do clima e do tipo de solo, onde a planta se desenvolve (SIMÕES & SPITZER, 1999).

Desta maneira, os fatores genéticos e os fatores ambientais, como sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, nutrientes, altitude, poluição atmosférica, ritmo circadiano e desenvolvimento, entre outros, podem causar significativas variações na composição química e determinam as características qualitativas e quantitativas dos óleos voláteis (SIMÕES et al., 2004; GOBBO-NETO & LOPES, 2007). A figura 03 mostra os principais fatores que podem influenciar na alteração quantitativa e qualitativa dos metabólitos secundários.

Figura 03 - Principais fatores que influenciam na composição e no teor de metabólitos secundários dos óleos voláteis



Fonte: Adaptado de GOBBO-NETO & LOPES, (2007).

Segundo De Moraes (2009), durante as estações do ano, a composição química e o teor de óleo essencial podem sofrer alterações. Nesse mesmo contexto, Chaves (2002) revela que nos estudos de avaliação da época de coleta na composição do óleo essencial de folhas e inflorescências de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*), demonstrou em seus resultados, interferências na composição do óleo essencial presente nas folhas em função das variações

climáticas, destacando o eugenol como componente majoritário no verão e o *b* - selineno e trans - cariofileno no inverno.

Na pesquisa realizada com o objetivo de avaliar a relação entre o estágio de desenvolvimento e o teor de óleo essencial em plantas de *Ocimum basilicum*, na qual consistiu em duas colheitas, sendo uma aos cinco meses e outra aos dez meses após o plantio, Silva et al., (2003), relataram que a maior produtividade de óleo essencial foi obtida na coleta realizada após aos dez meses do plantio.

Embora os vegetais estejam adaptados ao hábitat natural, são capazes de resistir a variações de temperatura. De Moraes (2009) ressalta que estas variações são responsáveis pelas alterações na produção de metabólitos secundários. Na maioria das vezes os óleos essenciais provenientes das plantas apresentam um aumento em seu teor quando se encontram em ambientes com elevada temperatura, todavia, pode-se observar perda excessiva em dias muito quentes. De Moraes (2009) ressalta ainda que o horário de coleta das plantas de acordo com as observações ao longo do dia torna-se um aspecto relevante na produção de óleos essenciais.

Nos estudos realizados por Do Nascimento et al., (2006) com a finalidade de verificar o efeito do horário de coleta sobre o rendimento do óleo essencial do capim-limão (*Andropogon sp.*), bem como sobre o teor de citral, componente majoritário do seu óleo essencial, mostraram que ao coletarem amostras em diferentes horários (7, 9, 11, 13, 15 e 17 horas), constataram de acordo com seus resultados que houve diferença estatística entre os horários de coleta, apresentando maior rendimento na coleta feita às 7 horas (5,06 mL/kg). Já o teor de citral, apresentou maior percentual na coleta realizada às 13 horas (91,7%), entretanto, este foi o horário de menor produção de óleo essencial.

2.3.2 Métodos gerais de extração e análise de óleos essenciais

Um grande número de espécies de plantas contém compostos voláteis que podem ser extraídos na forma de óleo essencial. Existem diferentes métodos que podem ser utilizados quando se trata da extração de óleos essenciais das diferentes partes das plantas.

Na antiguidade foi bastante utilizada, a destilação por arraste a vapor na separação de óleos essenciais e também na produção de perfumes (MACHADO, 2011). De acordo com Lima Neto (2014), as principais técnicas de extração

utilizadas para a obtenção de óleos essenciais de plantas aromáticas, são: a hidrodestilação, destilação por arraste a vapor, extração por solventes orgânicos, extração com fluido supercrítico, enfloração, prensagem a frio, extração em fase sólida (SPE), micro extração em fase sólida (SPME), dentre outros.

A hidrodestilação e a destilação por arraste a vapor são processos tradicionais empregados para a obtenção de óleos essenciais (LIMA NETO, 2014). No método de hidrodestilação como mostra a figura 04, o material a ser destilado fica em contato direto com a água no interior de um balão de fundo redondo, onde é mantido em uma manta aquecedora e acoplado ao aparelho Clevenger. Com o aquecimento, a água entra em ebulição arrastando os compostos voláteis, inclusive o óleo essencial presente no material, e quando ocorre o processo de condensação, o óleo é separado da água formando uma mistura heterogênea, com duas fases, devido a diferença de polaridade e densidade entre a água e o óleo (SANTOS, 2015).

Figura 04 - Aparelhagem utilizada no método de hidrodestilação



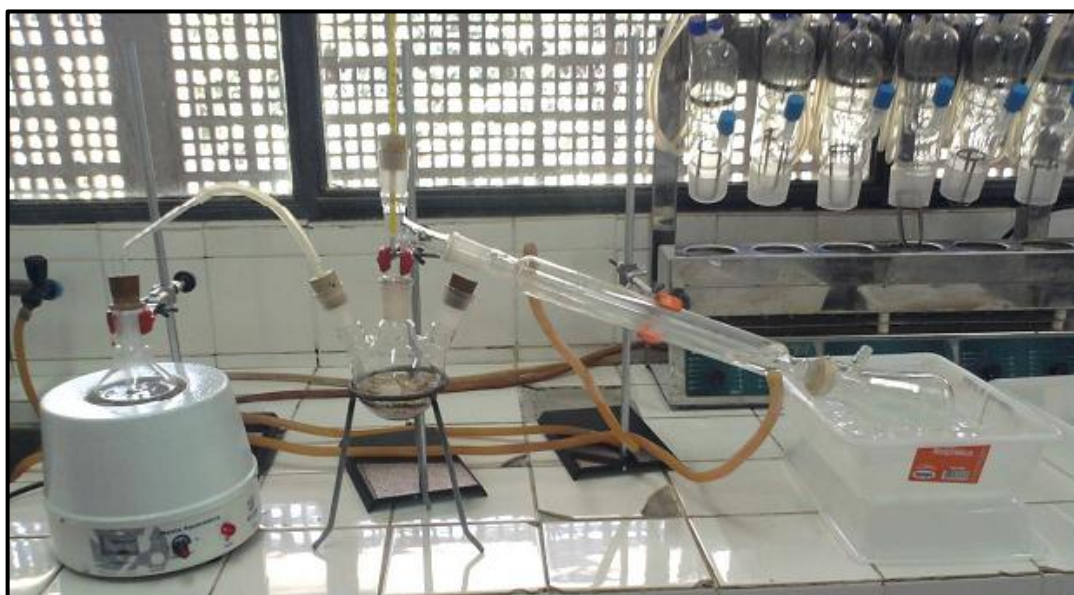
Fonte: Autoria própria, (2017).

A destilação por arraste a vapor consiste em um método, no qual o material fica suspenso em uma placa perfurada, de modo a evitar o contato direto com a água em ebulição e entra em contato somente com o vapor d'água. Com a ebulição

da água em seu estado puro, o vapor percorre o material arrastando somente o óleo volátil. Nos processos posteriores, condensação e separação, acontece semelhante ao método de hidrodestilação (OLINDA & OLIVEIRA, 2012).

Olinda & Oliveira (2012), em sua pesquisa montaram-se um método de arraste a vapor, como mostra a Figura 05, na qual a matéria prima triturada fica colocada em um balão de três bocas, e em outro balão de fundo redondo, fica adicionada água destilada o qual foi aquecido em uma manta. Neste método, a amostra não entra em contato direto com a água que está em ebulição, o vapor d'água percorre o material arrastando somente o óleo, ao passar pelo condensador o material cai em um kitassato que está imerso em um recipiente contendo água e gelo.

Figura 05 - Aparelhagem utilizada no método de destilação por arraste a vapor



Fonte: OLINDA & OLIVEIRA, (2012).

As técnicas mais utilizadas para analisar a composição química dos óleos essenciais, são: cromatografia gasosa (CG), cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (LIMA NETO, 2014). A cromatografia gasosa é um método cromatográfico, que desempenha a função de separar e quantificar os constituintes químicos dos óleos essenciais (SIMÕES et al., 2007).

Para que tenha mais segurança na identificação da composição química dos óleos voláteis, recomenda-se analisar também por CG-MS, pois essa técnica se configura na combinação das vantagens da cromatografia gasosa (alta seletividade

e eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade) permitindo a separação dos componentes e, além disso, a técnica fornece um espectro de massas para cada pico (SIMÕES et al., 2007; CHIARADIA et al., 2008).

De acordo com Tonhi et al. (2002), em menos de trinta anos a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), uma técnica de separação, passou a ser a mais empregada na avaliação qualitativa e quantitativa de óleos voláteis. As razões que justificam esse crescimento estão relacionadas com as vantagens dessa técnica, sensibilidade, eficiência, especificidade, rapidez e a possibilidade de separar espécies não voláteis e termicamente instáveis, além de permitir a quantificação de cada composto analisado em somente uma corrida cromatográfica (NAIK, 2001; ALVES et al., 2002; TONHI et al., 2002).

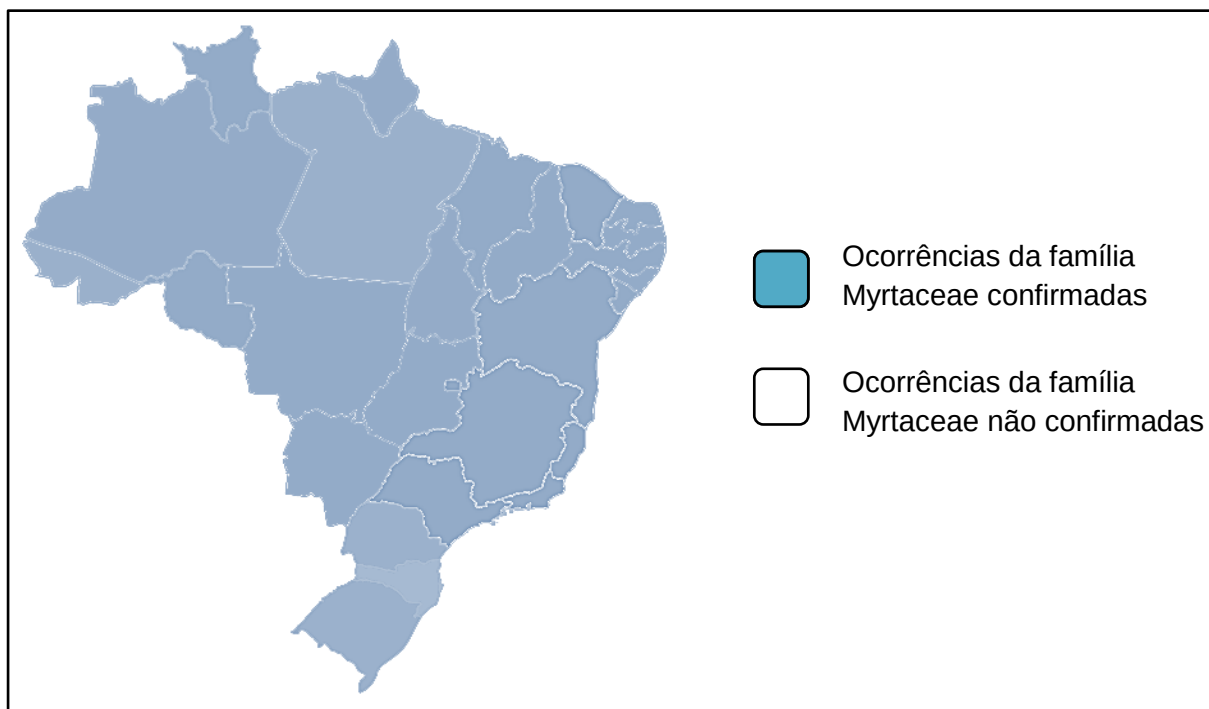
2.4 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA ESPÉCIE *E. puniceifolia*

2.4.1 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae está dividida em duas subfamílias, Myrtoideae e Psiloxylloideae (WILSON, 2001; AMARAL, 2012). Sendo que a subfamília Psiloxylloideae é subdividida em apenas dois gêneros africanos, já Myrtoideae compreende 15 tribos, dentre elas, a tribo myrteae, que concentra a maioria das mirtáceas totalizando 49 gêneros e cerca 2500 espécies (SOARES-SILVA, 2000; LUCAS, 2007; LIMA, GOLDENBERG & SOBRAL, 2011).

A família Myrtaceae apresenta uma estimativa de 132 gêneros e mais de 5600 espécies (VIEIRA, 2010; LIMA, GOLDENBERG & SOBRAL, 2011). No Brasil, a família myrtaceae possui ocorrências confirmadas em todos os estados brasileiros, podendo ser visualizados na Figura 06, e se encontra entre as 10 famílias com maior riqueza de espécies, sendo composta por 23 gêneros e um pouco mais de 1.000 espécies (SOBRAL & PROENÇA, 2015; SOBRAL et al., 2015).

Figura 06 - Estados brasileiros onde a família Myrtaceae têm ocorrências confirmadas



FONTE: SOBRAL et al., (2015).

2.4.2 Espécie *E. punicifolia*

A espécie *E. punicifolia* é conhecida popularmente como murta, e é pertencente à família Myrtaceae, na qual se encontra outras espécies frutíferas e medicinais como a goiabeira (*Psidium guajava* L.) e a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). A espécie também recebe o nome de insulina vegetal devido a sua importância relacionada ao tratamento de diabetes (MARTINS, 1989 *apud* SENRA, 2012). Na tabela 01 é apresentada sua classificação científica.

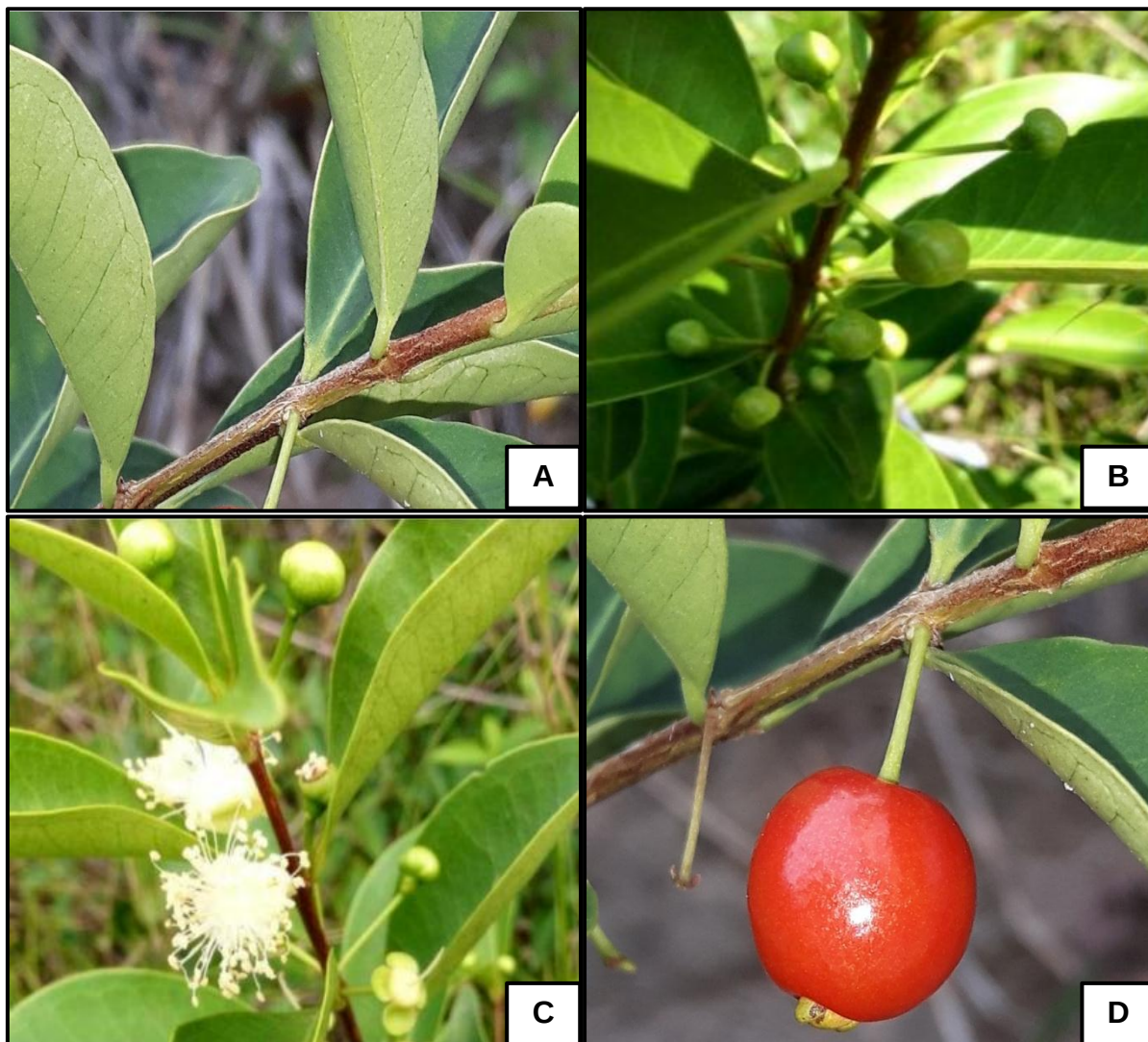
Tabela 01- Classificação científica do arbusto *E. punicifolia*

Classificação científica	
Reino:	<i>Plantae</i>
Classe:	<i>Magnoliopsida</i>
Ordem:	<i>Myrtales</i>
Família:	<i>Myrtaceae</i>
Gênero:	<i>Eugenia</i>
Espécie:	<i>Eugenia punicifolia</i>

Fonte: adaptado de MAGINA, (2008).

O arbusto apresenta ampla distribuição por todos os ecossistemas brasileiros, nos quais podem ser destacadas regiões que possuem clima árido e semiárido, pois a espécie *Eugenia punicifolia* (FIGURA 07) prefere os terrenos áridos onde encontra terra e ambiente que se adaptam perfeitamente à sua natureza específica (CRUZ, 1982 *apud* SENRA, 2012).

Figura 07 - Partes da espécie *Eugenia punicifolia*



(A-folhas, B-botão floral, C-flores e D-fruto). Fonte: FLORACAMPUSIUFPA, (2018), (A e D); CUNHA et al., (2016), (B e C).

2.4.2.1 Atividades biológicas de *Eugenia punicifolia*.

Várias espécies do gênero *Eugenia* são utilizadas na medicina popular. No Brasil podem ser destacadas várias espécies medicinais como mostrado na tabela

02. Porém não há muitas pesquisas sobre as atividades farmacológicas da espécie *Eugenia punicifolia*.

Tabela 02 - Espécies medicinais do gênero *Eugenia* no Brasil e suas utilidades

Espécies	Nome Popular	Partes	Usos	Fontes
<i>Eugenia brasiliensis</i> Lam.	Grumixama, ibaporoiti	Cascas, Folhas	Diurético, antireumático	Mors et al., 2000
<i>Eugenia cauliflora</i> O. Berg	Jabuticaba	Cascas	Asma, diarreia, dor de garganta	Boscolo, 2003
<i>Eugenia cf. biflora</i> L.	Murta, Pedra-hume	Folhas	"Doença de mulher"	Amorozo & Gely, 1998
<i>Eugenia dysenterica</i> DC.	Cagaiteira	Frutos, folhas	Prisão de ventre, diarreia, rins, cicatrizante, bexiga	Bezerra et al, 2002; Mors et al., 2000; Vieira & Martins, 2000; Vila Verde et al., 2003
<i>Eugenia jambos</i> L.	Jambo	Folhas	Diabetes, adstringente	Campelo, 1988; Di Stasi et al., 2002
<i>Eugenia jambolana</i> Lam.	Jambolão	Folhas	Diabetes	Albuquerque Mello, 1971; Volpato et al., 2002
<i>Eugenia punicifolia</i> (H.B.K.) DC.	Murta	Folhas, raízes	Febre, resfriado, diabetes, males do fígado	Ribeiro et al., 1999; Vieira & Martins, 2000
<i>Eugenia sulcata</i> Spring	Pitangueira selvagem	Folhas	Febre, diarreia em crianças	Mors et al., 2000
<i>Eugenia supra-axillaris</i> Spring	Fruta de tatu, tatu-caá	Folhas	Diarreia	Mors et al., 2000
<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitanga	Folhas	Diarreia, gota, reumatismo, febre, gripe, colesterol	Ribeiro, 1997; Ribeiro et al., 1999; Mors et al., 2000; Vieira & Martins, 2000; Marodin et al., 2001; Amorozo, 2002; Piva, 2002; Lorenzi & Matos, 2002; Boscolo, 2003; Medeiros, 2003; Coelho de Souza et al., 2004

Fonte: adaptado de CRUZ & KAPLAN, (2006).

Estudos de Grangeiro et al., (2006), Leite et al., (2010), Sales et al., (2014) e Basting et al., (2014), confirmaram atividades farmacológicas da espécie *E. punicifolia*. Na medicina popular esta espécie é utilizada no tratamento de inflamações e no alívio de dores. Conforme Basting et al., (2014) foi verificado estas

indicações através de decocção ou infusão como um agente terapêutico natural. Nesse estudo essas atividades farmacológicas foram comprovadas em ensaios *in vitro*, fundamentando o uso popular e demonstrando o potencial terapêutico que esta espécie apresenta.

Na pesquisa de Grangeiro et al., (2006), foi comprovado a atividade farmacológica do extrato aquoso da espécie *E. punicifolia* sobre a neurotransmissão nicotínico-colinérgica, já no estudo de Leite et al., (2014) foi avaliado a capacidade anti-inflamatória em ensaios *in vivo* utilizando camundongos distróficos com lesões musculares.

2.4.2.2 Metabólitos secundários da espécie *Eugenia punicifolia*.

Na literatura são encontrados estudos sobre a composição dos óleos essenciais da espécie *E. punicifolia*. Nestas pesquisas são apresentados metabólitos secundários que constituem os óleos essenciais extraídos das folhas de murta, que em sua maioria são os compostos terpenóides (1,8-cineol, α -pineno, limoneno, α -copaeno, linalool, α -terpineol e β -cariofileno), podendo ser encontrados outros compostos, porém em pequenas quantidades (MAIA et al., 1997; OLIVEIRA; DIAS; CAMARA, 2005; RAMOS et al., 2010; RIBEIRO, 2016; FERNANDES, 2017).

Na pesquisa realizada por Ribeiro (2016) sobre a atividade moluscicida de óleos essenciais, foram identificados constituintes voláteis, como α -pineno (58,65%), apresentando teor majoritário, 1,8-cineol (13,06%), α -terpineol (5,92%) e limonemo (5,25%), presentes no óleo essencial da espécie supracitada, sendo que foram identificados outros compostos, porém seus teores foram menores que 3%.

Em estudo feito por Fernandes (2017), foram identificados e quantificados no óleo essencial das folhas da espécie, 44 compostos (99,24%) derivados de monoterpenos, sendo os principais compostos identificados como majoritários foram: α -pineno (57,84%) com maior teor, 1,8-cineol (9,81%), α -terpineol (6,97%) e limonemo (4,05%), os outros constituintes apresentaram teores inferiores a 3%.

Observa-se que nas pesquisas realizada por Ribeiro (2016) e Fernandes (2017), os compostos que apresentam maior proporção foram semelhantes, todavia houve uma pequena variação que pode ter sido por influência de alguns fatores que afetam diretamente no rendimento e na composição do óleo essencial.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar um estudo circadiano do óleo essencial da espécie *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. do município de Ilha Grande do Piauí.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Coletar as folhas da espécie (*E. punicifolia*) presente no Município de Ilha Grande do Piauí;
- ✓ Extrair óleo essencial das folhas da espécie *E. punicifolia* ao longo do dia, através da técnica de hidrodestilação;
- ✓ Analisar o óleo essencial extraído, por meio da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS);
- ✓ Identificar as variações que ocorre na composição química do óleo essencial das folhas de *E. punicifolia* ao longo do dia.

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

A pesquisa realizada é classificada como experimental e bibliográfica, baseando-se nas etapas efetuadas no decorrer de seu desenvolvimento. A pesquisa experimental caracteriza-se em determinar um objeto de estudo, selecionar variáveis que seriam capazes de influenciá-lo e definir as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto (GIL, 2008).

A pesquisa bibliográfica é desenvolvida baseada em materiais já disponíveis (elaborados), constituídos principalmente de livros e artigos científicos (GIL, 2008).

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Coleta da amostra

As folhas da espécie *E. puniceifolia* foram coletadas no município de Ilha Grande do Piauí, na coordenada Lat. 2°50'42"S Long. 41°48'28"W, no dia 16 de março do ano de 2016. Neste estudo, a coleta foi realizada em três horários diferentes ao longo do dia, 08:00, 12:00 e 16:00 horas de um mesmo exemplar. Após a coleta, as amostras foram transportadas e pesadas em uma balança semi-analítica do laboratório de química do IFPI, para posteriormente realizar a extração do óleo essencial. Após o processo de extração foi realizada obtenção e análise dos constituintes químicos voláteis de acordo com seus horários de coleta.

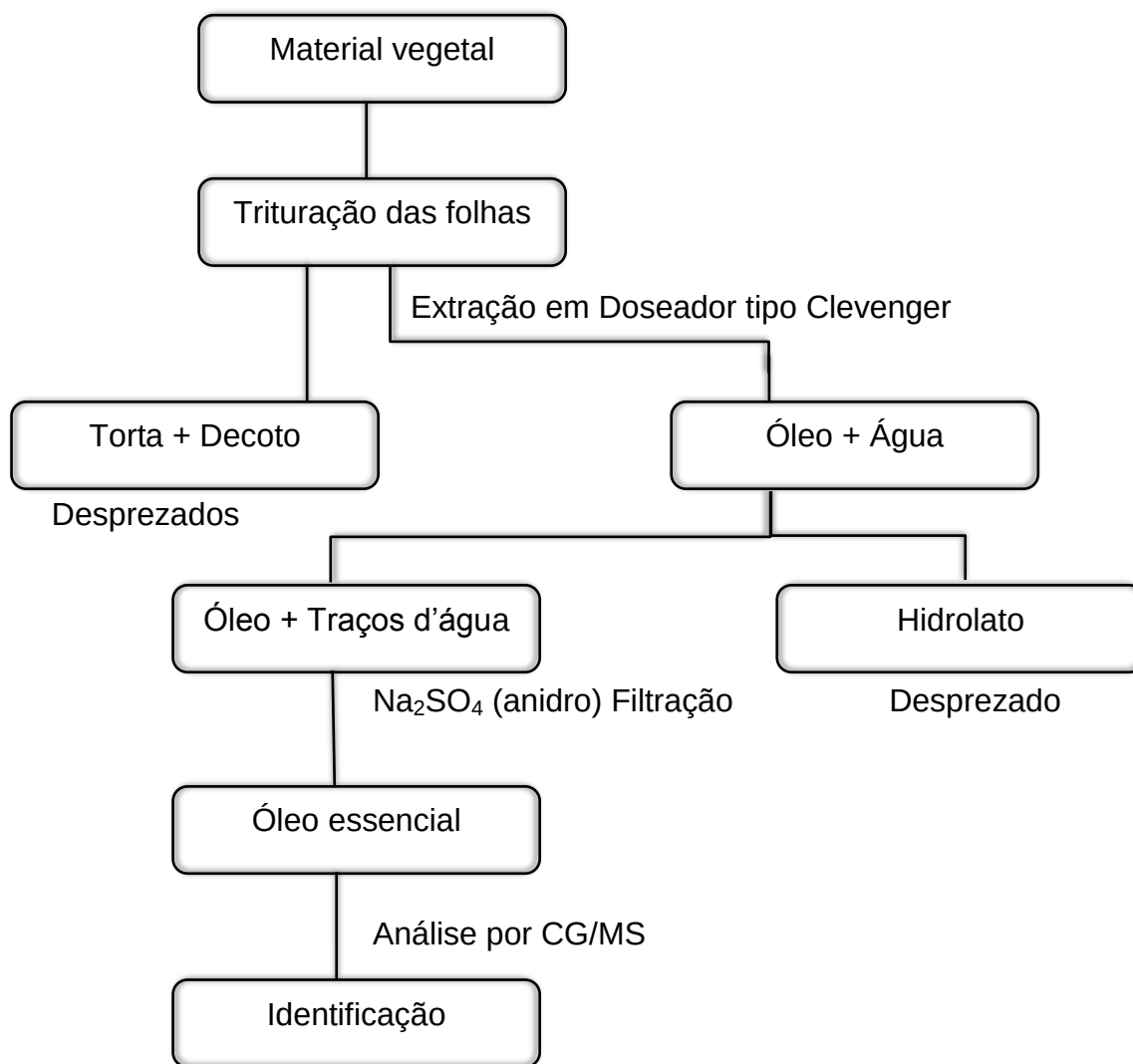
4.2.2 Procedimento

4.2.2.1 Obtenção e identificação dos óleos essenciais

A análise dos constituintes químicos da espécie *E. puniceifolia* foi realizada a partir de amostras de óleos essenciais extraídos das folhas do arbusto. A extração do óleo essencial foi realizada pela técnica de hidrodestilação em aparelho doseador de óleo essencial tipo Clevenger modificado por O. R. Gottlieb. Durante o processo, os materiais vegetais frescos foram pesados e triturados, posteriormente, colocados separadamente em um balão de vidro de 5,0 L, adicionado 2,5 L de água destilada e aquecidos em temperatura de refluxo por duas horas. Em seguida a mistura água/óleo foi separada com auxílio de uma pipeta, o óleo essencial obtido foi tratado com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para eliminar os traços d'água, após isso foi

armazenado em geladeira até posterior análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. No Fluxograma 01 estão apresentadas esquematicamente a extração e a identificação do óleo essencial.

Fluxograma 01 - Fluxograma de obtenção e identificação do óleo essencial



Fonte: Autoria própria, (2017).

4.2.2.2 Técnica e instrumentos para as análises

A análise dos constituintes químicos presentes nos óleos essenciais obtidos foi realizada pela técnica de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) em um instrumento CG/MS SHIMADZU, modelo QP5050 pertencente a central analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI-UFC), com impacto de elétrons a 70 eV. A identificação foi realizada através da determinação dos índices de *Kovats* e da

comparação com padrões de espectros de massas dos constituintes químicos voláteis disponíveis na literatura.

4.3 INTERPRETAÇÃO E ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os dados obtidos com a realização do presente trabalho, como os gráficos e as fórmulas estruturais dos constituintes voláteis identificados das folhas de *E. puniceifolia*, foram tratados com os softwares Origin 6.0 Professional (elucidação dos gráficos) e ChemWindow 6.0 (desenhos das fórmulas estruturais).

Nesta pesquisa, serão considerados como metabólitos majoritários, os compostos químicos identificados que apresentarem teores igual ou acima de 3%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

As amostras (folhas) da espécie *E. puniceifolia* foram coletadas em três horários diferentes como mostrado na tabela 04, (8, 12 e 16 horas), todas as coletas foram realizadas de um mesmo exemplar a fim de diminuir possíveis alterações na composição dos óleos extraídos, visto que vários fatores podem influenciar significativamente nos teores de metabólitos secundários dos óleos essenciais como, idade, localização da espécie vegetal, disponibilidade hídrica, altitude e temperatura (SILVA et al., 2003, SIMÕES et al., 2004; GOBBO-NETO & LOPES, 2007).

Na extração do óleo essencial por hidrodestilação, foi possível identificar um odor intenso proveniente dos compostos voláteis presentes no óleo a ser extraído. Durante o processo de extração no qual foi mantido em funcionamento por 2 horas, notou-se após 1 hora de procedimento a presença dos primeiros traços do óleo essencial, posteriormente foi realizada a remoção do óleo e armazenado em uma temperatura de 4°C, para evitar perda, uma vez que se trata de metabólitos voláteis, para posteriormente ser analisado.

Os óleos essenciais obtidos nos três horários distintos de coletas apresentaram significativas variações no rendimento (TABELA 03). Observa-se uma pequena diminuição no rendimento em relação a coleta de 08:00 e 12:00 horas, e um elevado aumento de aproximadamente 100% em relação as coletas de 12:00 e 16:00 horas, sendo este o horário de maior produção dos metabolitos voláteis.

Tabela 03 - Rendimento do óleo essencial da espécie *E. puniceifolia*

Horário de coleta	Massa de folhas	Massa de óleo	Rendimento do óleo
8 horas	730 g	0,3713 g	0,051%
12 horas	730 g	0,3249 g	0,044%
16 horas	732 g	0,6403 g	0,087%

Fonte: Autoria Própria, (2017).

5.2 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS

A identificação dos constituintes químicos presentes no óleo foi realizada a partir de análises dos fragmentos apresentados no espectro de massas e

comparados com a base de dados contida no aparelho de CG-MS e com dados da literatura.

A partir das análises dos espectros de massas da técnica supracitada, foi possível observar variações na composição dos óleos essenciais da espécie *E. puniceifolia* nos diferentes horários de coleta citados anteriormente. Em cada horário foi observada a presença de 90 picos, mesmo com a quantidade semelhante de picos (metabólitos secundários), houve variação nos teores e metabólitos voláteis do óleo essencial nos três horários de coleta da amostra. Após as análises dos cromatogramas de cada amostra, foram identificados 51 componentes no primeiro horário do dia (8h), 44 componentes no segundo horário do dia (12h) e 42 componentes no terceiro e último horário de coleta do dia (16h), sendo identificados no total, 59 compostos diferentes nos três óleos essenciais extraídos para o estudo circadiano. As Tabelas 04, 05, 06 e 07 apresentam os constituintes químicos voláteis e seus teores em cada horário de coleta.

Tabela 04 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de *E. puniceifolia*

COMPOSTOS	8h(%)	12h(%)	16h(%)
1. tolueno	0,36%	0,60%	0,36%
2. etanoato de 2-metilpropanoila	0,28%	0,45%	0,28%
3. hexanal	-	-	0,26%
4. (E)-2-hex-2-enal	1,80%	1,70%	1,86%
5. (Z)-hex-3-en-1-ol	1,37%	1,18%	0,67%
6. (E)-hex-2-en-1-ol	0,49%	0,20%	-
7. hexanol	0,52%	0,30%	-
8. 2-metil-5-(1-metiletil)-biciclo[3.1.0]hex-2-eno	1,32%	1,28%	0,41%
9. α -pineno	4,49%	5,70%	2,14%
10. (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano	5,32%	6,98%	3,00%
11. β -mirceno	2,03%	1,58%	0,34%
12. α -felandreno	1,50%	-	-

Tabela 05 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de *E. puniceifolia* (continuação)

13. 3-careno	0,26%	-	-
14. (+)-4-careno	0,23%	-	-
15. 1-metil-2-(1-metiletil)-benzeno	2,76%	3,86%	1,50%
16. (R)-1-metil-5-(1-metiletenil)-ciclohexeno	2,58%	2,26%	0,71%
17. (E)- 3,7-dimetil-oct-1,3,6-trieno	3,74%	2,33%	0,47%
18. (Z)- 3,7-dimetil-oct-1,3,6-trieno	4,82%	2,84%	0,66%
19. 1-metil-4-(1-metiletil)-ciclohex-1,4-dieno	0,76%	-	-
20. 2,7,7-trimetil-3-oxatriciclo[4.1.1.0(2,4)]octano	0,13%	0,27%	-
21. 1-metil-4-(1-metiletilideno)- ciclohexeno	-	1,72%	0,36%
22. 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno	4,50%	-	-
23. (E,Z)-2,6-dimetil-oct-2,4,6-trieno	0,49%	0,20%	-
24. trans-Hex-2-enal, dietil acetal	-	-	0,19%
25. (R)-4-methyl-1-(1-metiletil)-3-ciclohexen-1-ol	1,21%	1,24%	0,51%
26. 1-(4-metilfenil)-etanona	0,32%	0,51%	0,13%
27. $\alpha,\alpha,4$ -trimetil-benzenometanol	1,48%	1,89%	0,73%
28. (S)- $\alpha,\alpha,4$ -trimetil-3-ciclohexeno-1-metanol	0,55%	0,66%	0,21%
29. (E,E)-2,6-dimetil-oct-3,5,7-trien-2-ol	0,70%	0,39%	-
30. 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-ciclohexano	5,14%	1,68%	6,42%
31. α -cubebeno	-	-	0,18%
32. ilangeno	0,32%	0,33%	0,43%
33. copaeno	1,73%	1,81%	1,94%
34. 4-metileno-2,8,8-trimetil-2-vinil-biciclo[5.2.0]nonano	0,30%	-	0,74%

Tabela 06 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de *E. puniceifolia* (continuação)

35. [1S-(1.α.,2.β.,4.β.)]-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-ciclohexano	2,69%	2,37%	5,04%
36. [1aR-(1a.α.,4.α.,4a.β.,7b.α.)]-1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-1H-cicloprop[e]azuleno	0,17%	0,23%	2,87%
37. cariofileno	5,80%	7,80%	6,62%
38. [3aS-(3a.α.,3b.β.,4.β.,7.α.,7aS*)octahidro-7-metil-3-metileno-4-(1-metiletil)- 1H-ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno	4,41%	0,66%	5,48%
39. [1S-(1.α.,4.α.,7.α.)]-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-azuleno	0,78%	-	-
40. α-cariofileno	2,74%	2,68%	2,68%
41. [1aR-(1a.α.,4a.β.,7.α.,7a.β.,7b.α.)]-decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-1H-cicloprop[e]azuleno	0,27%	0,30%	2,06%
42. (1.α.,4a.α.,8a.α.)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)- naftaleno	0,87%	0,58%	0,61%
43. [s-(E,E)]-1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)- 1,6-ciclodecadieno	-	1,96%	-
44. [4aR-(4a.α.,7.α.,8a.β.)]-decahidro-4a-metil-1-metileno-7-(1-metiletenil)-naftaleno	1,65%	2,14%	1,41%
45. β-humuleno	-	2,52%	-
46. α-muuroleno	0,81%	0,86%	1,09%
47. [1S-(1.α.,7.α.,8a.β.)]-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)- azuleno	0,70%	0,60%	1,60%
48. (-)-α-panasinseno	0,57%	0,58%	0,32%
49. (1S-cis)-1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-naftaleno	2,40%	2,24%	2,77%
50. isoledeno	0,33%	-	1,51%

Tabela 07 - Variação circadiana dos constituintes químicos voláteis de *E. puniceifolia* (continuação e conclusão)

51. óxido de cariofileno	0,20%	4,75%	3,78%
52. (E,E)-1,5-dimetil-8-(1-metiletilideno)-ciclododec-1,5-dieno	2,42%	1,70%	2,70%
53. [1aR(1a.α.,4.β.4a.β.,7.α.,7a.β.,7b.α.)]-decahidro-1,1,4,7-tetrametil-4aH-cicloprop[e]azulen-4a-ol	-	-	0,96%
54. [1aR-(1a.α.,4a.α.,7.β.,7a.β.,7b.α.)]-decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-1H-cicloprop[e]azulen-7-ol	3,40%	1,82%	2,50%
55. (-)-globulol	2,28%	-	-
56. epiglobulol	1,40%	1,40%	-
57. [2R-(2.α.,4a.β.,8.β.)]-2,3,4,4a,5,6,7,8-octahidro-α.,α.,4a,8-tetrametil-2-naftalenometanol	0,35%	0,28%	-
58. [1R-(1.α.,4a.β.,8a.α.)]-decahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletilideno)-1-naftalenol	0,13%	-	-
59. ledol	-	-	0,77%

Fonte: Autoria Própria, (2017).

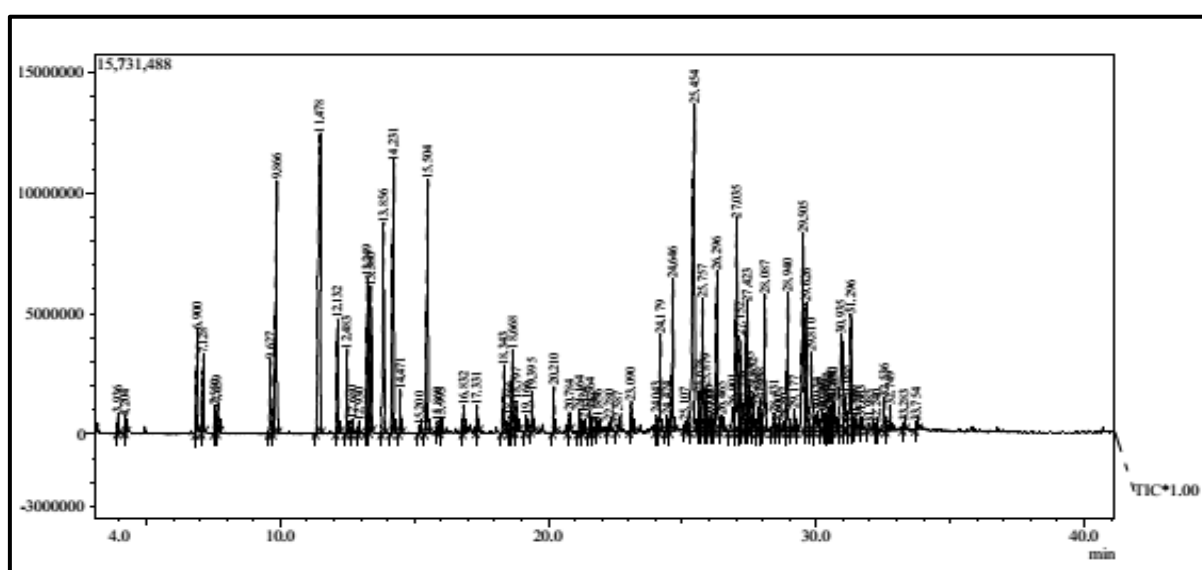
Nas Tabelas 04, 05, 06 e 07, é possível observar a presença de metabólitos voláteis de diversas funções orgânicas, por exemplo, álcoois, aldeídos, ácidos carboxílicos e cetonas. Estes metabólitos são em sua maioria substâncias terpênicas como os monoterpenóides (α -pineno, β -mirceno e copaeno) e sesquiterpenóides (cariofileno, β -humuleno e α -muuroleno).

5.2.1 Componentes do óleo essencial extraído 8 horas

A análise do cromatograma do primeiro horário de coleta do dia (08:00h), revelou a presença de 90 picos, dos quais foram identificados 51 componentes voláteis, correspondendo a 56,7% do total de sinais obtido neste horário. No óleo essencial deste horário (FIGURA 08), os compostos que apresentaram maiores percentuais foram o α -pineno com 4,49% (FIGURA 11), (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-

biciclo[3.1.1]heptano com 5,32% (FIGURA 12), (Z)-3,7-dimetiloct-1,3,6-trieno com 4,82% (FIGURA 13), 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno com 4,50% (FIGURA 14), 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-ciclohexano com 5,14% (FIGURA 15), cariofileno com 5,80% (FIGURA 16), [3aS-(3a.α.,3b.β.,4.β.,7.α.,7aS* octahidro-7-metil-3-metileno-4-(1-metiletil) -1H-ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno com 4,41% (FIGURA 17) e (E)-3,7-dimetiloct-1,3,6-trieno com 3,74% (FIGURA 21), somando 38,22% do total de óleo extraído neste horário.

Figura 08 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de *E. puniceifolia* na coleta de 8h



Fonte: Autoria Própria, (2017).

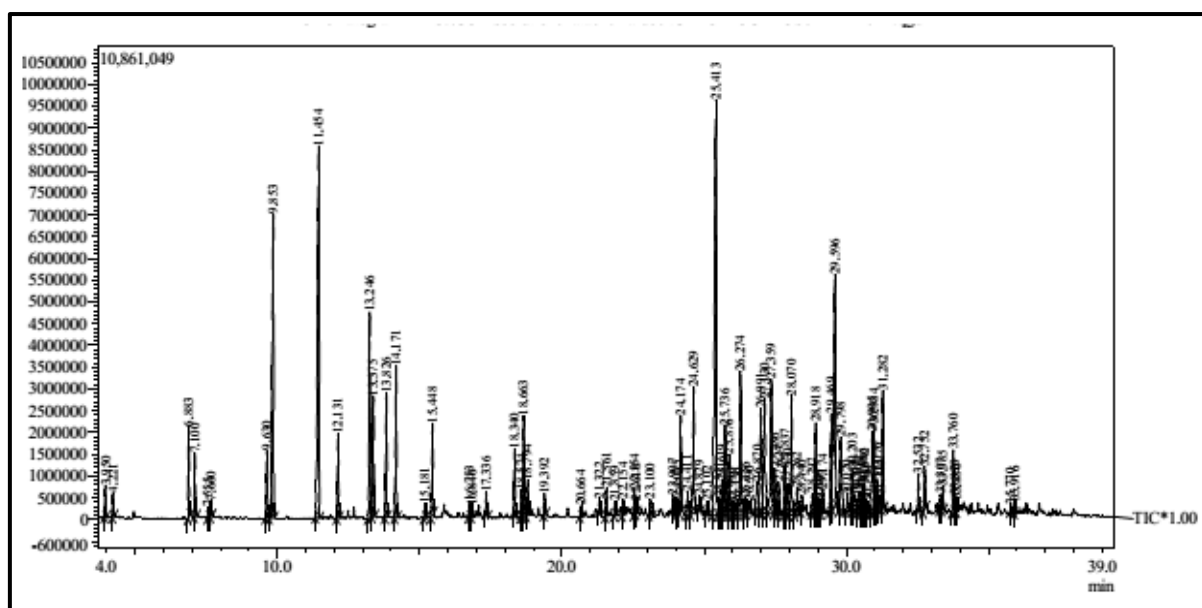
Os outros metabólitos identificados neste mesmo horário, seus teores foram abaixo de 3%, como β -mirceno 2,03% e copaeno com 1,73%. Há sinais também de substâncias oxigenadas, todavia a maioria apresentaram menores concentrações, por exemplo, 1-hexanol com 0,52%, 1-(4-metilfenil)-etanona com 0,32%, ácido acético, éster 2-metilpropílico com 0,28% e [1R-(1.α.,4a.β.,8a.α.)]-decahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletilideno)-1-naftalenol com 0,13%.

5.2.2 Componentes do óleo essencial extraído 12 horas

Na coleta realizada às 12h, foi possível a identificação de 44 compostos voláteis, representando aproximadamente 48,9% do total de 90 picos obtidos neste horário. Na análise do cromatograma (FIGURA 09) deste segundo horário do dia, os metabólitos voláteis majoritários identificados foram o α -pineno com 5,70% (FIGURA

11), (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano com 6,98% (FIGURA 12), cariofileno com 7,80% (FIGURA 16), óxido de cariofileno com 4,75% (FIGURA 19) e 1-metil-2-(1-metiletil)-benzeno com 3,86% (FIGURA 20), correspondendo 29,09% de todo óleo extraído neste horário.

Figura 09 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de *E. punicifolia* na coleta de 12h



Fonte: Autoria Própria, (2017).

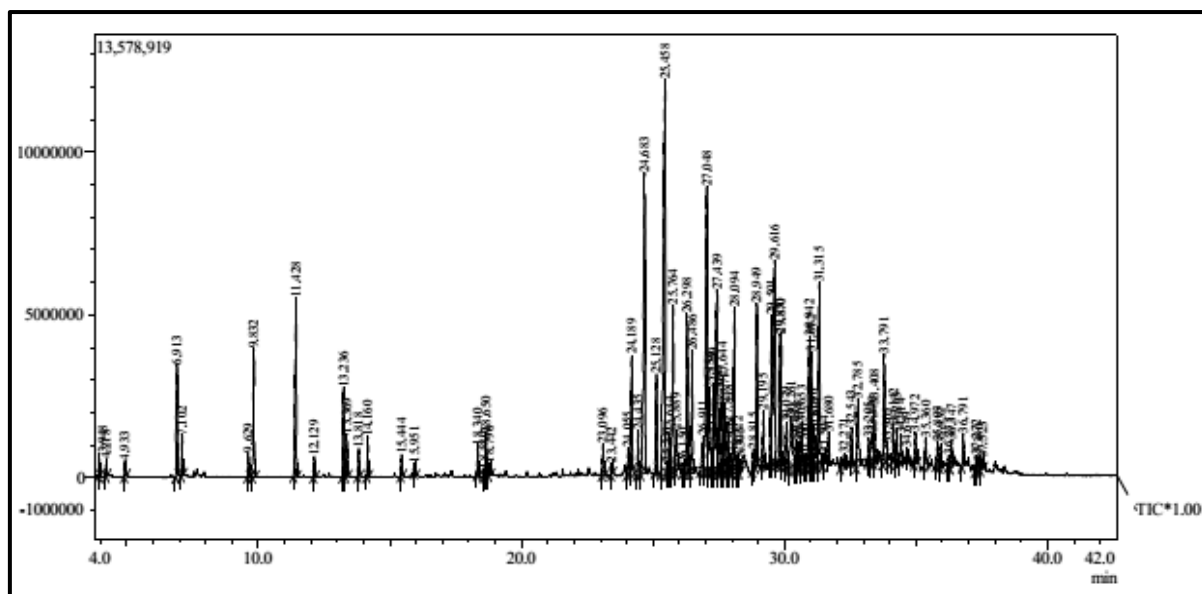
Os outros metabólitos identificados neste mesmo horário tiveram porcentagem abaixo de 3%, como o (Z)- 3,7-dimetiloct-1,3,6-trieno com 2,84%, β -mirceno com 1,58% e ilangeno com 0,33%. Foram identificadas também substâncias oxigenadas, todavia a maioria apresentaram menores concentrações, por exemplo, 1-hexanol com 0,30%, 1-(4-metilfenil)-etanona com 0,51%, (E)-2-hexen-1-ol com 0,20% e ácido acético, éster 2-metilpropílico com 0,45%.

5.2.3 Componentes do óleo essencial extraído 16 horas

A análise do cromatograma (FIGURA 10) do óleo essencial extraído no horário de 16:00 horas, levou a identificação de 42 componentes voláteis, correspondendo aproximadamente 46,7% do total de sinais obtido neste horário. Os metabólitos majoritários identificados neste óleo essencial foram o (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano com 3,00% (FIGURA 12), 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-ciclohexano com 6,42% (FIGURA 15), cariofileno com 6,62% (FIGURA 16), [3aS-(3a.α.,3b.β.,4.β.,7.α.,7aS*)octahidro-7-metil-3-metileno-4-

(1-metiletil) - 1H ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno com 5,48% (FIGURA 17), [1S-(1.α.,2.β.,4.β.)]-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-ciclohexano com 5,04% (FIGURA 18) e óxido de cariofileno com 3,78% (FIGURA 19), somando 30,34% do total de óleo extraído neste horário.

Figura 10 - Cromatograma do óleo essencial das folhas de *E. puniceifolia* na coleta de 16h

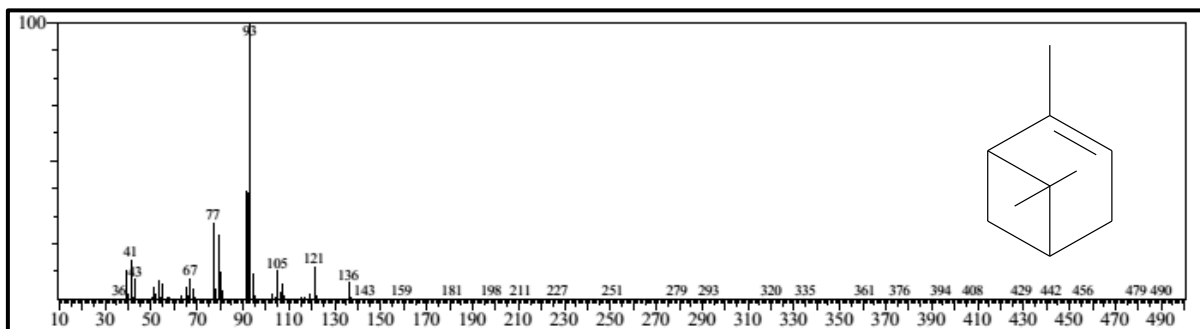


Fonte: Autoria Própria, (2017).

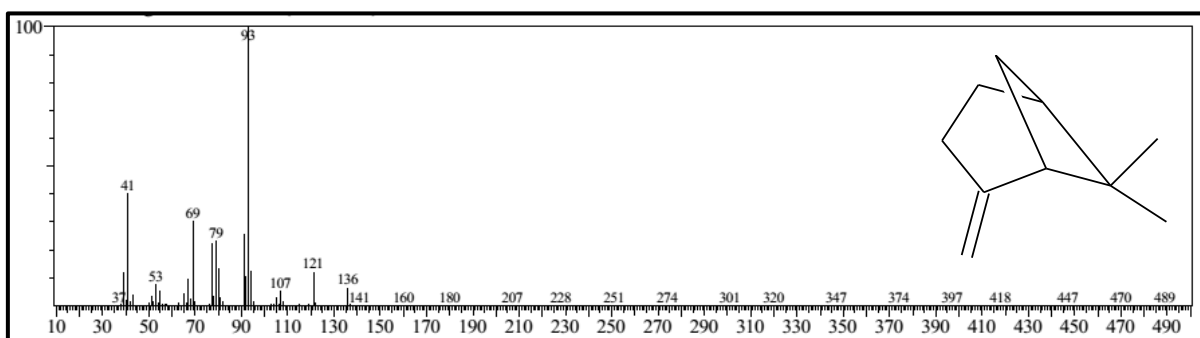
Os outros metabólitos identificados neste mesmo horário, seus teores foram abaixo de 3%, como o α -pineno com 2,14%, copaeno com 1,94%, ilangeno com 0,43% e α -cubebeno com 0,18%. Há sinais também de substâncias oxigenadas, todavia a maioria apresentaram menores concentrações, por exemplo, hexanal com 0,26%, trans-Hex-2-enal, dietil acetal com 0,19%, 1-(4-metilfenil)-etanona com 0,13%, ácido acético, éster 2-metilpropílico com 0,28% e (S)- α ., α .,4-trimetil-3-ciclohexeno-1-metanol com 0,21%.

5.2.4 Compostos voláteis majoritários extraídos nos horários de 8h, 12h e 16h

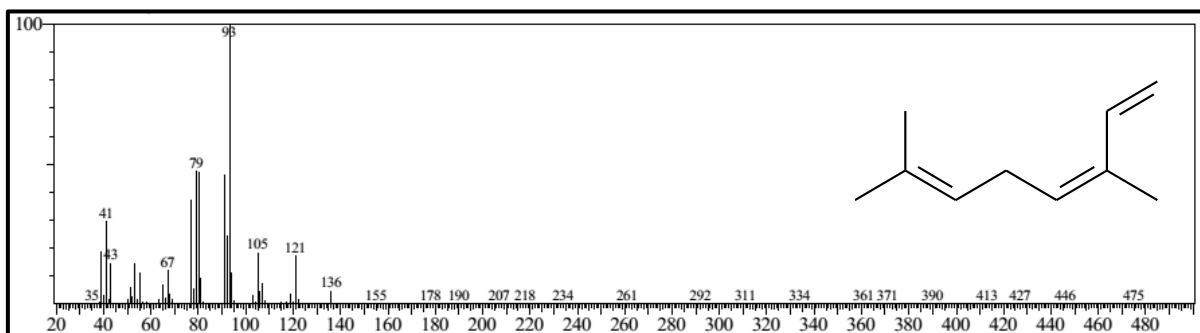
As figuras 11-21 apresentam os espectros de massas dos constituintes químicos voláteis identificados no presente trabalho, com suas respectivas estruturas.

Figura 11 - Espectro de massas do α -pineno

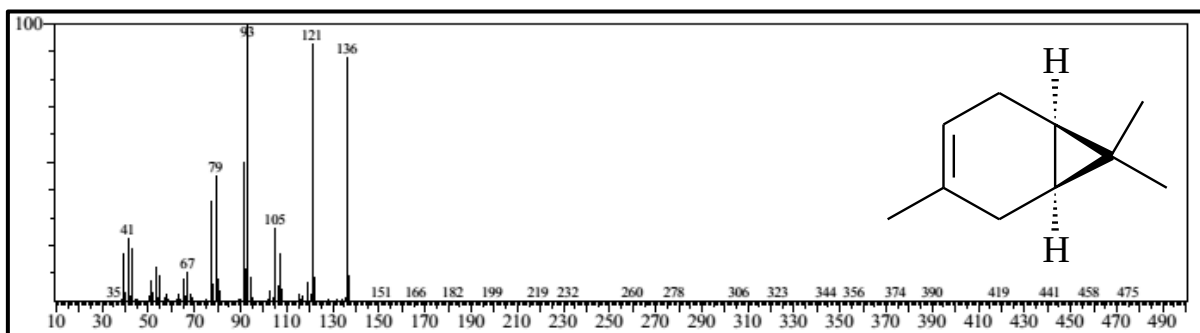
Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 12 - Espectro de massas do (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano

Fonte: Autoria Própria, (2017).

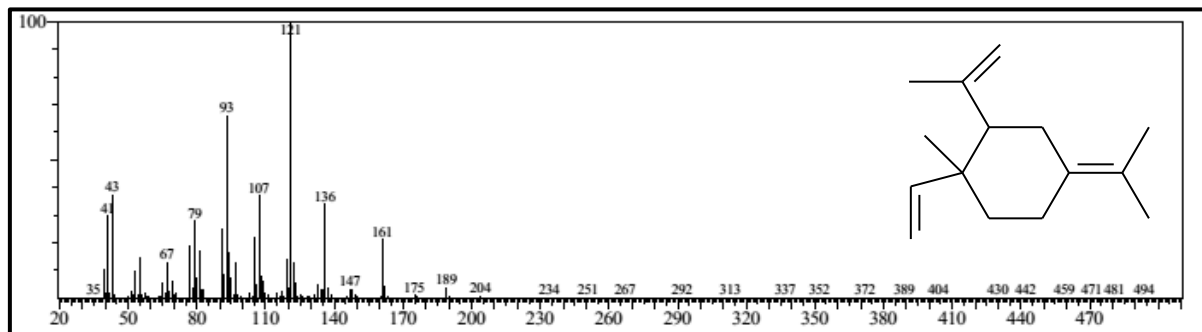
Figura 13 - Espectro de massas do (Z)-3,7-dimetil-oct-1,3,6-trieno

Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 14 - Espectro de massas do 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno

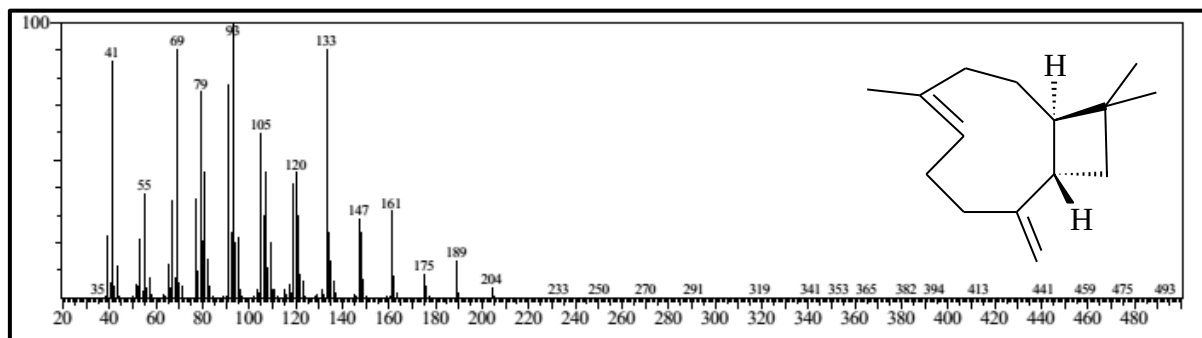
Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 15 - Espectro de massas do 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-ciclohexano



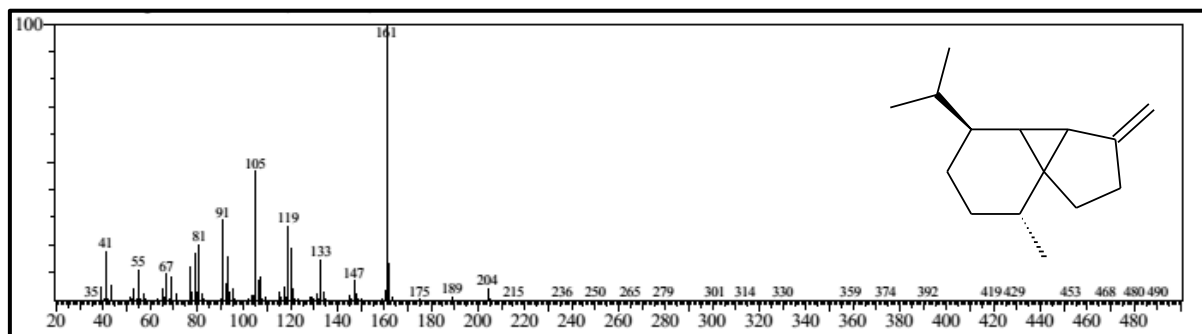
Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 16 - Espectro de massas do cariofileno



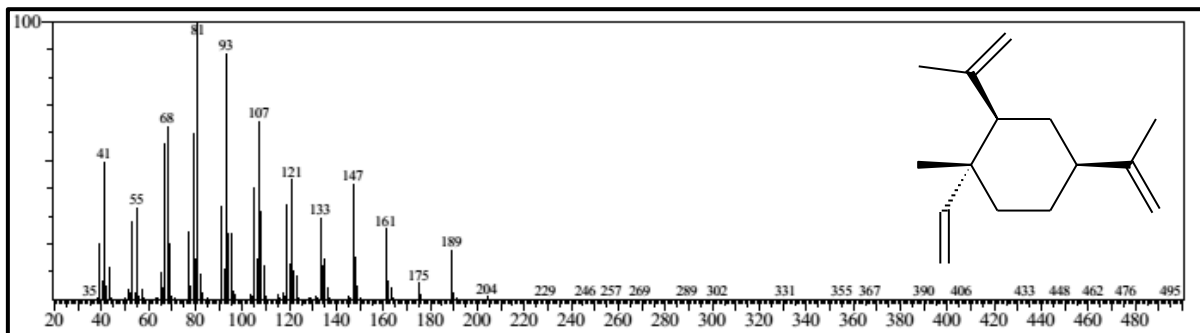
Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 17 - Espectro de massas do [3aS-(3a.α.,3b.β.,4.β.,7.α.,7aS*octahidro-7-metil-3-metileno-4-(1-metiletil)- 1H-ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno



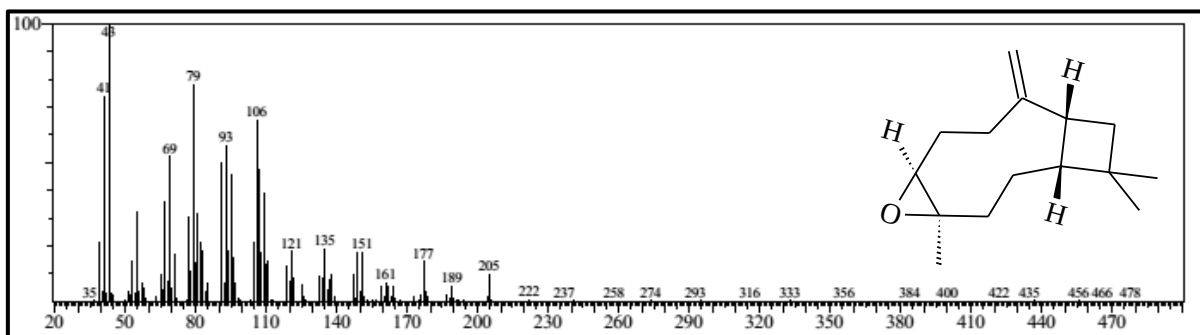
Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 18 - Espectro de massas do [1S-(1.α.,2.β.,4.β.)]-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-ciclohexano



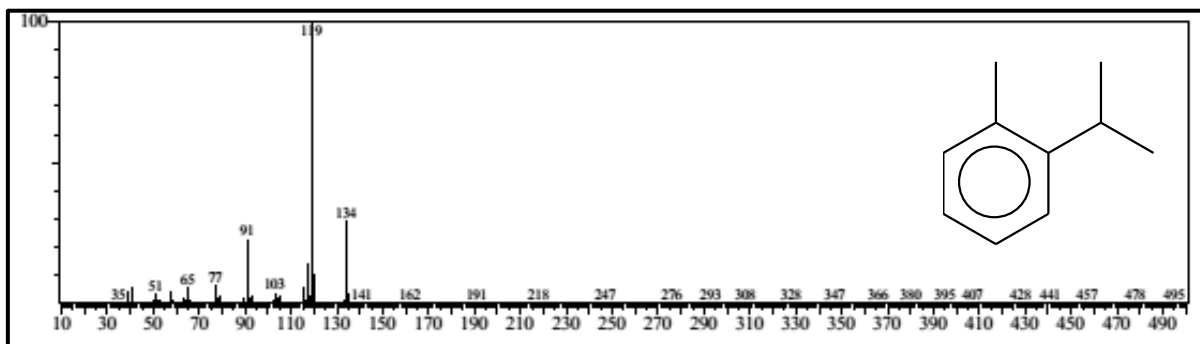
Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 19 - Espectro de massas do óxido de cariofileno

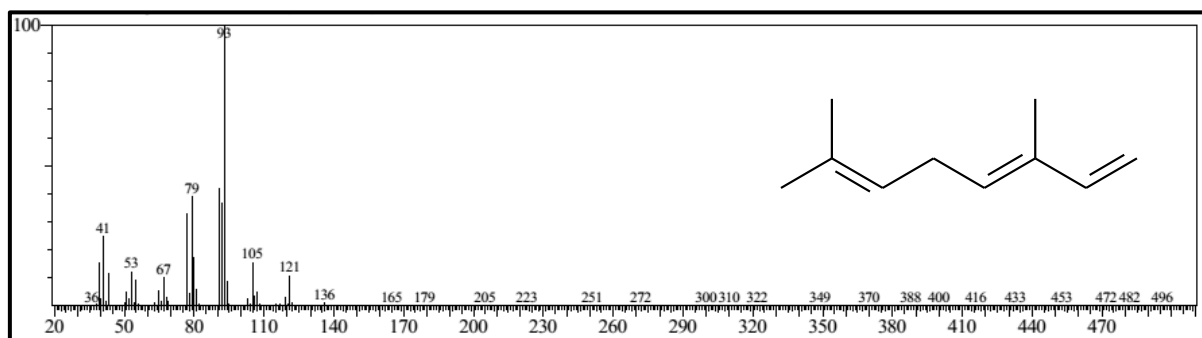


Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 20 - Espectro de massas do 1-metil-2-(1-metiletil)-benzeno



Fonte: Autoria Própria, (2017).

Figura 21 - Espectro de massas do (E)-3,7-dimetil-oct-1,3,6-trieno

Fonte: Autoria Própria, (2017).

5.2.5 Comparação dos óleos essenciais e seus constituintes obtidos a partir das folhas da espécie *E. punicifolia*

Com base nas análises dos óleos essenciais extraídos para o estudo do ciclo circadiano, ficou evidente que há variação dos metabólitos voláteis e seus teores. Alguns metabólitos secundários foram identificados em apenas um determinado horário de coleta, como é apresentado na Tabela 05.

Dentre os componentes voláteis que foram identificados apenas em um dos horários de coleta, observa-se que estes são produzidos em pequenas quantidades, sendo em sua grande maioria encontrado em concentrações menores que 3%, com exceção do composto 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno (FIGURA 14) que foi um dos constituintes majoritários com teor de 4,50% de seu respectivo horário (8h).

Tabela 08 - Metabólitos voláteis identificados em único horário de coleta

Horário	Compostos químicos	%
8 horas	α -felandreno	1,50%
	3-careno	0,26%
	(+)-4-careno	0,23%
	1-metil-4-(1-metiletil) ciclohex-1,4-dieno	0,76%
	3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno	4,50%
	[1S-(1. α .,4. α .,7. α .)]-1,2,3,4,5,6,7,8-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-azuleno	0,78%
	(-)-globulol	2,28%
	[1R-(1. α .,4a. β .,8a. α .)]-decahidro-1,4a-dimetil-7-(1-metiletilideno)-1-naftalenol	0,13%

12 horas	[s-(E,E)]-1-metil-5-metileno-8-(1-metiletil)- 1,6-ciclodecadieno	1,96%
	β -humuleno	2,52%
16 horas	hexanal	0,26%
	trans-Hex-2-enal, dietil acetal	0,19%
	α -cubebeno	0,18%
	[1aR(1a. α .,4. β .4a. β .,7. α .,7a. β .,7b. α .)]-decahidro-1,1,4,7-tetrametil-4aH-cicloprop[e]azulen-4a-ol	0,96%
	ledol	0,77%

Fonte: Autoria Própria, (2017).

Em conformidade com as análises dos dados, notou-se a presença de dois metabólitos voláteis majoritários em comum nas três coletas, o (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano e cariofileno. Sendo que os metabólitos secundários (Z)-3,7-dimetil-oct-1,3,6-trieno e 3,7,7-trimetil-biciclo[4.1.0]hept-2-eno, demonstraram maiores quantidades na coleta de 8h em relação aos outros horários.

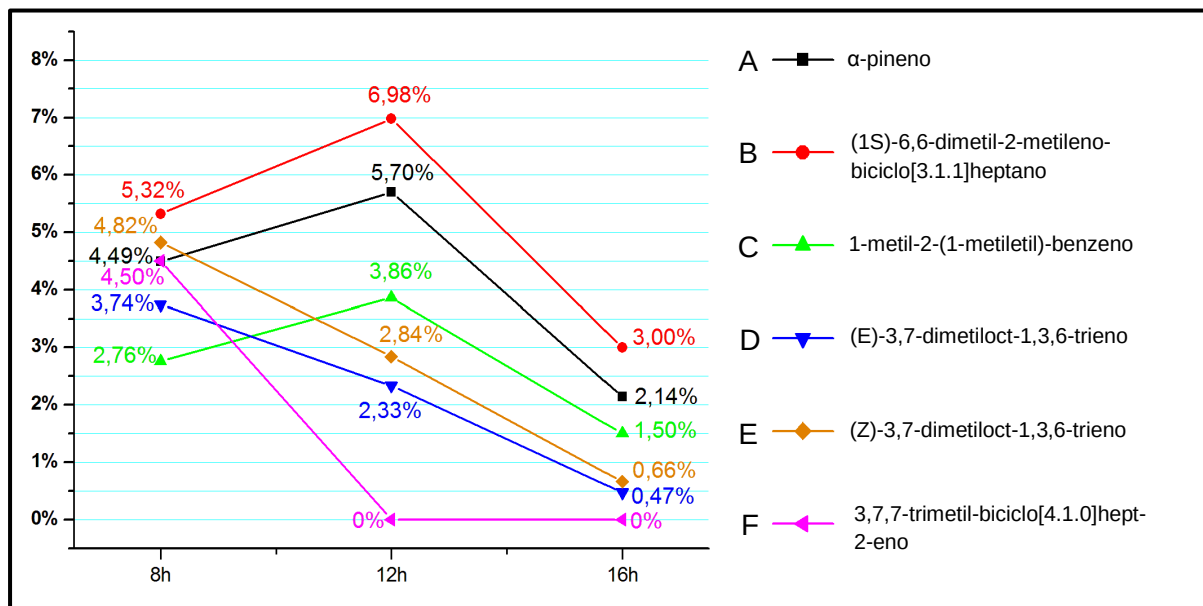
No horário de 12h em comparação com os outros horários, foi encontrado em maiores concentrações os compostos, α -pineno, (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano, cariofileno e óxido de cariofileno.

Já o 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-ciclohexano, [1S-(1. α .,2. β .,4. β .)]-1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-ciclohexano e [3aS-(3a. α .,3b. β .,4. β .,7. α .,7aS*)octahidro-7-metil-3-metileno-4-(1-metiletil)-1H-ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benzeno, mostraram maiores teores no último horário de coleta do dia (16h).

Essas variações podem ser comparadas aos estudos de Blank et al., (2005), Do Nascimento et al., (2006) e Pereira (2017) que apresentaram diferenças na composição química dos óleos em diferentes horários de coleta. Com enfoque na pesquisa realizada por Pereira (2017), na qual avaliou a composição química do óleo essencial da espécie *Croton blanchetianus*, pequena parte de 79 compostos identificados foram encontrados somente no último horário de coleta do estudo (16 H), alguns metabólitos presentes exclusivamente neste horário foram, β -pineno, α -terpineno, α -canfolenal, felandranal e fitol, a maioria com teores inferiores a 1%.

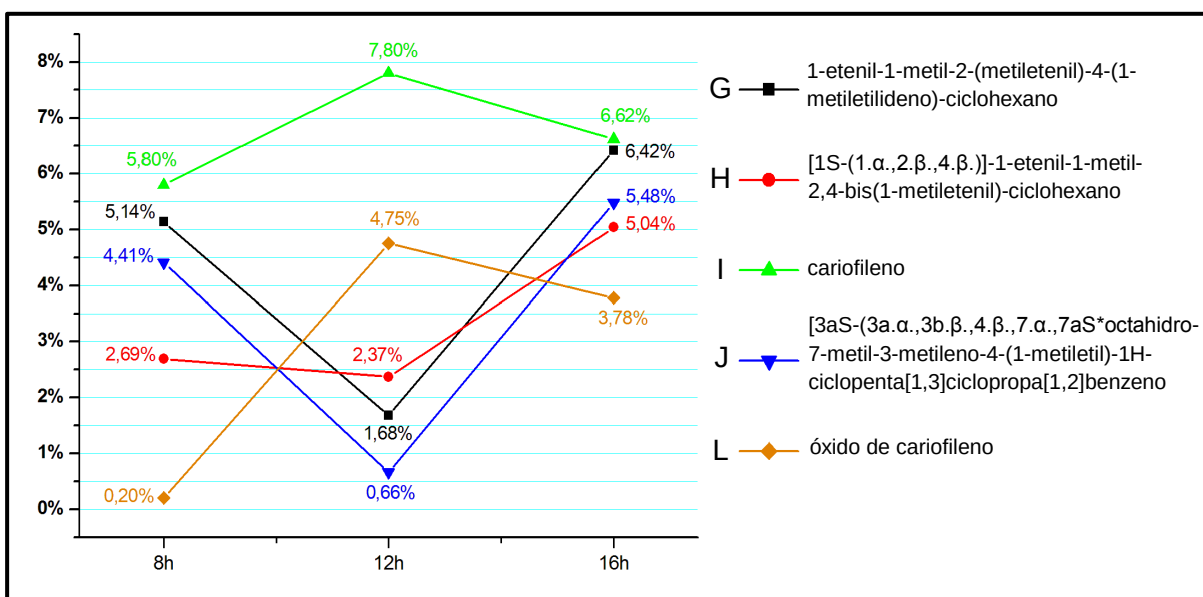
No gráfico 01 e 02 é explanada a variação percentual dos metabólitos majoritários conforme seus respectivos horários de coleta.

Gráfico 01 - Variação dos metabólitos voláteis majoritários identificados nos três horários de coleta.



Fonte: Autoria Própria, (2017).

Gráfico 02 - Variação dos metabólitos voláteis majoritários identificados nos três horários de coleta (continuação).



Fonte: Autoria Própria, (2017).

5.2.6 Comparação dos compostos identificados nos óleos essenciais obtidos das folhas da espécie *E. punicifolia* com a literatura

Na literatura são encontrados trabalhos sobre estudos do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* nos quais constata a identificação de compostos como α-pineno, mirceno, α-felandreno e 3-careno (MAIA et al., 1997; RIBEIRO, 2016; FERNANDES,

2017), corroborando a presença desses constituintes voláteis com os resultados obtidos nesta pesquisa.

Na pesquisa de Maia et al., (1997), com a finalidade de comparar duas amostras de óleos essenciais extraídos das folhas da espécie *Eugenia punicifolia* coletadas em duas localidades do Amazonas, obteve como componentes majoritários o β -cariofileno (32,9% amostra A e 23,6% amostra B) com maior rendimento, γ -elemeno (7,9% amostra A e 5,3% amostra B), α -humulemo (5,4% amostra A e 4,6% amostra B) e δ -cadineno (4,5 amostra A e 6,0 amostra B). Alguns componentes identificados apresentaram rendimentos com variações significativas, por exemplo, o β -pineno que apresentou na amostra A 0,1% e na B apresentou 5,3%. Mediante a isto pode se comprovar que o local de coleta influencia tanto na composição, quanto no rendimento do óleo essencial.

Neste estudo circadiano realizado na cidade de Ilha Grande do Piauí a qual possui clima tropical, a espécie apresentou nas amostras coletadas nos três diferentes horários, variações em sua composição e nos teores dos metabólitos secundários. Porém em seus componentes majoritários se encontra α -pineno com teor de 5,70% corroborando com estudos de Ribeiro (2016) e Fernandes (2017), os quais também apresentaram o metabólito α -pineno como um dos compostos majoritários, como descrito na página 30 deste trabalho.

Sobre estudo circadiano do óleo essencial da espécie analisada, não há registro na literatura. Nas pesquisas realizadas aqui comentadas, foi possível perceber componentes voláteis semelhantes entre elas. O α -pineno mostrou presença na maioria das pesquisas, porém há substâncias que diferiram extremamente das obtidas neste estudo, como 1,8-cineol, α -terpineol, limoneno (RIBEIRO, 2016 e FERNANDES, 2017) e linalool (OLIVEIRA; DIAS; CÂMARA, 2005).

Essas variações identificadas podem ser explicadas por Doan, Ervin e Felton (2004), Gobbo-Neto & Lopes (2007) e De Moraes (2009). Pois em seus trabalhos afirmam que há diversos fatores que podem influenciar diretamente na composição qualitativa e quantitativa dos óleos essenciais, fatores esses já relatados anteriormente como, época de coleta, horário de coleta, disponibilidade hídrica, localização, idade da espécie, métodos de análise entre outros.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais das folhas da espécie *E. puniceifolia* obtidos durante o estudo circadiano, tiveram rendimentos com considerável variação, sendo o melhor rendimento obtido na coleta de 16:00h (0,087%). Os óleos extraídos apresentaram variações em seus constituintes químicos voláteis, sendo identificados 51 componentes na coleta de 08:00h, 44 componentes na coleta de 12:00h e 42 componentes na coleta de 16:00h, sendo identificados no total, 59 compostos diferentes nas três amostras de óleos essenciais extraídos das folhas da espécie estudada.

O estudo indicou a presença de dois metabólitos secundários que apresentaram teores majoritários em comum nos três horários, sendo o (1S)-6,6-dimetil-2-metileno-biciclo[3.1.1]heptano e cariofileno. Este último apresentou uma maior concentração percentual na coleta de 12h, em relação aos outros componentes majoritários, representando a maior proporção de todos os horários com 7,80%.

Mediante as observações e análises dos constituintes de cada amostra, concluiu-se que o horário de coleta influenciou significativamente na composição e nos rendimentos do óleo essencial da espécie estudada, sendo que outros fatores também podem ser considerados como a temperatura, radiação e ventos fortes.

Este estudo é importante, pois servirá como base para futuros pesquisadores que pretendam estudar atividades farmacológicas/biológicas como antifúngica, anti-inflamatória e a toxicidade da espécie.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. B; BRAGAGNOLO, N. Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 237-243, 2002.
- AMARAL, E. V. E. J. **Caracterização morfológica e identificação taxonômica de espécies de campomanesia ruiz & pavon (myrtaceae)**. 2012, 74 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Jataí, 2012.
- ARRUDA, L. F. M. R; DA COSTA, P. R. C. Efeito hipoglicemiante induzido pelo extrato aquoso das raízes de *Myrica citrifolia* (pedra-ume-cáa): estudo farmacológico preliminar. **Ciencia e cultura-Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia**, 1978.
- BASTING, R. T. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, n. 18 p. 257-267, 2014.
- BLANK, A. F. et al. Influência do horário de colheita e secagem de folhas no óleo essencial de Melissa (*Melissa officinalis* L.) cultivada em dois ambientes. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, n.1, p.73-78, 2005.
- COSTA, M. P. F; FERNANDES, L. D; PIMENTEL, R. R. Análise da anatomia floral da *Eugenia punicifolia* (HUMB. BONPL. & KUNTH) DC. **Saúde e Ambiente em Revista**, Ciências Biológicas – Ambiente, v. 5, n. 2, p. 12-17, 2011.
- CHAVES, F. C. M. **Produção de biomassa, rendimento e composição de óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) em função de adubação orgânica e épocas de corte**. 2002, 144 f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2002.
- CHIARADIA, M. C; COLLINS, C. H; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.
- CRAVEIRO, A. A; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Revista Química Nova**, v.16, n. 3, p. 224-228, 1993.
- CROTEAU, R; KUTCHAN, T. M; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). **Biochemistry and molecular biology of plants**, v. 24, p. 1250-1319, 2000.
- CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Ed. Civilização Brasileira, 2º ed., Rio de Janeiro- RJ, 599p. 1982.
- CRUZ, A. V. M; KAPLAN, M. A. C. Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil. **Floresta e ambiente**, v. 11, n. 1, p. 47-52, 2004.

CUNHA, L. L. T; DE LUCENA, E. M. P; BONILLA, O. H. Exigências Térmicas da Floração à Frutificação de Espécies de Myrtaceae em Ambiente de Restinga (Thermal Requirements of Flowering to Fruiting of Species of Myrtaceae in Restinga Environment). **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 9, n. 3, p. 707-721, 2016.

DOAN, A. T; ERVIN, G; FELTON, G. Temporal effects on jasmonate induction of anti-herbivore defense in *Physalis angulate*: seasonal and ontogenic gradients. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, n. 2, p. 117-126, 2004.

DO NASCIMENTO, I. B. et al. Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*Andropogum sp*). **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 123-127, 2006.

DE MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado n. 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP, 2009.

FERNANDES, Y. M. L. **Banco de Dados de Óleos Essenciais de espécies vegetais do Cerrado maranhense: Composição Química**. 2017, 92 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química Industrial) – Universidade Federal do Maranhão – Campus do Bacanga. 2017.

FLORACAMPUSIUEPB - UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – UFPB, Disponível em <http://floraufpbcampus1.blogspot.com.br/2017/06/myrtaceae-eugenia-punicifolia-kunth-dc.html>, acesso 31 de Janeiro de 2018.

FURLAN, A. M; MOTTA, L. B. Metabólitos secundários de origem vegetal e seus usos pelo homem. In: SANTOS, D. Y. A. C; CHOW, F; FURLAN, C. M. A. (Org.). **Ensino de Botânica - Curso de atualização de professores de Educação Básica: Botânica no cotidiano**. Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2008. p. 45-49.

GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4ª ed. São Paulo: Atlas, 2008.

GOBBO-NETTO, L; LOPES, N. P. Medicinal plants: Factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRANJEIRO, M. S. et al. Pharmacological effects of *Eugenia punicifolia* (Myrtaceae) in cholinergic nicotinic neurotransmission. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n. 1, p. 26–30, 2006.

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p.1-93, 2006.

GUZZI, A. **Biodiversidade do Delta do Parnaíba – Litoral Piauiense**. Parnaíba: EDUFPI, 2012.

LEITE, P. E. C. et al. Anti-inflammatory activity of *Eugenia punicifolia* extract on muscular lesion of MDX dystrophic mice. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 111, n. 6, p. 1652–1660, 2010.

LIMA NETO, S. M. **Óleos essenciais: metodologia de obtenção e análise, variabilidade e aplicações**. 2014. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Parnaíba-PI, 2014.

LIMA, D. F; GOLDENBERG, R; SOBRAL, M. The genus *Campomanesia* (Myrtaceae) in the state of Paraná, Brazil. **Rodriguésia**. v. 62. n. 3, p. 683-693, 2011.

LUCAS, E. J. et al. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v. 56, n. 4, p. 1105-1128, 2007.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. 2007. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 2007.

MACHADO, B. F. M. T; JUNIOR, A. F. Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MAGINA, M. D. A. **Estudo fitoquímico e biológico de espécies do gênero *Eugenia***. 2008, 178 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Florianópolis. 2008.

MAIA, J. G. S; ZOGHBI, M. G. B; LUZ, A. I. R. Essential Oil of *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, n. 3, p. 337-338, 1997.

MARTINS, F. M. M. **Estudo da Influência de Fatores Ambientais nas Atividades Biológicas de *Xylopia Sericea* St. Hill**. 2012, 88 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus. 2012.

MARTINS, J. E. C; Plantas medicinais de uso na Amazônia. Ed. Cultural- CEJUP, 2º ed., Belém-PA, p. 88-89. 1989.

MENDES, M. S. S. **Estudo circadiano do óleo essencial das folhas de *Caesalpinia Pyramidalis* Tul do Município de Parnaíba-PI**. 2016. 53 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – Campus Parnaíba. 2016.

MONTANARI, R. **Composição química e atividades biológicas dos óleos essenciais de espécies de *Anarcadiceae*, *Siparunaceae* e *Verbenaceae***. 2010, 159 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.

NAIK, J. P. Improved high-performance liquid chromatography method to determine theobromine and caffeine in cocoa and cocoa products. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 3579-3583, 2001.

NUNES, X. P. et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Sida cordifolia* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 642-644, 2006.

OLINDA, M. E.; OLIVEIRA, W. P. Comparação dos métodos extração de óleo essencial de arraste a vapor e hidrodestilação utilizando casca de manga nos estados de desidratação e in natura. In: **VII CONNEPI-Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**. 2012.

OLIVEIRA, R. N.; DIAS, I. J. M.; CÂMARA, C. A. G. Comparative study of the essential oil of *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. from diferent places of Pernambuco. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, n. 1, p. 39-43, 2005.

PEREIRA, B. P. V. **Estudo dos constituintes químicos do óleo essencial de *Croton blanchetianus* presentes no povoado olho d'água no município de Parnaíba-PI**. 2017, 51 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Instituto Federal do Piauí – Campus Parnaíba, 2017.

PINTO, A. C. et al. Produtos Naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Química nova*, p.45-61, 2002.

RAMOS, M. F. S. et al. Essential oils from myrtaceae species of the Brazilian Southeastern maritime forest (Restinga). **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 2, p. 109-113, 2010.

RIBEIRO, E. C. G. **Atividade moluscicida de óleos essenciais de plantas aromáticas da região Amazônica maranhense**. 2016. 89 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2016.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, p. 30-32, 2007.

SALES, D. S. et al. *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. as an Adjuvant Treatment for Type-2 Diabetes Mellitus: A non-Controlled, Pilot Study. **Phytotherapy Reseach**, v. 28, n. 12, p. 1816-1821, 2014.

SANTOS, R. V. **Estudo circadiano do óleo essencial das folhas de Neem (*Azadirachta indica*) do Município de Parnaíba-PI**. 2015. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – Campus Parnaíba. 2015.

SENRA, T. V. **Ocorrência da broca (Coleoptera: curculionidae) em frutos de *Eugenia punicifolia* (kunth) DC. (Pedra-umecaá) em uma área experimental da EMBRAPA Amazônia Ocidental**. 2012. 43 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.

SILVA, C. M. A. **Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de pernambuco – uma inovação no controle de fitopatógenos**. 2014. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Bioquímica e Fisiologia. Recife, 2014.

SILVA, F. et al. Teor e composição do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, n.1, p. 33-38, 2003.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In. SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2ª ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, cap. 18, p. 387-416, 1999.

SIMÕES, C. M. O; et al. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, Florianópolis, 2007.

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

SOARES-SILVA, L. H. **A família Myrtaceae – subtribos: Myrciinae e Eugeniinae na Bacia Hidrográfica do Rio Tibagi, Estado do Paraná, Brasil**. 2000. 476 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia, 2000.

SOBRAL, M. et al. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>. Acesso em 16-09-2017.

SOBRAL, M. et al. Thirteen new Myrtaceae from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v. 224, n. 3, p. 201-231, 2015.

SOBRAL, M.; SPICHIGER, R. La sinonimia de *Eugenia puniceifolia* (Kunth) DC. (Myrtaceae). **Notulae ad Floram paraquaiensem**, p. 11-13, 1987.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Instituto Plantarum. Nova Odessa, São Paulo. 2005.

SOUZA, F.C.F. et al. Plantas Mediciniais e seus constituintes bioativos: uma revisão da bioatividade e potenciais benéficos nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 642-654, 2008.

TONHI, E. et al. Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 616-623, 2002.

VEIGA-JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

VIEIRA, F. C. S. **Myrtaceae Juss. no Alto Quiriri, Garuva, Santa Catarina, Brasil**. 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo: USP. Departamento de Botânica, 2010.

WILSON, P.G. et al. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 11, p. 2013-2015, 2001.