



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DO ÓLEO  
ESSENCIAL DE SEIS ACESSOS DE  
HORTELANZINHO (*Mentha spp*).**

**ÉRICA NEIVA PRAÇA ADJUTO**

***DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS***

**BRASÍLIA/DF**

**JUNHO/2008**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEIS  
ACESSOS DE HORTELANZINHO (*Mentha spp*).**

**ÉRICA NEIVA PRAÇA ADJUTO**

**ORIENTADOR: JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS**

**CO-ORIENTADOR: ROBERTO FONTES VIEIRA**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**PUBLICAÇÃO:**

**BRASÍLIA/DF**

**JUNHO DE 2008**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

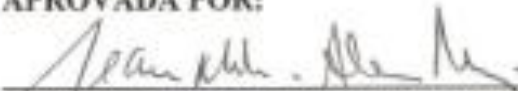
**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DO ÓLEO ESSENCIAL  
DE SEIS ACESSOS DE HORTELANZINHO (*Mentha* SPP).**

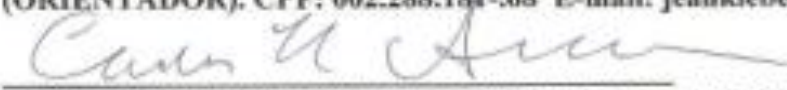
ERICA NEIVA PRAÇA ADJUTO

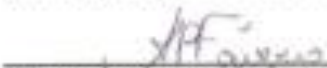
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À FACULDADE DE  
AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE DE  
BRASÍLIA, COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO  
DO GRAU DE MESTRE PRODUÇÃO VEGETAL.

CO-ORIENTADOR: ROBERTO FONTES VIEIRA

APROVADA POR:

  
JEAN KLEBER DE ABREU MATTOS, DR.(UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)  
(ORIENTADOR). CPF: 002.288.184-68 E-mail: jeankleber@yahoo.com.br

  
CARLOS ROBERTO SPEHAR, DR.(UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA)  
(EXAMINADOR INTERNO). CPF:122.262.116-91 E-mail: spehar@unb.br

  
ALESSANDRA PEREIRA FÁVERO, DR. (EMBRAPA RECURSOS  
GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA)  
(EXAMINADOR EXTERNO). CPF:181.132.858-06 E-mail:  
favero@cenargen.embrapa.br

BRASÍLIA/DF, 27 de JUNHO de 2008

## FICHA CATALOGRÁFICA :

Adjuto, Erica Neiva Praça  
Caracterização morfológica e do óleo essencial de seis acessos de hortelanzinho (*Mentha* spp). / Erica Neiva Praça Adjuto; orientação de Jean Kleber de Abreu Mattos. – Brasília, 2008.  
79 p. : il.  
Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.  
1. Morfologia. 2. *Mentha*. 3. Melhoramento. 4. Aromáticos. I. Mattos, J. K. A.. II. Dr.

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ADJUTO E. N. P. Caracterização morfológica e do óleo essencial de seis acessos de hortelãzinho (*Mentha* spp). Brasília-DF: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2008, 79 p. Dissertação de Mestrado.

## CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: ERICA NEIVA PRAÇA ADJUTO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEIS ACESSOS DE HORTELANZINHO (*Mentha* spp).

GRAU: Mestre ANO: 2008

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

(Assinatura)

---

ERICA NEIVA PRAÇA ADJUTO

995.177.951-49

Brasília/DF - Brasil

erica.adjuto@gmail.com

Dedico este trabalho a todos que  
fizeram parte desta fase em minha vida.



## AGRADECIMENTO

Agradeço à Deus por me oferecer esta oportunidade e a ajuda necessário para trilhar este caminho.

À Universidade de Brasília e ao programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade de realização do curso.

Ao Professor Dr. Jean Kleber de Abreu Mattos e ao Dr. Roberto Fontes Vieira pela orientação e co-orientação, disposição para ajudar, paciência, amizade e compreensão.

À Professora Dr. Dalva Graciano Ribeiro e ao Mestre Dijalma Barbosa da Silva, pela ajuda e contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao pesquisador Humberto Ribeiro Bizzo da Embrapa Agroindústria de Alimentos por colaborar na realização das análises.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Produção vegetal por todo conhecimento transmitido. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes - pelo suporte financeiro.

A bolsista Kelly Damares pela paciência e auxílio na realização dos experimentos. Aos funcionários do Laboratório de Anatomia e do Laboratório da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pelo auxílio.

Aos meus Irmãos Raphael e Ricardo e minha Tia Scheilla pelo companheirismo e disposição em me ajudar na realização dos experimentos.

Aos meus pais e familiares que sempre me ajudaram com seus conselhos e força para concluir este trabalho.

Obrigada hoje e sempre.

“Acredite no dia de amanhã, mas comece agora.  
Quando o amanhã vier, você terá se modificado para melhor”  
Lourival Lopes



## ÍNDICE GERAL

<b>Capítulos/ Sub-capítulos</b>	<b>Página</b>
RESUMO GERAL	
GENERAL ABSTRACT	
INTRODUÇÃO GERAL	01
OBJETIVOS	03
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	04
<b>Capítulo I</b>	<b>05</b>
<b>CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE SEIS ACESSOS DE</b>	
<b>HORTELÃ COMERCIALIZADOS EM FEIRAS</b>	
Resumo	05
Abstract	05
INTRODUÇÃO	06
OBJETIVOS	06
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	07
Origem e Botânica	07
Gênero <i>Mentha</i>	07
<i>Mentha x villosa</i> Huds.	08
<i>Mentha spicata</i> L	09
<i>Mentha suaveolens</i>	09
Anatomia das células produtoras de óleo essencial	10
Uso e Importância	12
Multiplicação e cultivo	13
MATERIAL E MÉTODO	15
Cultivo do Material	15
Caracteres Morfológicos	15
Caracteres Anatômicos	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
Caracteres Morfológicos	19
Caracteres Anatômicos	25
CONCLUSÃO	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

<b>Capítulo 2</b>	37
<b>ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEIS ACESSOS DE HORTELÃ COMERCIALIZADOS EM FEIRAS</b>	
Resumo	37
Abstract	37
INTRODUÇÃO	38
OBJETIVO	38
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	39
Óleos essenciais	39
Biossíntese dos compostos do óleo essencial	39
Nomenclatura	42
Limoneno	43
Carvona	44
1,8 cineol	45
Óxido de piperitenona	45
Germacreno D	46
Função dos óleos essenciais	46
Utilização dos óleos essenciais	47
Histórico da utilização dos óleos essenciais	47
Utilização do óleo de Mentha	49
Extração de óleos essenciais	50
Destilação por arraste de vapor	50
Hidrodestilação	51
Extração com solventes	51
Fluido supercrítico	52
Análise da composição química dos óleos essenciais	53
MATERIAL E MÉTODO	54
Coleta do Material	54
Extração do óleo essencial	54
Análise dos dados	54
Rendimento de óleo essencial	54
Cromatografia Gasosa – CG	54
Identificação dos constituintes	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
Rendimento de óleo essencial	59
Análise do óleo essencial	62
CONCLUSÃO	72
CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

## ÍNDICE DE TABELAS E GRÁFICOS

<b>Tabelas</b>		<b>Página</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>		
Tabela 1.1. Médias da Área do Limbo Foliar, do Índice de Afilamento e Tamanho do Pecíolo de oito acessos de hortelãzinho da coleção da Embrapa-Cenargen.		19
Tabela 1.2. Índices de Rugosidade, Pilosidade e Cor Púrpura de seis acessos de hortelãzinho em cultivo protegido do tipo <i>glasshouse</i> em Brasília.		20
<b>CAPÍTULO 2</b>		
Tabela 2.1 Médias fresca da parte aérea (MFPA), média seca da parte aérea (MSPA), média seca das folhas (MSF), Média de óleo (MO) e rendimento do óleo essencial (RO), de seis acessos de <i>Mentha spp</i>		60
Tabela 2.2. Principais componentes aromáticos e a correspondente percentagem no óleo essencial, encontrados em grupo de acessos de <i>Mentha</i> cultivados em Brasília-DF		62
Tabela 2.3 . Perfil aromático do óleo essencial de espécies do gênero <i>Mentha</i> cultivadas no Distrito Federal.		70

## ÍNDICE DE FIGURA

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
<b>CAPÍTULO 1</b>	
Figura 1.1. Tricomas glandulares em tecidos foliares de <i>Mentha</i>	11
Figura 1.2. Componentes de tricoma glandular em <i>Mentha x piperita</i> (Fonte: TURNER & CROTEAU, 2004).	11
Figura 1.3: Mini estufas para produção de mudas de mentha (A) e (B). Mudanças após uma semana de plantio (C) e após duas semanas de plantio (D).	17
Figura 1.4: Multiplicação das mudas de hortelã em outubro.	18
Figura 1.5: Análise do comprimento e da largura do limbo foliar de dois pares de folhas de cada planta de <i>Mentha</i> .	18
Figura 1.6: Características morfológicas das folhas de <i>Mentha</i> (frente)	22
Figura 1.7: Características morfológicas das folhas de <i>Mentha</i> (costas)	22
Figura 1.8: Pilosidade, Rugosidade e presença da cor púrpura nos acessos de <i>Mentha</i> (frente)	23
Figura 1.9: Pilosidade, Rugosidade e presença da cor púrpura nos acessos de <i>Mentha</i> (costas)	24
Figura 1.10: Corte transversal do acesso 28 ( <i>Mentha</i> sp. x <i>M. Villosa</i> Huds.), sendo (A) lente 5x e (B) lente 10x : 1-tricoma tector; 2- epiderme; 3- parênquima paliçádico; 4- parênquima paliçádico; 5- tricoma peltado; 6- tricoma capitado.	26
Figura 1.11: Corte transversal do acesso 28 ( <i>Mentha</i> sp. x <i>M. Villosa</i> Huds.) lente 20x : 1- tricoma capitado; 2- tricoma peltado.	26
Figura 1.12: Corte transversal do acesso 29( <i>Mentha spicata</i> L.x <i>suaveolens.</i> ), sendo (A) lente 5x e (B) lente 10x : 1-tricoma peltado; 2- tricoma capitado; 3- epiderme; 4- parênquima lacunoso; 5- parênquima paliçádico.	27
Figura 1.13: Corte transversal do acesso 29( <i>Mentha spicata</i> L.x <i>suaveolens.</i> ), lente 20x : 1-tricoma capitado; 2 – tricoma peltado, sendo visível a cavidade de armazenamento do óleo e as células secretoras.	27
Figura 1.14: Corte transversal do acesso 35( <i>Mentha</i> sp.), lente 20x : 1- epiderme; 2- parênquima paliçádico; 3- parênquima lacunoso; 4- tricoma tector; 5- tricoma capitado; 6- tricoma peltado.	28
Figura 1.15: Corte transversal do acesso 64 ( <i>Mentha spicata</i> L.), sendo (A) lente 10x e (B) lente de 5x : 1- epiderme; 2- parênquima paliçádico; 3-	28

parênquima lacunoso; 4- tricoma peltado; 5- tricoma capitado.

Figura 1.16: Corte transversal do acesso 64 (*Mentha spicata* L.), lente 20x : 29  
1- tricoma peltado, sendo visível a cavidade de armazenamento do óleo e as células secretoras; 2 – tricoma capitado

Figura 1.17: Corte transversal do acesso 65 (**Mentha** sp. x *M. Villosa* Huds.), lente 20x : 29  
1- tricoma capitado; 2 – tricoma capitado; 3- colênquima; 4- xilema; 5- floema.

Figura 1.18: Corte transversal do acesso 72 (*Mentha spicata* L.), lente 20x : 30  
1- epiderme; 2- parênquima paliçádico; 3- parenquima lacunoso; 4- tricoma peltado.

Figura 1.19: Corte transversal do acesso 72 (*Mentha spicata* L.), lente 20x : 30  
1- tricoma capitado; 2- tricomas peltado.

## Figuras

### CAPÍTULO 2

## Página

Figura 2.1: Biossíntese dos principais metabólitos secundários de plantas de interesse para agricultura e medicina (adaptado de Taiz & Zeiger, 1998). 40

Figura 2.2: Biossíntese dos compostos a partir do precursor GPP. 41

Figura 2.3: Compostos formados a partir do GPP. 42

Figura 2.4: Estrutura química do Limoneno 43

Figura 2.5: Estrutura química dos isômeros ópticos (R e S) do Limoneno. 44

Figura 2.6: Estrutura química dos isômeros ópticos (R e S) da Carvona. 44

Figura 2.7: Estrutura química da Carvona 44

Figura 2.8: Estrutura química do 1,8 cineol. 45

Figura 2.9: Estrutura química do germacreno D 46

Figura 2.10: Massa verde dos seis acessos de *Mentha* com 100 dias. 56

Figura 2.11: Corte do material (A), transporte em sacos de papel devidamente identificado (B) e (C), pesagem para coleta de matéria fresca (D), secagem em estufa a 38°C (E) e retirada das folhas para extração de óleo essencial (F). 57

Figura 2.12: Extração por hidrodestilação (A), óleo obtido na extração (B), coleta (C) e (D), pesagem (E) e armazenagem do óleo local refrigerado (F).	58
Figura 2.13: Preparo do material para análise cromatográfica (A) e análise em cromatógrafo (B)	58
Figura 2.14: Acessos pertencentes ao Quimiotipo I rico em limoneno e carvona.	66/67
Figura 2.15: Acessos pertencentes ao Quimiotipo II rico em oxido de piperitenona e germacreno D.	68/69

## CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEIS ACESSOS DE HORTELANZINHO (*Mentha* spp.)

### RESUMO GERAL

No primeiro ensaio seis acessos de *Mentha* spp. foram multiplicados por estaquia em condições de estufa na Estação Experimental da UnB. Após o enraizamento, foram escolhidas as quatro melhores mudas por amostra, mantidas em vasos por 40 dias, sob rodízio de vasos. Foram medidos o comprimento do pecíolo e do limbo e a largura do limbo do 4º e do 5º par (a partir do ápice) por planta. Rugosidade, pilosidade e presença de antocianina no ramo foram avaliadas mediante nota. Os resultados compararam a área do limbo foliar, o índice de afilamento (comprimento:largura) e tamanho do pecíolo. As características morfológicas utilizadas possibilitaram o reconhecimento de tipos diferentes entre acessos de *Mentha*. Dois deles foram reconhecidos como e pertencentes à espécie *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé. Um acesso indica pertencer a uma forma intermediária entre *Mentha suaveolens* e *Mentha x villosa*, enquanto três deles se apresentaram como *Mentha x villosa*. No segundo ensaio os acessos foram analisados quanto à composição de substâncias aromáticas, rendimento em óleo essencial e biomassa fresca e seca. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelhos de Clevenger modificados. Para avaliação da composição dos óleos dos exemplares de *Mentha*, foi utilizado um cromatógrafo a gás Agilent 6890N em coluna capilar HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25µm). A temperatura do forno foi de 60° a 240°C a 3°C/min e o hidrogênio foi o gás carreador (1,4 ml/min). Foram injetados 0,05µm de óleo puro no modo split (1: 100, injetor a 250°C). A análise comparativa do perfil de substâncias aromáticas em grupos afins de *Mentha x villosa* Huds, sob cultivo protegido em Brasília, confirma resultados anteriores descrevendo inter-fertilidade das espécies *M. spicata*, *Mentha suaveolens* e *Mentha x villosa*, mediante a detecção de tipos intermediários de caracteres de morfologia e composição de aromáticos.

## MORFOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF SIX ACCESSIONS Of *Mentha* spp.

### GENERAL ABSTRACT

Six accessions of *Mentha* spp. were propagated by cuttings under glasshouse in the Biological Experimental Station of Universidade de Brasília. After rooting, the four best performing plants were chosen for cultivation, during forty days. The length and the diameter of foliar sheet (two pairs of leaves the 4th and the 5th from the top) were measured as well as the length of the petiole. Blade color as well as pubescence density were recorded. The accessions compared were by leaf sheet area, the length: diameter and the petiole size. The morphological characteristics made possible to recognize different forms of *Mentha* spp. Two accessions are regarded *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé and one is probably an intermediate form of *Mentha suaveolens* and *Mentha x villosa*. Only three accessions were recognized as typical *Mentha x villosa*. Six accessions of *Mentha* aff. *villosa* were analyzed for aromatic substances, yield of essential oil (EO), fresh weight and dry weight of leaves and aerial parts. The EO was extracted by hydro-distillation with modified Clevenger device. The chromatography was done by Agilent 6890N with capilar column HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25µm). The oven temperature was 60° a 240°C a 3°C/min and the hydrogen was the gas (1,4 ml/min), and 0,05µm of pure oil were injected in the split (1: 100, injector at 250°C). The comparative analysis of the accessions close to *Mentha x villosa* Huds under glasshouse in Brasília confirmed the inter-fertility between the species *M. spicata*, *Mentha suaveolens* e *Mentha x villosa* by the detection of intermediate forms based on the morphology and the rate of aromatic substances.



## Introdução Geral

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico em comunidades e grupos étnicos. O uso de plantas no tratamento e na cura de enfermidades é tão antigo quanto a espécie humana (Maciel, 2002). Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (Maciel, 2002).

A retomada ao uso oficial de plantas medicinais teve como marco importante, além da declaração de Alma Ata, a reunião realizada em 1977 pela Organização Mundial da Saúde, que resultou na Declaração de Chiang Mai, tendo como máxima: “Salvem plantas que salvam vidas” (MAPA, 2006).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos. Dessa forma, usuários de plantas medicinais de todo o mundo, mantêm a prática do consumo de fitoterápicos, tornando válidas informações terapêuticas acumuladas durante séculos. De maneira indireta, este tipo de cultura medicinal desperta o interesse de pesquisadores em estudos envolvendo áreas multidisciplinares, como por exemplo botânica, farmacologia e fitoquímica, que juntas enriquecem os conhecimentos sobre a inesgotável fonte medicinal natural: a flora mundial. (Maciel, 2002).

Uma das plantas mais conhecidas da medicina popular e que sempre atraiu interesse de pesquisadores e produtores é a menta. O Brasil, seguido pelo Paraguai, foi um dos principais produtores mundiais de *Mentha spp.* Após a Segunda Guerra Mundial, perdeu a posição para a República Popular da China, no início da década de 1980 (Singh *et al.*, 2003). Entretanto, na década de 1990, a Índia tomou a posição da China, sendo até o momento o maior produtor mundial de óleo de menta (Kothari, 2005).

Com sabor e aroma refrescantes, as mentas ou hortelãs destacam-se pelo uso culinário ou em chás medicinais, para combater parasitas intestinais e distúrbios

digestivos (Lorenzi & Matos, 2002). As glândulas oleíferas, principalmente das folhas, concentram óleos voláteis ricos em terpenóides de amplo interesse industrial.

Os óleos essenciais das mentas e seus componentes são amplamente empregados em produtos aromatizantes de uso oral, tais como cremes dentais, antisépticos bucais, antiácidos, pastilhas refrescantes, gomas de mascar, licores, aditivos para cremes alimentícios e em cigarros (Mosciano, 2005). Também servem à confecção de sabonetes, loções, cremes de barbear, perfumes e medicamentos.

Sua ampla aplicação explica porque a menta é a terceira preferência mundial como flavorizante, superada somente pelas essências de baunilha e de *Citrus*.

O óleo de menta, na Índia e China, custa 10 dólares o litro; no Brasil varia de 10 a 30 dólares o litro, sendo geralmente comercializado por 50-60 reais o litro. A produção mundial de óleo de menta, é estimada em 20.000 toneladas. Índia, China, Brasil, Japão, França e Estados Unidos são os maiores produtores mundiais do óleo essencial de menta, sendo que a Índia contribui com 70% do volume desta produção (Srivastava *et al.*, 2002).

A produção mundial anual de óleos essenciais de trinta espécies aromáticas é estimada em 110.000 a 120.000 toneladas (Khotari, 2005) e, desta quantidade, 22.200 toneladas vêm de espécies de *Mentha* como: *M. arvensis* (16.000), *M. x piperita* (4.000), *M. spicata* (2.000) e outras (200) (Sant Sanganeria, 2005). Esses óleos são amplamente usados na indústria de alimentos, medicamentos, aromatizantes e fragrâncias.

Segundo dados do Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior (MDIC), a participação brasileira no cenário das exportações mundiais cresceu de 0,97% em 2003, para 1,06% em 2004. No ano de 2005, a balança comercial do Brasil registrou, no período de janeiro a outubro, para o mercado de óleos essenciais os valores de US\$ 80.006 em exportação e US\$ 30.266 para a importação. Os principais óleos exportados foram: óleo de laranja (51,00%), subprodutos terpênicos (29,40%), óleo de essência de limão (4,30%), solução aquosa de óleos essenciais (2,94%) e óleo essencial de pau-rosa (2,64%). Os mercados destinados à exportação de óleos essenciais brasileiros foram EUA (40,25%), Países Baixos (11,23%), Reino Unido (6,15%), França (4,36%), Espanha (3,49%) e China (3,47%). Os principais estados brasileiros exportadores foram São Paulo (91,42%), Rio Grande de Sul (2,36%), Amazonas (1,19%), Minas Gerais (1,17%) e Sergipe (0,86%) (MDCT, 2006). Os principais óleos essenciais importados pelo Brasil, no período de janeiro a setembro de 2005, foram de

menta japonesa (13,00%), limão (12,30%), outros cítricos (8,17%) e menta “spearmint” (7,00%). As principais origens desses óleos foram a França (23,55%), o EUA (12,47%), o Paraguai (11,84%), a Argentina (9,42%) e o Vietnã (4,18%) (Oliveira, 2006).

As mentas são plantas muito exigentes em fertilidade e irrigação, sendo o manejo nutricional determinante na obtenção de matéria-prima de qualidade. O ambiente favorável das estufas e a nutrição eficiente das plantas proporcionam crescimento mais rápido, encurtando o ciclo produtivo e aumentando a produtividade. O manejo dos nutrientes é fundamental para o balanço entre alto crescimento de biomassa e produção de óleo essencial em *Mentha* (Brown *et al.*, 2003).

A maioria das plantas medicinais comercializadas (seja in natura ou embalada) apresenta-se fora de padrões de qualidade. Portanto o produto utilizado pela população, brasileira não tem asseguradas suas propriedades terapêuticas e aromáticas preconizadas ou está contaminado por impurezas (terra, areia, dejetos animais, outras espécies vegetais e coliformes fecais). Porém, há consumidores que estão cada vez mais exigentes em relação à qualidade das plantas que adquirem. Para atender a estas exigências é necessário usar práticas agrícolas adequadas no cultivo, no beneficiamento e na armazenagem da produção (MAPA, 2006).

No caso das plantas medicinais, antes de partir para o cultivo propriamente dito, deve-se dar atenção a algumas particularidades como a correta identificação botânica e química da espécie a ser cultivada. Cita-se como exemplo, a *Mentha* muito comercializada em mercados e em feiras de forma fresca. Contudo a grande semelhança morfológica existente entre as espécies deste gênero leva ocasionalmente ao cultivo equivocado de plantas não pertencentes à espécie desejada. Estas plantas ao serem cultivadas, comercializadas e utilizadas na medicina popular, podem não promover os efeitos desejados ou, até mesmo, agravar o quadro de pacientes que recorrem à essa alternativa.

## OBJETIVOS

Caracterização morfológica e química de diferentes acessos de hortelã.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROWN, B. *et al.* **The critical role of nutrient management in mint production.** Better Crops, v.87, n.4, p.9-11, 2003.

KOTHARI, R. 2005. **The indian essential oil industry.** Perfumer and flavorist, v.30, p.46-50,

LORENZI, H. MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais no Brasil nativas e exóticas.** Ed. Instituto Plantarum, Nova odessa, 2002, p. 250-251.

MACIEL, M. A. M., PINTO A. C, VEIGA V. F, GRYNBERG, N. F, ECHEVARRIA, A. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** Química Nova 25: 429-438. 2002.

Manual para cultivo de plantas medicinais. MAPA, 2006

MOSCIANO, G. **Organoleptic characteristics of flavor materials.** Perfumer and Flavorist, v.30, n.4, p.52-6, 2005.

OLIVEIRA, R. A. G., LIMA, E. O., VIEIRA W. L., FREIRE, K. R. L., TRAJANO, V. N., LIMA, I. O., SOUZA, E. L., TOLEDO, M. S., SILVA-FILHO, R. N. **Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica.** Rev. bras. farmacogn. vol.16 no.1 João Pessoa Jan./Mar. 2006

SANGANERIA, S. Vibrant India. **Opportunities for the flavor and fragrance industry.** Perfumer and flavorist, v.30, p.24-34, 2005.

SRIVASTAVA, R.K. *et al.* **Characteristics of menthol mint *Mentha arvensis* cultivated on industrial scale in the Indo-Gangetic plains.** Industrial Crops and Products, v.5, p.189-98, 2002.

## **CAPÍTULO I:**

### **TÍTULO: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE SEIS ACESSOS DE HORTELÃ.**

#### **RESUMO**

Seis acessos de *Mentha aff. villosa* foram multiplicados por estaquia em condições de estufa na Estação Biológica da UnB. Após o enraizamento, foram selecionadas as quatro melhores mudas de cada amostra para o transplante. Depois de vegetarem por quatro dias, as plantas vegetaram por 40 dias, foram medidos o comprimento e a largura do limbo foliar do, o 4º. e do 5º par de folhas a partir do ápice, bem como do pecíolo. Em avaliações visuais foram avaliadas a rugosidade, a pilosidade e a presença da cor púrpura no ramo. Os experimentos compararam a área do limbo foliar, o índice de afilamento (comprimento:largura) e tamanho do pecíolo. As características morfológicas utilizadas possibilitaram o reconhecimento de tipos diferentes entre os prováveis acessos de *Mentha*. Dois deles foram reconhecidos como *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé. Enquanto outro foi reconhecido como forma intermediária de *Mentha suaveolens* e *Mentha x villosa*. Apenas três acessos foram reconhecidos como *Mentha x villosa*.

#### **MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SIX ACCESSIONS OF *Mentha* ssp.**

#### **ABSTRACT**

Six accessions of *Mentha aff. villosa* were propagated by cuttings under glasshouse in the Biological Experimental Station of Universidade de Brasília. After rooting the four best performing plants were selected and grown during forty days. The length and the width of foliar sheet (two pairs of leaves the 4th and the 5th from the top) were measured as well as the length of the petiole. The purple color as well as the pubescence and rugosity by visual grade were recorded (two referees). The results compared the leaf sheet area, the relation length:diameter and the petiole size. The morphological characteristics made possible to recognize different forms of *Mentha*. Two accesses are regarded as *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé one seems to be an intermediate form of *Mentha suaveolens* and *Mentha x villosa* and three accesses were recognized as typical *Mentha x villosa*.

## 1. Introdução

A correta identificação das espécies que pertencem ao gênero *Mentha* é uma tarefa muito complexa, até mesmo para especialistas. Essa confusão pode gerar problemas, sobretudo entre usuários das plantas *in natura*, que as cultivam ou compram para consumo próprio, em estabelecimentos comerciais dos mais variados tipos.

A hortelã-rasteira (*Mentha x villosa* Huds.) é uma espécie amplamente utilizada na culinária e na medicina popular, pelo sabor e odor que confere aos pratos e por suas muitas propriedades medicinais. Espécie de propagação exclusivamente vegetativa na região do D.F., é facilmente encontrada em estabelecimentos comerciais, dos mais simples (feiras e verdurões) aos mais sofisticados (hipermercados). Devido a sua semelhança com outras espécies do gênero *Mentha*, ela é passível de ser substituída nas gôndolas por outros tipos de hortelãs ou de mentas e, em se tratando de uso terapêutico, pode representar um tratamento menos eficaz ou, na pior das hipóteses, ser prejudicial ao usuário.

Apesar de ser multiplicada vegetativamente na região, existe variação dentro da espécie, tanto morfológica quanto bioquímica, entre acessos de diversas origens.

## 2. Objetivo

Descrever, comparativamente, a morfologia de diferentes acessos de *Mentha villosa* Huds espécie comercializada em feiras.

### 3. Revisão Bibliográfica

#### 3.1. Origem e Botânica

##### 3.1.1. Gênero *Mentha*

Menta é um dos nomes de planta mais antiga de que se tem conhecimento e vem da mitologia grega. Conta a história que Hades, deus do submundo, casado com Perséfone, tinha como amante a ninfa *Mentha*, até que Demeter, mãe da ciumenta Perséfone, descobre o caso e conta para a filha. Esta teria surrado *Mentha* ao ponto dela desintegrar-se, e de seus restos a deusa teria criado a planta de menta.

O gênero *Mentha* é conhecido desde a antiguidade pelos chineses, que já faziam apologia de suas propriedades calmantes e antiespasmódicas. Hipócrates considerava as espécies do gênero afrodisíacas e Plínio apreciava sua ação analgésica. Atualmente, é um dos chás mais apreciados para terminar uma refeição, depois da Verbena e da Tília (Carriconde *et al.*, 1995).

O gênero *Mentha* consiste em plantas e ervas aromáticas perenes cultivadas por seus óleos essenciais tanto para fins medicinais como culinários. O número de espécies que pertencem ao gênero tem sido objeto de especulação durante muitos anos, devido, sobretudo, ao alto polimorfismo em sua morfologia e à elevada variação na composição do óleo essencial. Desde Lineu, que fez uma descrição das espécies do gênero baseada na morfologia das inflorescências, muitas outras características tem sido estudadas para descrever a diversidade do gênero *Mentha*. Estudos realizados por vários pesquisadores admitiram a existência de cinco seções no gênero (Audibertia, Eriodontes, Pulegium, Preslia e *Mentha*). Delas, as quatro primeiras não apresentam dificuldade em sua identificação, porquanto não ocorrem casos de hibridação interespecífica. A quinta seção, que compreende cinco espécies (*M. suaveolens* Ehrh., *M. longifolia* (L.) Hudson, *M. spicata* L., *M. arvensis* L. e *M. aquatica* L.) tem um número básico de cromossomos de  $x = 12$  e varia de diplóides a octoplóides. As plantas desta seção apresentam rizoma vigoroso, auto-compatibilidade e multiplicação garantida graças a ginodioiccia (Gobert *et al.*, 2002). Ocorre, no gênero, hibridação interespecífica com elevada frequência, tanto em populações silvestres como cultivadas. Apesar de a maioria dos híbridos ser estéril ou sub-fértil, estes encontram um meio de se perpetuar por meio da propagação vegetativa. Nas populações de híbridos em que predominam os de tipo sub-fértil, esta situação é contornada através de

cruzamentos com as outras espécies ou com as genitoras, fato que gera, segundo Gobert e al. (2002), alta variedade em termos de número de cromossomos (24-120). Em suma, a sistemática do gênero *Mentha* representa um desafio à taxonomia devido a: alta incidência de poliploidia, variação no número base de cromossomos, morfologia variada, propagação vegetativa e hibridação interespecífica freqüente (Bunsawat *et al.*, 2004). Os híbridos e espécies mais conhecidos deste gênero são *M. x piperita* (hortelã pimenta), *M. spicata* L. (menta verde) e *M. arvensis* (menta japonesa), todos cultivados em grande escala para extração de óleo essencial e de mentol, um monoterpeneo natural de alto valor comercial.

O gênero *Mentha* é um dos mais complexos do reino vegetal devido aos inúmeros híbridos resultantes do cruzamento espontâneo das espécies, sempre causando confusão na taxonomia botânica.

### **3.1.2. *Mentha x villosa* Huds.**

Conhecida popularmente como hortelã-rasteira, hortelã-de-panela, hortelã-miúda, hortelã-de-cheiro, hortelã-de-tempero ou hortelã-de-horta (Carriconde *et al.*, 1995), a *Mentha x villosa* Huds é um híbrido de *M. spicata* com *M. suaveolens*. Como *M. spicata* provavelmente se originou de um cruzamento entre *M. longifolia* e *M. suaveolens*, a hortelã-rasteira, *M. x villosa*, é um híbrido de retrocruzamento de *M. spicata* com *M. suaveolens*. Este duplo retrocruzamento às vezes confere a *M. x villosa* características que tornam difícil distingui-la de *M. spicata* (Gobert *et al.*, 2002).

*Mentha x villosa* é referida via de regra como sendo derivada do cruzamento entre *Mentha suaveolens* e *M. spicata*. Outros nomes (sinonímias) contudo podem ser encontrados, tais como: *Mentha alopecuroides* Hull; *Mentha nemorosa* Willd. e *Mentha x villosa* Huds. (pro sp.) var. *alopecuroides* (Hull) Briq. (pro nm.), de acordo com o USDA-Natural Resources Conservation Service. (Plants Database, 2007. Também o nome *Mentha crispa* já foi adotado como nome botânico da espécie (Silva, 2005).

A hortelã-rasteira é nativa de regiões temperadas do hemisfério norte e ocorre nos cinco continentes. Dos vários tipos de hortelã-rasteira aclimatados no Brasil, todos são originários da Europa, de onde foram trazidos pelos portugueses, durante a colonização, e encontram-se em todos os Estados. Espécie de cruzamento muito fácil, produziu híbridos que auxiliaram na sua dispersão e adaptação a vários ambientes (Carriconde *et al.*, 1995). Destes, a *Mentha x villosa* Huds. é o tipo comprovadamente ativo contra protozoários (Matos, 1998; Mattos *et al.*, 1996).



Esta erva aromática é uma planta rasteira que forma touceiras. É anual, de hábito herbáceo e folhas perenes. Tem folhas opostas, simples, dentadas, imparipinadas, crespas, de base redonda e formato oblongo a oval, nervuras proeminentes na face abaxial (ILPIN, 1999), de tamanho variável entre 2 e 5 cm. Nascimento et al. (1996), a partir de estudo sobre a fenologia da espécie com plantas propagadas por estaquia aérea e cultivadas em canteiros de 10,00 m<sup>2</sup>, nas estações seca e chuvosa, relatam que *M. x villosa* tem folhas deltóides oblongas, foscas e enrugadas, inseridas de forma oposta e cruzada, formando uma capa irregular, com folhagem perenifólia. Mattos (1998) acrescenta que as folhas têm um pequeno pecíolo de 2 a 3 mm que permite distingui-la de outros tipos de hortelã-rasteira, sendo que as que o apresentam são as consideradas do tipo ativo. Apresentam rugosidades em diversos graus. Esta rugosidade ou caráter "crespo" foi relatado por Page & Stearn (1992) e refere-se às "mentas rizadas", ou seja, de folhas onduladas, retorcidas, crespas e às vezes profundamente denteadas (Mattos & Costa, 2003). A planta tem pequenas glândulas que produzem o óleo que lhe confere esse odor tão característico. Suas flores são branco violáceas, contidas em pequenos glomérulos terminais, porém Matos (1998) relata que a planta só floresce quando cultivada em serras úmidas.

### **3.1.3. *Mentha spicata* L.**

Page & Stearn (1985) assim descrevem a *M. spicata*: “*Mentha spicata* conhecida também como menta de jardim é a menta mais conhecida e a que mais se cultiva em geral para utilização na cozinha, ainda quando parece ser que não existe no estado silvestre mas que se torna silvestre a partir do cultivo existente. Admite-se que seja um derivado do cruzamento da menta de folhas grandes (*M. longifolia*) e a menta de folhas circulares (*M. suaveolens*). Cresce até uns 30-45 cm de altura. Folhas lanceoladas, quase sem pecíolo e de uma cor verde brilhante. As flores são lilases, em espiga terminal”.

### **3.1.4. *Mentha suaveolens***

É uma espécie vigorosa e vivaz conhecida também como menta aromática ou *M. rotundifolia* nome mais utilizado para seus híbridos com *M. longifolia*. Seu talo, ramoso é densamente piloso. Alcança 60 cm de altura. Suas folhas são lanuginosas e com rugosidades, mais redondas e sésseis, com espigas terminais de flores lilases. Seu aroma é uma combinação do odor de maçãs maduras e o da verdadeira menta. Nas hortas

encontra-se a forma variegada que tem as folhas manchadas de branco cremoso ou totalmente brancas, o que a torna ornamental. Prefere solos areno-argilosos (Page & Stearn, 1985).

### **3.2. Anatomia das células produtoras de óleo essencial**

Em espécies pertencentes à família Lamiaceae são encontradas estruturas anatômicas responsáveis pela secreção de óleos essenciais, que conferem o odor característico a estas plantas.

Para Turner *et al.* (2000), as plantas de *Mentha* possuem três tipos de tricomas foliares e caulinares: os não-glandulares unicelulares e multicelulares unisseriados; os tricomas glandulares peltados, formados por oito células secretoras uma célula suporte e uma basal, e os tricomas capitados, formados por uma célula secretora, uma célula suporte e uma célula basal.

Em estudos de anatomia de plantas observa-se duas categorias de células secretoras, a primeira categoria contém os sistemas secretores envolvidos com as necessidades metabólicas principais da plantas, a segunda categoria contém aquele que facilita a interação da planta com o meio em que ela vive (Mauseth, 1988).

A produção de óleo essencial, que se enquadra na segunda categoria, ocorre através de tecidos secretores especializados chamados tricomas glandulares, que são projeções encontradas na epiderme (Lawrence, 2006). Existem dois tipos de tricomas glandulares: o tricoma captado e o tricoma peltado (Figura 1.1). Em *Mentha* estes óleos são produzidos e armazenados em tricomas glandulares peltados que estão distribuídos preferencialmente na face abaxial das folhas, podendo ocorrer também na adaxial com menor densidade (Deschamps *et al.*, 2006). Segundo Lawrence (2006) em algumas mentas, o local de biossíntese está localizado não só na superfície das folhas, mas também no pecíolo.

Normalmente, os tricomas são formados por oito células secretoras, sustentadas por uma célula de haste e uma célula de base (Figura 1.2), localizadas entre as células da epiderme, além disso são envolvidos por uma larga cutícula protetora que acumula o óleo essencial dentro do espaço de armazenamento (Lawrence, 2006).

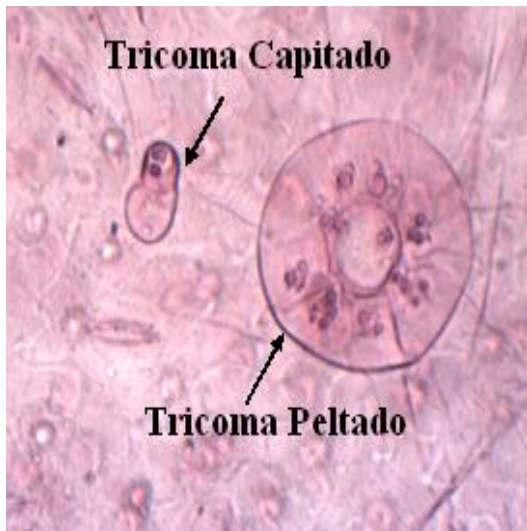


Figura 1.1. Tricomas glandulares em tecidos foliares de *Mentha*

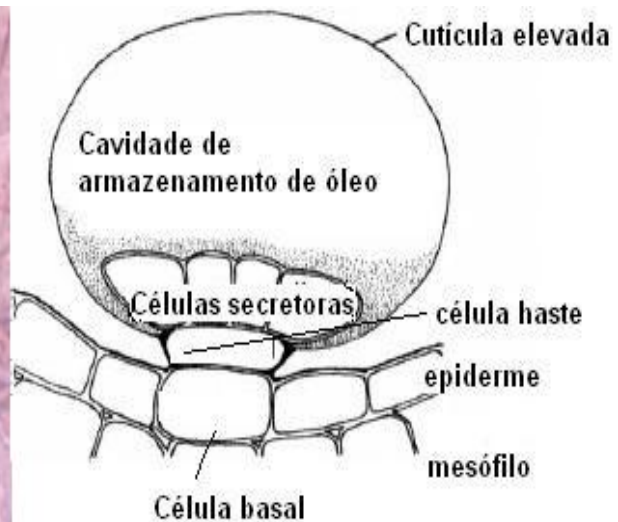


Figura 1.2. Componentes de tricoma glandular em *Mentha x piperita* (Fonte: TURNER & CROTEAU, 2004).

Os tricomas glandulares peltados são responsáveis pela maior produção dos óleos essenciais, enquanto os tricomas glandulares capitados apresentam pequena quantidade de óleo (Turner *et al.*, 2000).

Segundo Turner & Croteau (2004), novas glândulas são continuamente produzidas durante o crescimento das folhas e que estas novas glândulas ocorrem juntas com glândulas maduras. Observando as regiões apical, média e basal da epiderme de ambos os lados das folhas, Turner & Croteau (2004) afirma que a formação de novas glândulas durante o crescimento são irregularmente distribuídas, com relativas regiões imaturas produtoras de glândulas na base da folha e pouca produção no ápice da folha (Lawrence, 2006). A proporção de glândulas em estágio de produção está em função do desenvolvimento da folha e a atividade secretora necessita de um período de 20 a 30 horas para completar o compartimento de armazenamento com óleo essencial (Lawrence, 2006).

Estas glândulas surgem primeiro como protuberâncias epidérmicas que se dividem assimetricamente para produzir uma célula haste, uma basal e uma grande célula apical citoplasmática. Novas divisões das células apicais produzem um tricoma com uma haste celular, uma célula base e oito discos glandulares (Lawrence, 2006). A fase secretora coincide com a separação do espaço de armazenamento e seu “recheio” com óleo essencial (Lawrence, 2006).

### 3.3. Uso e Importância

O uso tão difundido de *Mentha x villosa* pela medicina popular incentivou estudos farmacológicos de seu óleo essencial e de seus constituintes.

Das várias propriedades farmacológicas do óleo essencial de *Mentha x villosa* e de seu principal constituinte, o óxido de piperitenona, relatadas pela literatura, destacam-se: atividade hipotensora, resultado de seu efeito vaso dilatador sobre os músculos vasculares lisos, e bradicárdica em ratos (Lahlou *et al.*, 2001; Lahlou *et al.*, 2002); indução da contração muscular em músculo esquelético de sapos; efeito analgésico em roedores (Almeida *et al.*, 1996).

A *Mentha x villosa* é um remédio de ação curativa, de uso interno, administrado via oral em infusão e poção (cápsulas, colher, pitada), em sumo (com suco de frutas ou misturado ao mel de abelha, em partes iguais) ou ingerindo as folhas frescas (de 6 a 10, junto com as refeições), ou de uso externo, via cutânea (tintura) Carriconde *et al.* (1996) e Matos (1998), conhecido por suas propriedades medicinais antiparasitárias contra infestações dos protozoários *Entamoeba histolytica* e *Giardia lamblia* (*Giardia duodenalis*), com 91% e 68% de eficiência contra estes parasitas, respectivamente, e como carminativa (Santana *et al.*, 1992), ansiolítica, sedativa, tônica, anestésica (Carriconde *et al.*, 1996) e no tratamento de dores abdominais e diarreia com presença de sangue e de tricomoníase urogenital (Sousa *et al.*, 1997). Alguns autores referem-na apenas como vermífida (Nascimento *et al.*, 1996). A *Mentha x villosa* não é tóxica (Matos, 1998). O extrato hidroalcoólico de suas folhas administrado na dose de 100 mg/kg/dia durante noventa dias em ratos albinos por via oral não apresentou efeitos colaterais, entretanto, doses muito elevadas das substâncias isoladas agem sobre o bulbo raquidiano podendo levar à morte (Carriconde *et al.*, 1996). Borba *et al.* (1990), citados por Carriconde *et al.* (1996), acrescentam que a DL<sub>50</sub> do Mentol é de 1000 mg/kg de peso corporal.

As condições climáticas da região de Brasília, sede da presente não possibilitam uma expressiva floração da *Mentha x villosa*. Sendo assim, a hortelã-rasteira cultivada e comercializada na região é multiplicada vegetativamente. Contudo, variações morfológicas são frequentemente observadas nos molhos de hortelã-miúda comercializados em feiras e supermercados, devido provavelmente a variações dentro da espécie (tipos), ou ainda, à comercialização equivocada de outras espécies de hortelã. Matos (1998) registra a ocorrência de duas formas de *Mentha x villosa* no Ceará, uma delas com folhas sésseis, característica que o autor associa à eficácia do material como antiparasitário.

### 3.4. Multiplicação e cultivo

A *Mentha x villosa* é uma planta de fácil cultivo desde que não haja deficiência de água (Carrionde, 1996), e bem aclimatada no Brasil, apesar de só produzir flores quando cultivada em serras úmidas (Matos, 1998; Nascimento *et al.* 1996). Nas demais regiões, sua multiplicação é feita vegetativamente, por estaquia. Mattos *et al.*(1996) indica plantar ramos enraizados ou pedaços de rizoma, em jarros suspensos ou em canteiros altos. A espécie tem preferência por solos arenosos e bem drenados, ricos em matéria orgânica e bem adubados, com esterco curtido, de acordo com Carrionde *et al.* (1996). Vieira *et al* (2002) estudaram o efeito da adubação com esterco de galinha e constataram um maior ganho em matéria verde e em matéria seca aos 77 dias após o plantio. Matos (1998) e Carrionde *et al.* (1996) destacam a importância de se renovar os canteiros por replantio a cada 3 a 4 meses, havendo a necessidade de podar as plantas. Mattos *et al.* (1996) sugere, também, a rotação dos canteiros, com uma frequência de 12 meses ou maior. Nascimento *et al.* (1996) informam que seu ciclo completou-se em 170 e 149 dias, nas estações seca e chuvosa, respectivamente, apresentando um número médio constante de folhas/ramo em torno de 9.

Nascimento *et al.* (1996), em estudo sobre espaçamento com mudas de 30 dias de idade provenientes de estacas, constataram que o mais indicado para a máxima produção de matéria seca, óleo essencial e mentona é 0,60 x 0,35 m.

Mattos *et al.*(1996), em estudo visando época de colheita, recomendam que a colheita seja feita aos 88 dias, na estação seca, e aos 95 dias, na estação chuvosa, baseando-se nos seguintes resultados, para estação seca e chuvosa, respectivamente: matéria verde: 24,02 ton/ha e 17,98 ton/ha; matéria seca: 3,49 ton/ha e 3,39 ton/ha; óleo essencial: 12,00 l/ha e 6,69 l/ha.

A respeito de micropropagação, Marinho *et al.* (2004), informam que, em cultivo *in vitro*, *M. x villosa* apresenta boa capacidade calogênica e regenerativa, a partir de caules contendo gemas axilares, propiciando plantas com partes aéreas e vasto sistema radicular.

Matos (1998) fala da importância da escolha das plantas que serão multiplicadas e dos cuidados que se deve ter com o canteiro, para evitar, desta forma, a contaminação com outros tipos de hortelã. Dada a semelhança entre espécies de *Mentha* e tipos de *M. x villosa*, outras hortelãs que não *M. x villosa* podem ser cultivadas, comercializadas e utilizadas em tratamentos, sem surtir os efeitos desejados ou, até mesmo, agravando o quadro do paciente.

Tavares e Cerqueira (2007) encontraram diferenças morfológicas entre hortelãzinhos comercializados em Brasília, quanto à área do limbo foliar e o índice de afilamento. Determinaram ainda dois índices de pilosidade, o glabro e o pubescente. O índice mais alto, o piloso, não foi encontrado. Não encontraram diferenças quanto ao tamanho do pecíolo, provavelmente em razão da metodologia adotada, analisando as maiores folhas de cada parcela.

Silva (2005), trabalhando com material semelhante encontrou adicionalmente diferenças significativas quanto ao tamanho de pecíolo tendo detectado duas procedências sésseis mas que não eram do táxon *Mentha x villosa* e sim *Mentha piperita* var. *officinalis* Sole. O autor determinou ainda três níveis de rugosidade entre os assessos.

Melo & Freire (2006), em trabalho semelhante determinaram, além da área do limbo foliar, do índice de afilamento do limbo foliar e da pilosidade, também o índice de rugosidade. Foram detectados dois índices de rugosidade e três índices de pilosidade. Também observaram que o índice de afilamento do limbo foliar aumenta à medida em que a planta se torna mais velha, para o mesmo par de folhas. Um dos acessos, pela pilosidade e rugosidade apresentadas foi considerado mais próximo, taxonomicamente, de *Mentha suaveolens*. Os autores referem que a literatura relaciona *Mentha x villosa* como produto do cruzamento *M. suaveolens* x *M. spicata*.

## **4. Material e Método**

### **4.1. Cultivo do Material**

Seis acessos de *Mentha* adquiridos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia foram multiplicados por estaquia na Estação Experimental da UnB em agosto de 2007 (Figura 1.3). Até que as mudas estivessem prontas para transplante definitivo, as estacas foram colocadas em condições de telado sombreado (50% de sombra), em vasos de 4 litros contendo a mistura EEB (latossolo textura média + areia + composto orgânico + vermiculita). Os itens da mistura apresentaram as seguintes respectivas proporções: 3:1:1:1. Para cada 20 litros da mistura foram incorporadas 100 g da formulação 4-16-8 (N-P-K). Após o enraizamento, foram selecionadas as quatro melhores mudas de cada amostra para o transplante. As plantas vegetaram por 40 dias, com rodízio de vasos (Figura 1.4).

### **4.2. Caracteres Morfológicos**

Nesta fase (outubro de 2007) foram medidos o comprimento e a largura do limbo foliar de dois pares de folhas de cada planta, o 4º. e o 5º. (a partir do ápice), bem como o comprimento do pecíolo (Figura 1.5). Também foi observada e registrada mediante nota ou graduação a rugosidade e a pilosidade (dois avaliadores). A presença de antocianina no ramo também foi avaliada e registrada mediante nota ou graduação. Em relação a rugosidade avaliou-se com nota 1 os acessos com limbo foliar liso, nota 2 para os que possuíam limbo foliar medianamente rugoso e nota 3 para limbo foliar fortemente rugoso. Para a pilosidade, receberam nota 1 os acessos escassamente pilosos, nota 2 para acessos puberulentos, sendo que a presença de pelos não interfere na cor da folha, e nota 3 para acessos com alta pilosidade, de tal forma que os pelos interferem fortemente na cor da folha. A cor púrpura foi avaliada em relação a sua ausência (nota 1), presença apenas nos talos (nota 2) e nos talos e nas nervuras das folhas (nota 3). Os caracteres foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, através do programa Statistical Analysis System – SAS, utilizando-se o nível 5% de probabilidade.

### 4.3. Caracteres Anatômicos

Para análise foram coletadas, em abril de 2008, folhas do quinto nó de cada acesso e armazenadas em álcool para posteriores corte anatômicos.

Os tipos de secções utilizadas nesta análise foram:

Corte Transversal (perpendicular ao maior eixo do órgão). Neste corte as folhas foram cortadas em pequenos quadrados, colocadas em recipiente contendo ácido nítrico 30% e aquecidas para dissolver o mesófilo e retirar a epiderme da folha. Os cortes foram retirados e lavados com água destilada. Para colorir as estruturas foi utilizado o corante Safranina por trinta minutos. Decorrido este tempo fez-se a desidratação com álcool 50, 60, 70, 80 e 90. A montagem das lâminas foi feita com glicerina em gel.

Corte Paradérmico (utilizado principalmente para o estudo de folhas, sendo paralelo à superfície). Para a obtenção de cortes finos, utilizou-se o micrótomo de mão e os cortes realizados foram transferidos para um recipiente contendo água destilada. O clareamento dos cortes é feito utilizando solução de hipoclorito de sódio comercial (em geral 20%). Com o fim da fase de clareamento, os cortes são transferidos em seguida para outro recipiente com água destilada e enxaguados abundantemente. Com o objetivo de corrigir o pH para que não haja interferência na eficácia do corante, passar os cortes em solução de ácido acético diluído, enxaguando em água em seguida. O corante utilizado para evidenciar as estruturas celulares foi o Azul de alcian + Safranina, por 20 segundos. Após a coloração os cortes foram transferidos para lâminas e fixados com glicerina 1/1. O estudo das estruturas foi realizado em microscópio óptico.



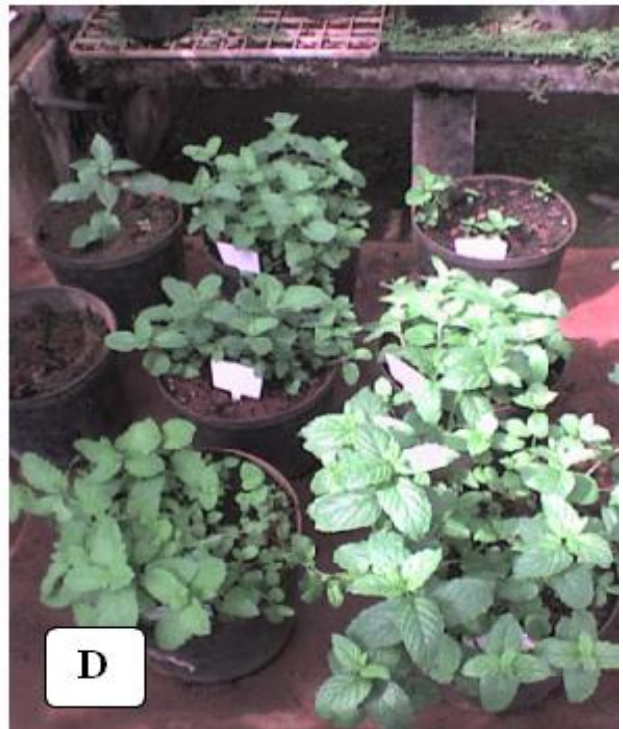
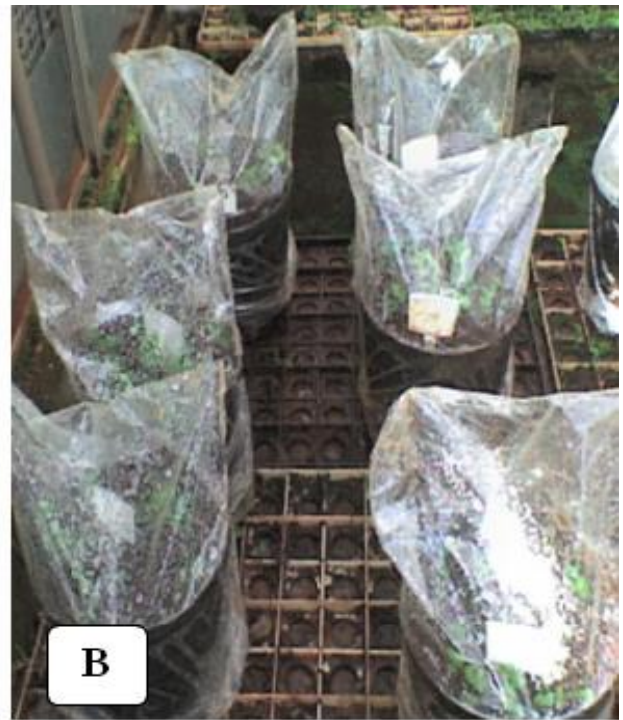


Figura 1.3: Mini estufas para produção de mudas de mentha (A) e (B). Mudanças após uma semana de plantio (C) e após duas semanas de plantio (D).



Figura 1.4: Multiplicação das mudas de hortelã em outubro.



Figura 1.5: Análise do comprimento e da largura do limbo foliar de dois pares de folhas de cada planta de *Mentha*.

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Caracteres morfológicos

Os resultados do presente ensaio estão representados na Tabela 1.1, contendo as médias da área do limbo foliar, índice de afilamento e tamanho do pecíolo, de seis acessos de hortelãzinho.

A escolha do quarto e quinto nó para proceder-se à análise justifica-se, pois ambas encontram-se em completa a expansão do limbo foliar. A comparação dos nós possibilitou definir diferenciações morfológicas entre os acessos.

Com base nos coeficientes de variação, o quarto nó apresentou, do ponto de vista da análise estatística, os melhores resultados. Esta afirmativa prende-se ao fato do quarto nó ter apresentado em geral menores coeficientes de variação.

Tabela 1.1. Médias da Área do Limbo Foliar, do Índice de Afilamento e Tamanho do Pecíolo de oito acessos de hortelãzinho da coleção da Embrapa-Cenargen.

Acessos	Área do Limbo Foliar(cm <sup>2</sup> )		Índice de afilamento		Pecíolo (cm)	
	4º. Nó	5º. Nó	4º. Nó	5º. Nó	4º. Nó	5º. Nó
CM 28	16,49 a	19,16 a	1,47 c	1,47 c	0,21 b	0,31 bc
CM 72	11,03 b	17,56 ab	1,40 c	1,49 c	0,33 ab	0,35 b
CM 29	10,91 b	16,72 ab	1,72 b	1,71 bc	0,12 b	0,2 bc
CM 65	10,15 b	14,06 ab	1,62 bc	1,77 b	0,38 ab	0,47 ab
CM 35	9,56 b	9,96 b	1,68 bc	1,69 bc	0,46 a	0,58 a
CM 64	7,52 b	10,78 b	2,04 a	2,07 a	0,1 b	0,1 c
CV	22,68	28,75	6,63	7,94	37,36	42,7
DMS	3,53	6,02	0,15	0,19	0,14	0,2

Obs.: as médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem pelo teste de Tukey a 5%. A área do limbo foliar é o produto entre o comprimento do limbo foliar e sua largura.

O índice de afilamento é o quociente entre o comprimento do limbo foliar e sua largura.

Os resultados indicam que os acessos em análise puderam ser diferenciados com base nos parâmetros para tal escolhidos restando afirmar que encontram-se, no grupo analisado, acessos com diferentes áreas de limbo foliar (Figura 1.6 e 1.7), com diferentes índices de afilamento e tamanho de pecíolo, alguns mostraram-se tão pequenos, que as folhas apresentam-se quase sésseis. Essa característica eleita por Mattos (1998), para descrever um acesso de *Mentha x villosa* encontrado o Ceará. e que

ele nomeou de “eficiente”, pelo seu teor em óxido de piperitenona e ação protozoicida sobre amebas e giárdias.

No entanto, cumpre atentar para o fato de que a ausência de pecíolo é uma característica de outros taxa dentro do gênero *Mentha*, obrigando o pesquisador a analisar o conjunto dos caracteres. Se o acesso florescer, esta é mais uma razão para se suspeitar de que não se trata de *Mentha x villosa* típica, uma vez que este táxon não costuma florescer na região de Brasília.

Cumpre observar que as plantas com menor índice de afilamento na lâmina foliar, aproximam-se nesta característica do padrão de folha da *Mentha x villosa* tradicionalmente comercializada no Brasil, em feiras e supermercados.

Tabela 1.2. Índices de Rugosidade, Pilosidade e Cor Púrpura de seis acessos de hortelãzinho em cultivo protegido do tipo *glasshouse* em Brasília.

<i>Acessos</i>	<i>Rugosidade</i>	<i>Pilosidade</i>	<i>Cor Púrpura</i>
CM 28	1	3	1
CM 29	2	1	3
CM 35	2	3	2
CM 64	3	1	1
CM 65	2	1	2
CM 72	3	1	2

**Rugosidade** : (1) Limbo foliar liso ; (2) Limbo foliar medianamente rugoso ;(3) Limbo foliar fortemente rugoso. **Pilosidade**: (1) glabro ou escassamente pilosa; (2) Puberulenta. Os pelos não interferem na cor da folha. (3) Pilosa. Os pelos interferem fortemente na cor da folha. **Cor Púrpura**: (1) Ausente; (2) Cor púrpura apenas nos talos; (3) Cor púrpura nos talos e nas nervuras das folhas.

A tabela 1.2 mostra os índices de rugosidade, pilosidade e cor púrpura dos acessos em análise. As Figuras 1.8 e 1.9 ilustram as diferenças encontradas entre os acessos analisados.

Tavares e Cerqueira (2007) encontraram diferenças morfológicas entre hortelãzinhos comercializados em Brasília, quanto à área do limbo foliar e o índice de afilamento. Determinaram ainda dois índices de pilosidade, o glabro e o pubescente. O índice mais alto, o piloso, não foi encontrado. Não encontraram diferenças quanto ao tamanho do pecíolo, provavelmente em razão da metodologia adotada, analisando as maiores folhas de cada parcela.

Melo & Freire (2006), em trabalho semelhante determinaram, além da área do limbo foliar, do índice de afilamento do limbo foliar e da pilosidade, também o índice

de rugosidade. Foram detectados dois índices de rugosidade e três índices de pilosidade. Também observaram que o índice de afilamento do limbo foliar aumenta à medida em que a planta se torna mais velha, para o mesmo par de folhas referência. Um dos acessos, pela pilosidade e rugosidade apresentadas foi considerado mais próximo, taxonomicamente, de *Mentha suaveolens*. Os autores referem que a literatura relaciona *Mentha x villosa* como produto do cruzamento *M. suaveolens* x *M. spicata*.

Silva (2005), trabalhando com material semelhante, encontrou adicionalmente diferenças significativas quanto ao tamanho de pecíolo tendo detectado duas procedências sésseis, mas que não eram do táxon *Mentha x villosa* e sim *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé. O autor determinou ainda três níveis de rugosidade entre os acessos.

No presente trabalho, observou-se que três acessos apresentaram-se atípicos em relação aos descritores de *Mentha x villosa*. O acesso 29 apresenta características descritoras da *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé. O acesso 35 apresenta características descritoras da espécie *Mentha suaveolens*, não fosse pelo índice de afilamento que não indica uma folha arredondada, tratando-se provavelmente de uma forma intermediária. O acesso 28 foi o que apresentou-se mais atípico, apresentando alta pilosidade e baixa rugosidade, aproximando-se do tipo descrito pelo ILLINOIS PLANT INFORMATION NETWORK (2004) para *Mentha x villosa* que foge em muito à morfologia dos exemplares encontrados frequentemente no Brasil.

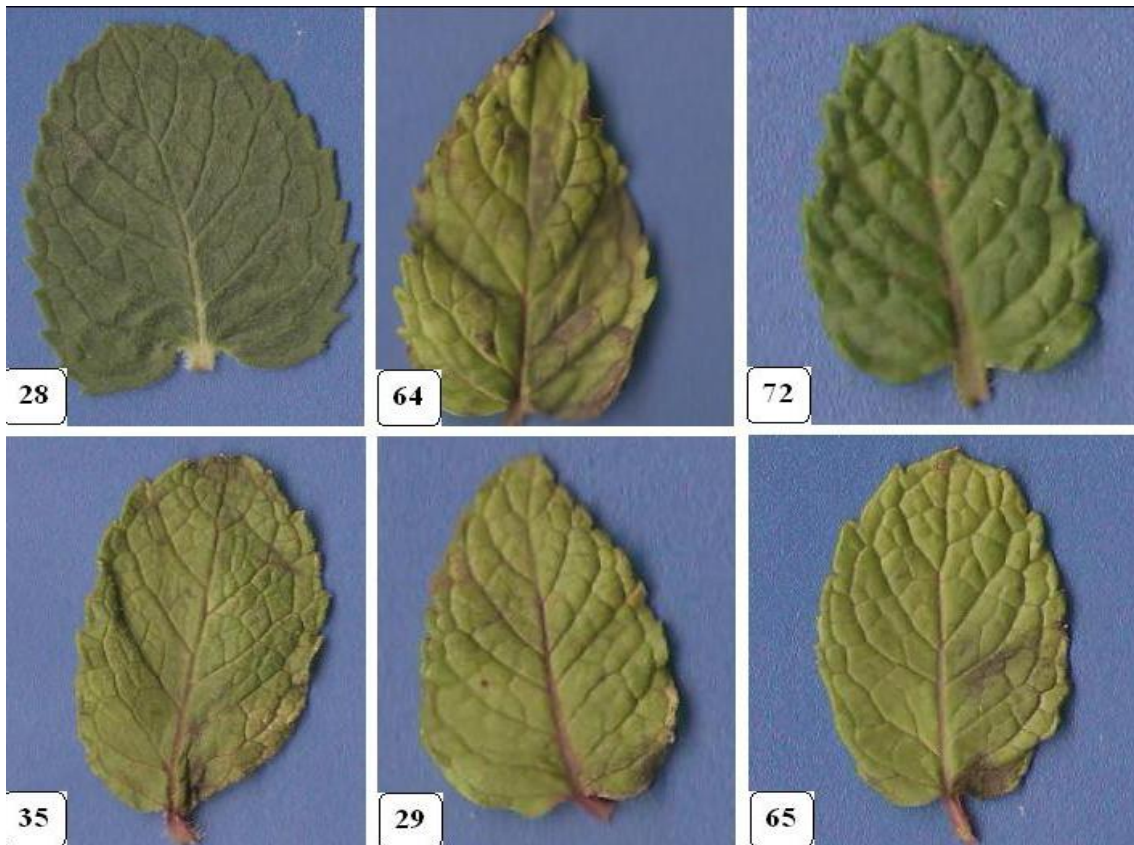


Figura 1.6: Características morfológicas das folhas de *Mentha* (face adaxial)

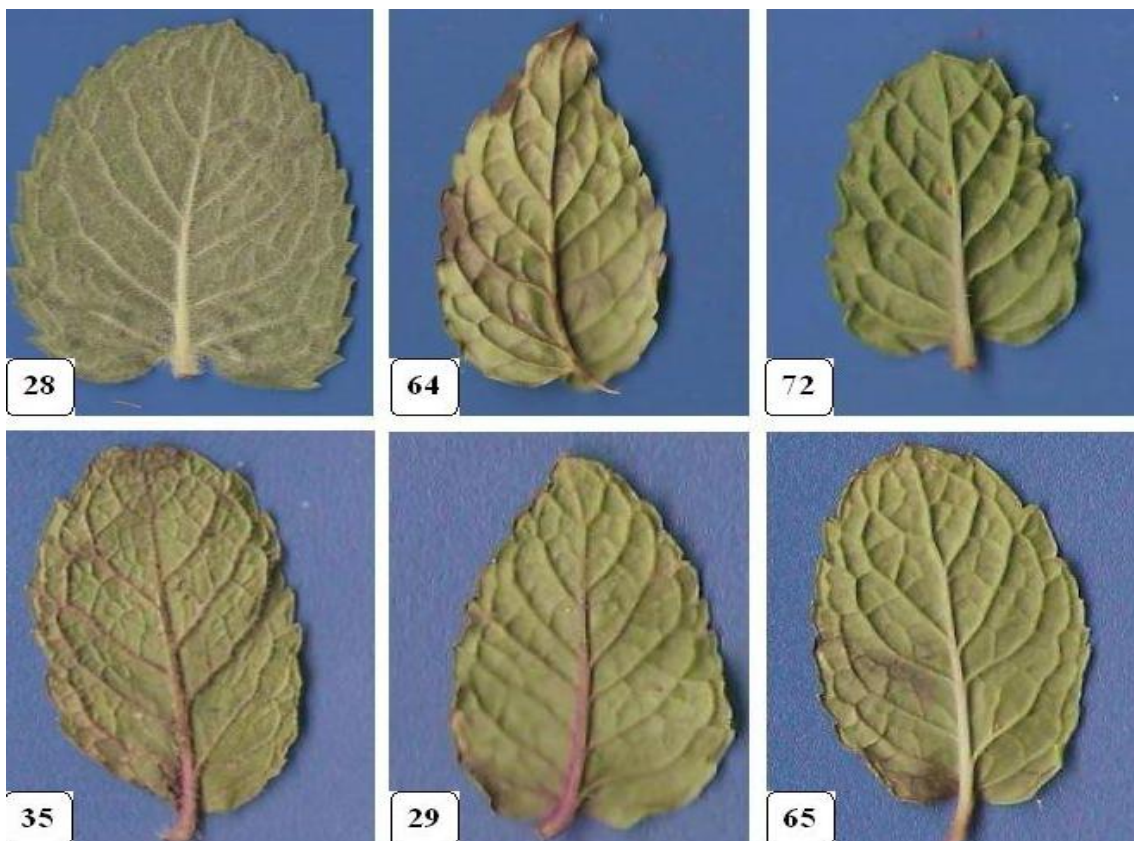


Figura 1.7: Características morfológicas das folhas de *Mentha* (face abaxial)

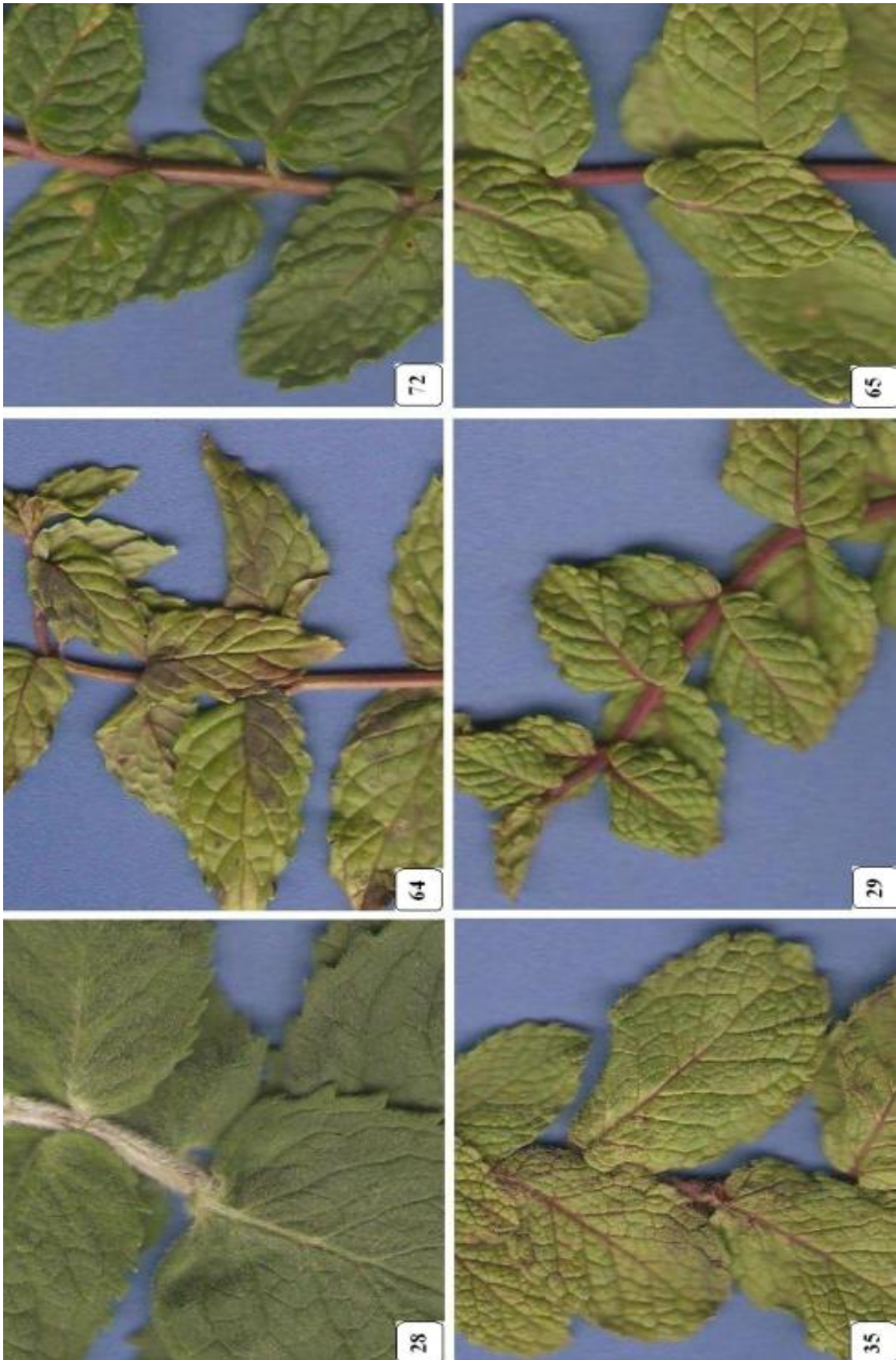


Figura 1.8: Pilosidade, Rugosidade e presença da cor púrpura nos acessos de *Mentha* (face adaxial)

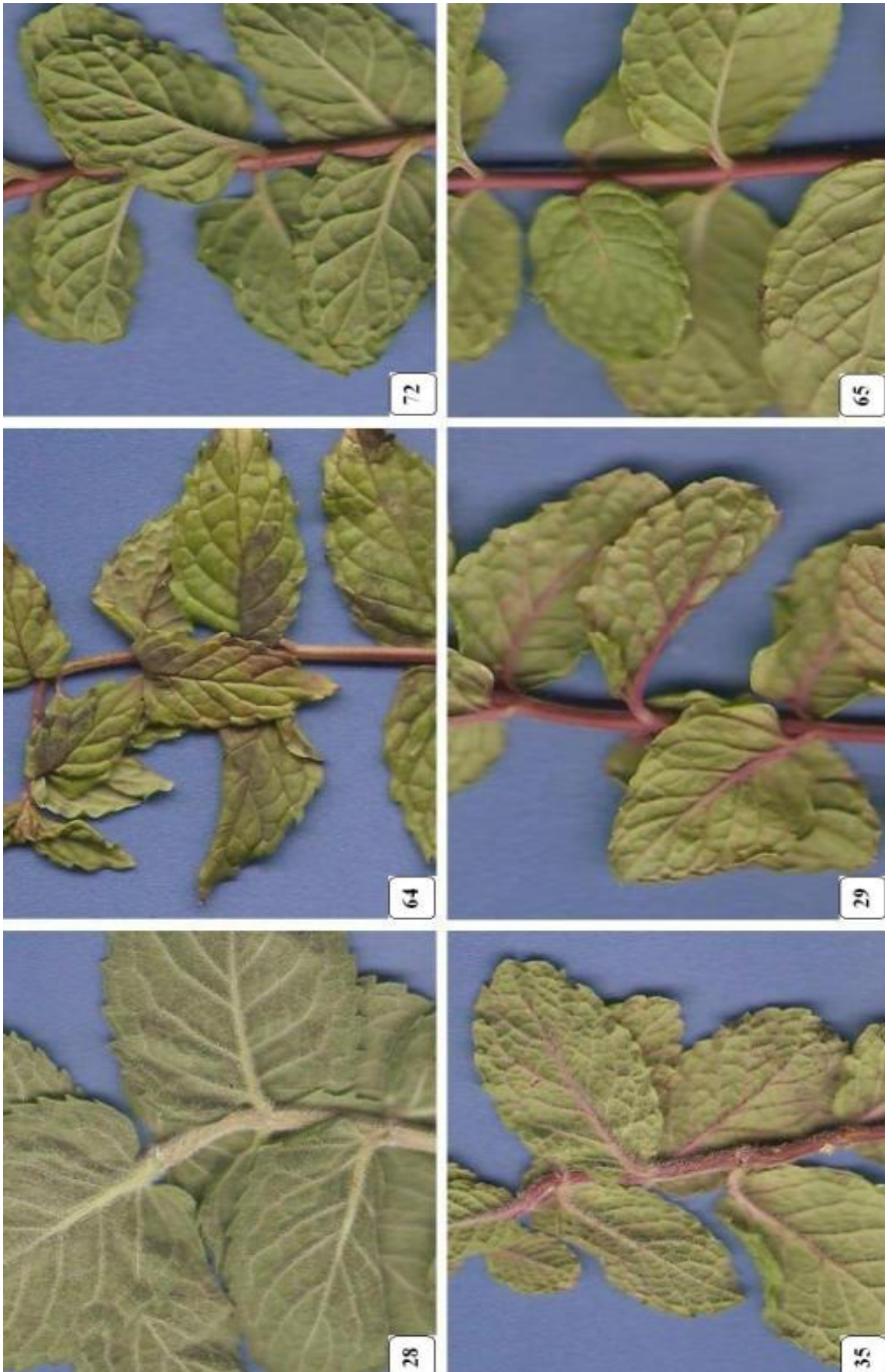


Figura 1.9: Pilosidade, Rugosidade e presença da cor púrpura nos acessos de *Mentha* (face abaxial)



## 5.2. Caracteres anatômicos

Os seis acessos de *Mentha* apresentaram os dois tipos de tricomas glandulares tanto na face adaxial, quanto na face abaxial: Tricoma Peltado, formado por oito células secretoras, uma célula suporte e uma célula basal; Tricoma Capitado, formado por uma célula secretora, uma célula suporte e uma célula basal. Foram encontrados tricomas não glandulares apenas nos acessos 28, 35 (Figura 1.10 e 1.14) e na nervura principal do acesso 65 (Figura 1.17) (*Mentha* sp. x *M. Villosa* Huds., *Mentha* sp e *Mentha* sp. x *M. Villosa* Huds.).

Mesmo presente nas duas faces foliares, os tricomas estavam concentrados em sua maioria na face abaxial, sendo o tricoma capitado encontrado em maior quantidade em relação ao tricoma peltado. Os tricomas peltados e capitados diferem em morfologia, início e duração da atividade secretora, modo de secreção e material secretado. Nos tricomas peltados o material secretado é expelido para o exterior, enquanto nos tricomas peltados o material permanece no espaço subcuticular (Martins, 2002)

A epiderme nos seis acessos apresentou-se como unisseriada, sendo a face adaxial maior que a face abaxial e o mesófilo é dorsiventral ou bifacial (quando o parênquima paliçádico aparece apenas na porção adaxial). O parênquima paliçádico é unisseriado com células dispostas perpendicularmente à superfície. Nos acessos 28, 35 e 65 o parênquima paliçádico apresenta células mais alongadas, já nos acessos 29 (Figura 1.12 e 1.13), 64 (Figura 1.15 e 1.16) e 72 (Figura 1.18 e 1.19) estas células são mais curtas e largas. O parênquima lacunoso ou esponjoso apresentou em todos o acessos três a quatro camadas.

O resultado deste trabalho confirma outros encontrados por Martins (2002), cuja secções transversais e paradérmicas da região mediana de folhas de *M. spicata* x *suaveolens* e de *M. spicata* L. mostraram a presença de epiderme unisseriada, coberta por uma fina camada de cutícula com tricomas glandulares do tipo capitado e peltado em ambas as faces e de tricomas não glandulares (tectores) unisseriados multicelulares, não ramificados, predominante na epiderme abaxial.

Em seu trabalho com *Mentha* x piperita var. piperita, Pegoraro (2007) encontrou dois tipos de tricomas foliares e caulinares: tricomas peltados e tricomas capitados. Contudo, não foram encontrados tricomas não glandulares nos caules e nas faces abaxial e adaxial foliar.

Watanabe (1993), em observações com microscopia eletrônica de varredura em diferentes formas de tricomas glandulares em grande número de plantas aromáticas,

observou que para alfazema, hortelã-pimenta, alfavaca, orégano, sálvia e tomilho, os tricomas peltados formam coroas circulares e cada uma possui de 4 a 12 células secretoras de óleo.

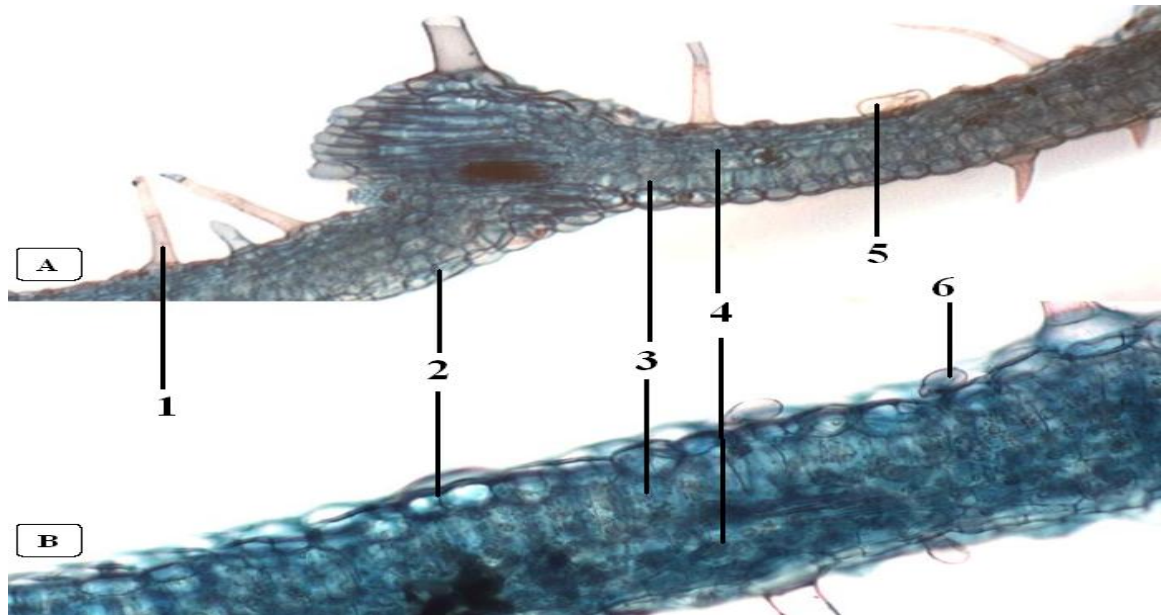


Figura 1.10: Corte transversal do acesso 28 (*Mentha* sp. x *M. Villosa* Huds.), sendo (A) lente 5x e (B) lente 10x : 1-tricoma tector; 2- epiderme; 3- parênquima paliçádico; 4- parênquima paliçádico; 5- tricoma peltado; 6- tricoma capitado.

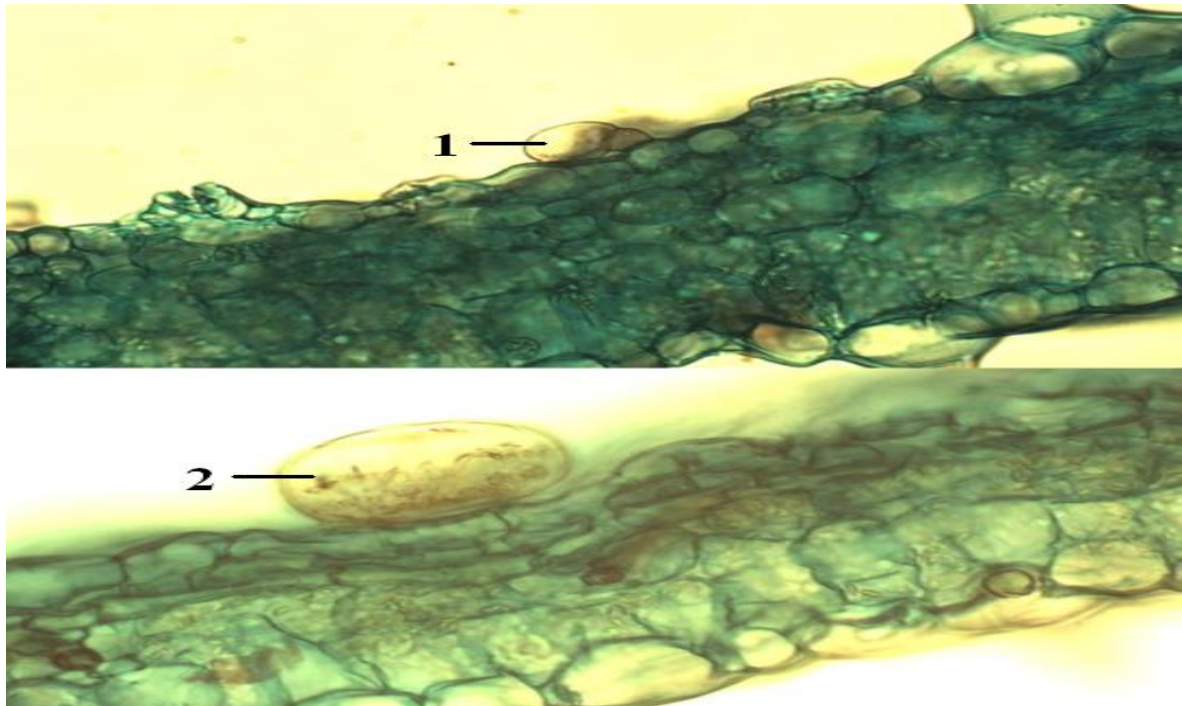


Figura 1.11: Corte transversal do acesso 28 (*Mentha* sp. x *M. Villosa* Huds.) lente 20x : 1- tricoma capitado; 2- tricoma peltado.

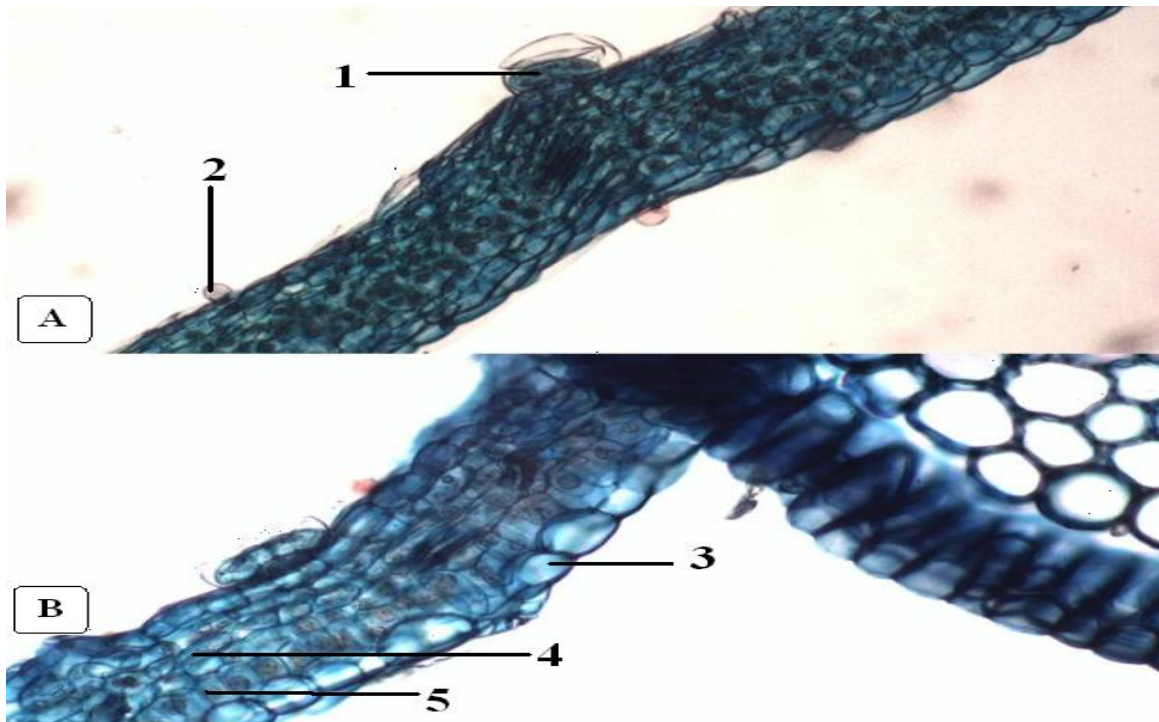


Figura 1.12: Corte transversal do acesso 29 (*Mentha spicata* L.x *suaveolens*.), sendo (A) lente 5x e (B) lente 10x : 1-tricoma peltado; 2- tricoma capitado; 3- epiderme; 4- parênquima lacunoso; 5- parênquima paliçádico.

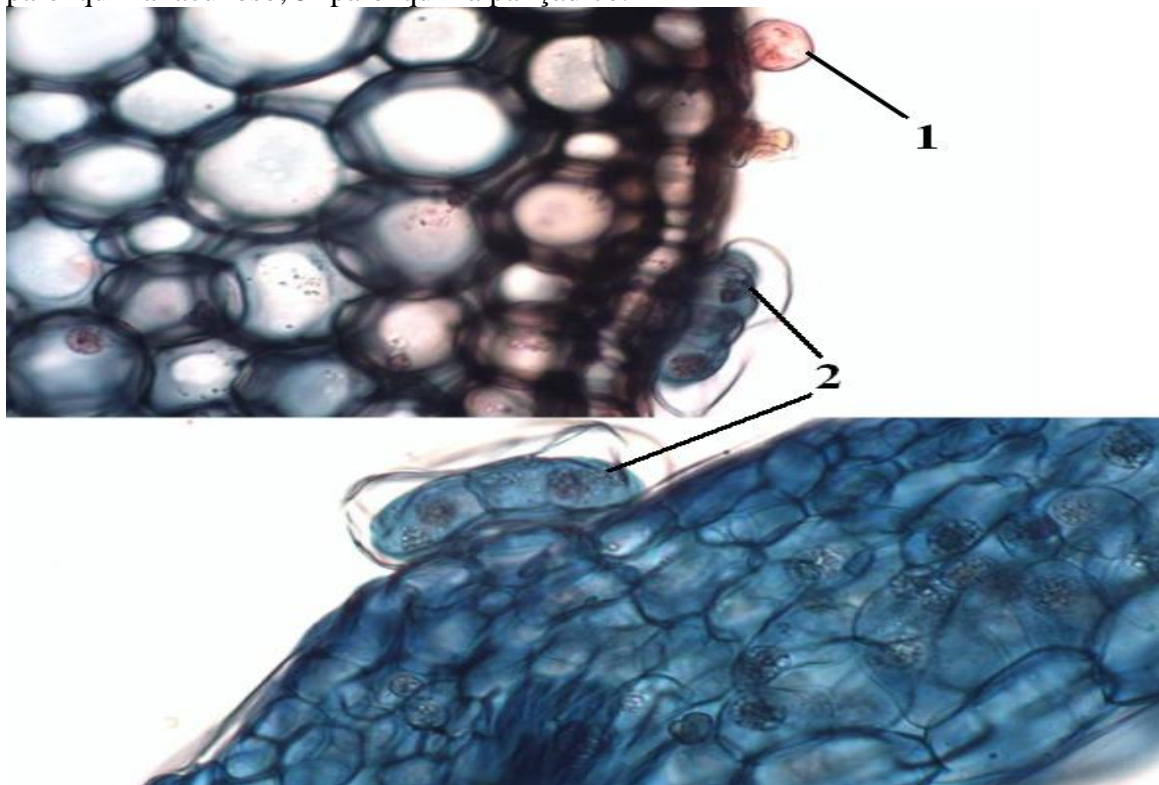


Figura 1.13: Corte transversal do acesso 29 (*Mentha spicata* L.x *suaveolens*.), lente 20x : 1-tricoma capitado; 2 – tricoma peltado, sendo visível a cavidade de armazenamento do óleo e as células secretoras.

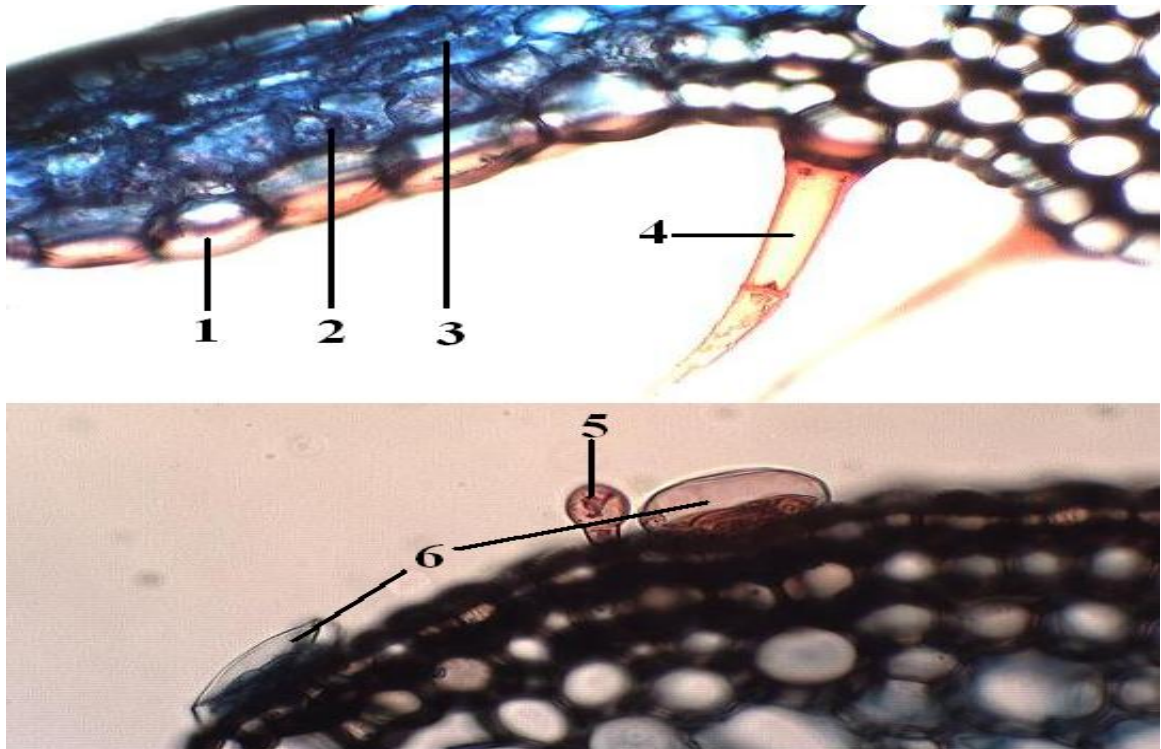


Figura 1.14: Corte transversal do acesso 35 (*Mentha* sp.), lente 20x : 1- epiderme; 2- parênquima paliçádico; 3- parênquima lacunoso; 4- tricoma tector; 5- tricoma capitado; 6- tricoma peltado.

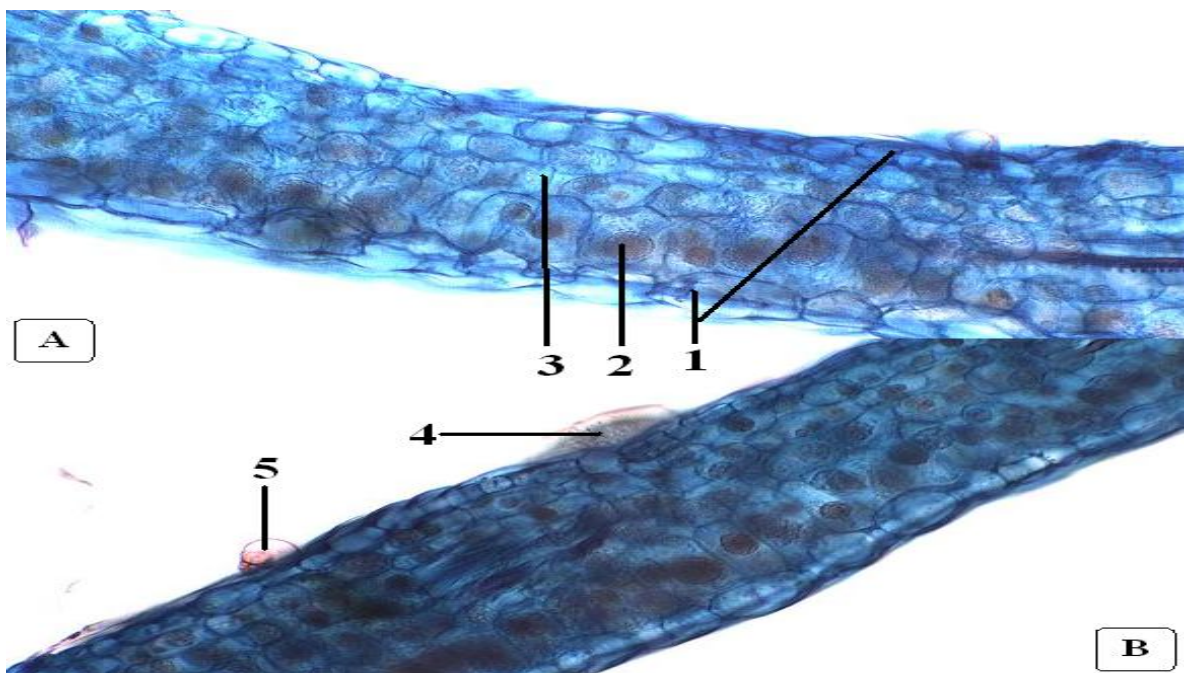


Figura 1.15: Corte transversal do acesso 64 (*Mentha spicata* L.), sendo (A) lente 10x e (B) lente de 5x : 1- epiderme; 2- parênquima paliçádico; 3- parênquima lacunoso; 4- tricoma peltado; 5- tricoma capitado.

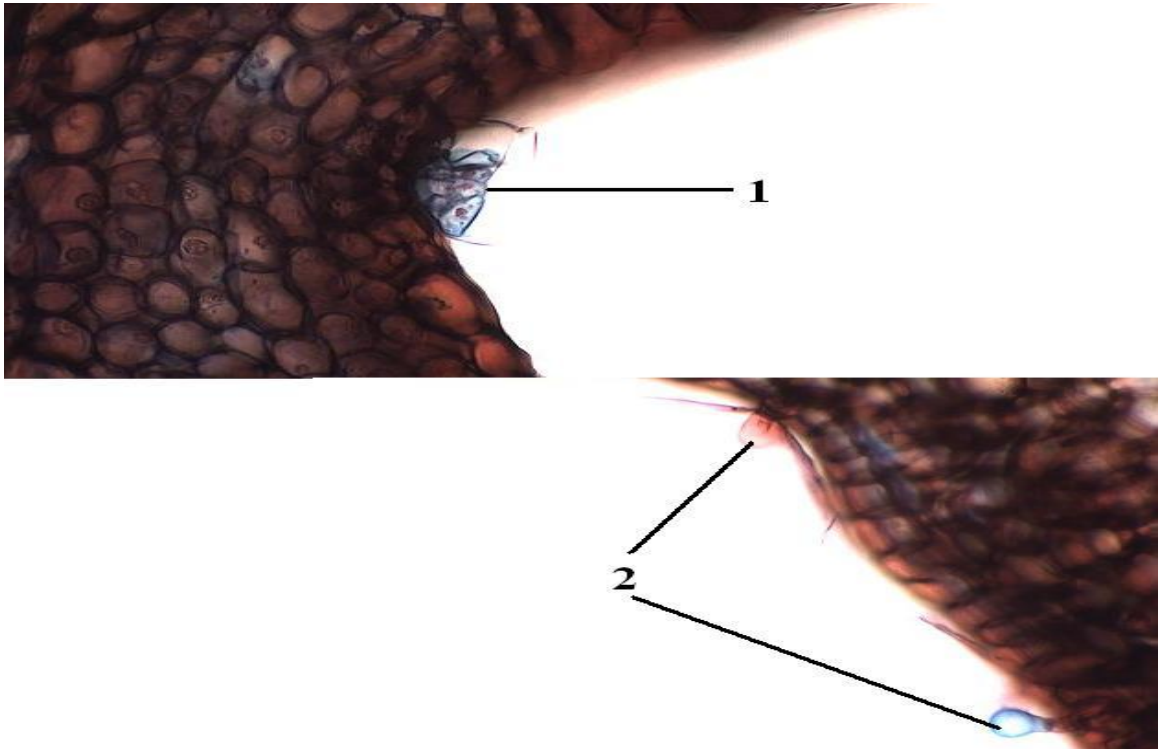


Figura 1.16: Corte transversal do acesso 64 (*Mentha spicata* L.), lente 20x : 1-tricoma peltado, sendo visível a cavidade de armazenamento do óleo e as células secretoras; 2 – tricoma capitado

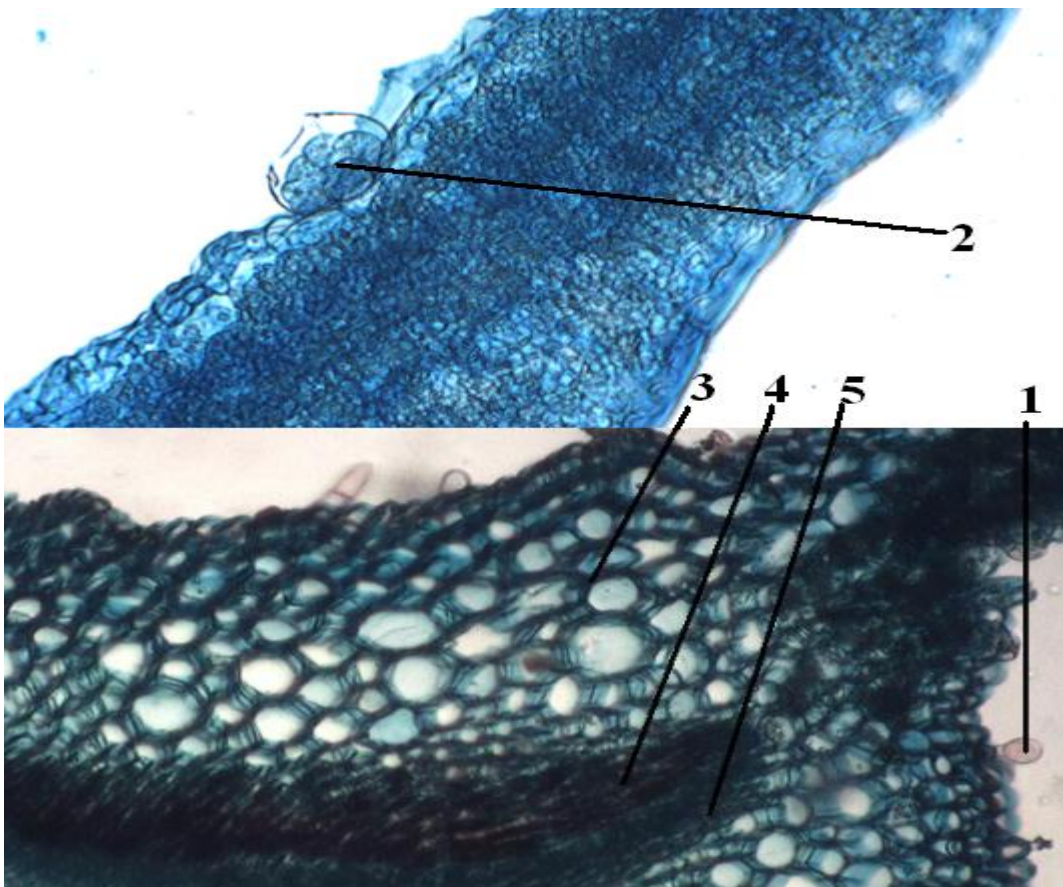


Figura 1.17: Corte transversal do acesso 65 (*Mentha* sp. x *M. villosa* Huds.), lente 20x : 1-tricoma capitado; 2 – tricoma peltado; 3- colênquima; 4- xilema; 5- floema.

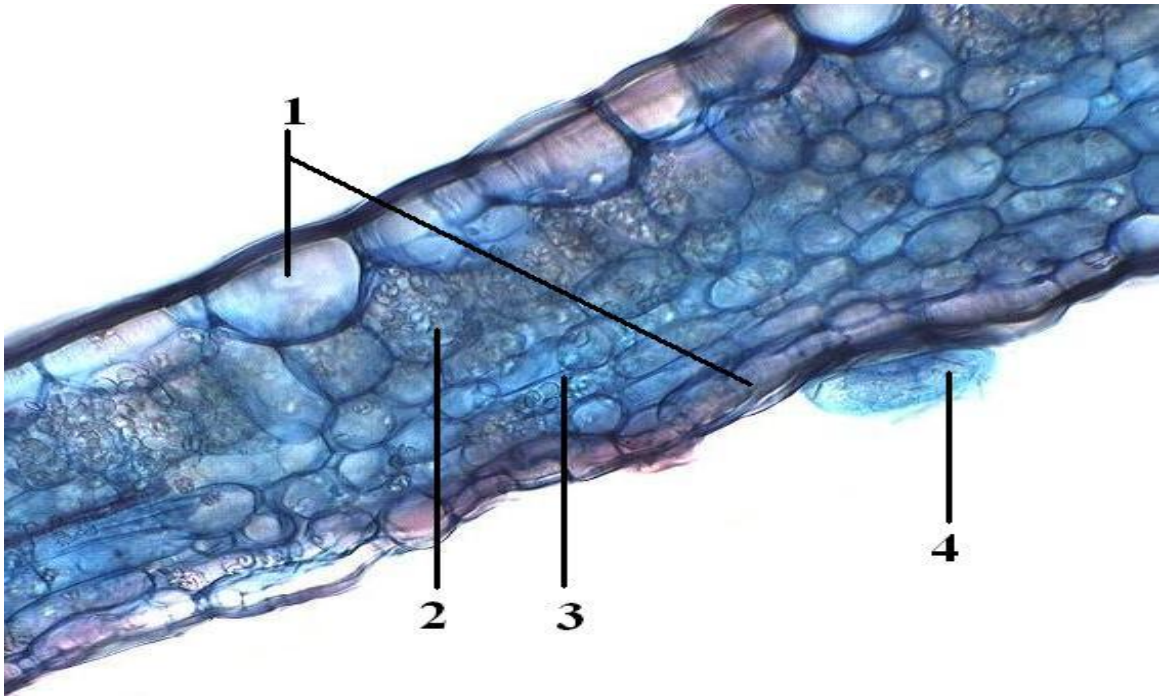


Figura 1.18: Corte transversal do acesso 72 (*Mentha spicata* L.), lente 20x : 1- epiderme; 2- parênquima paliçádico; 3- parenquima lacunoso; 4- tricoma peltado.

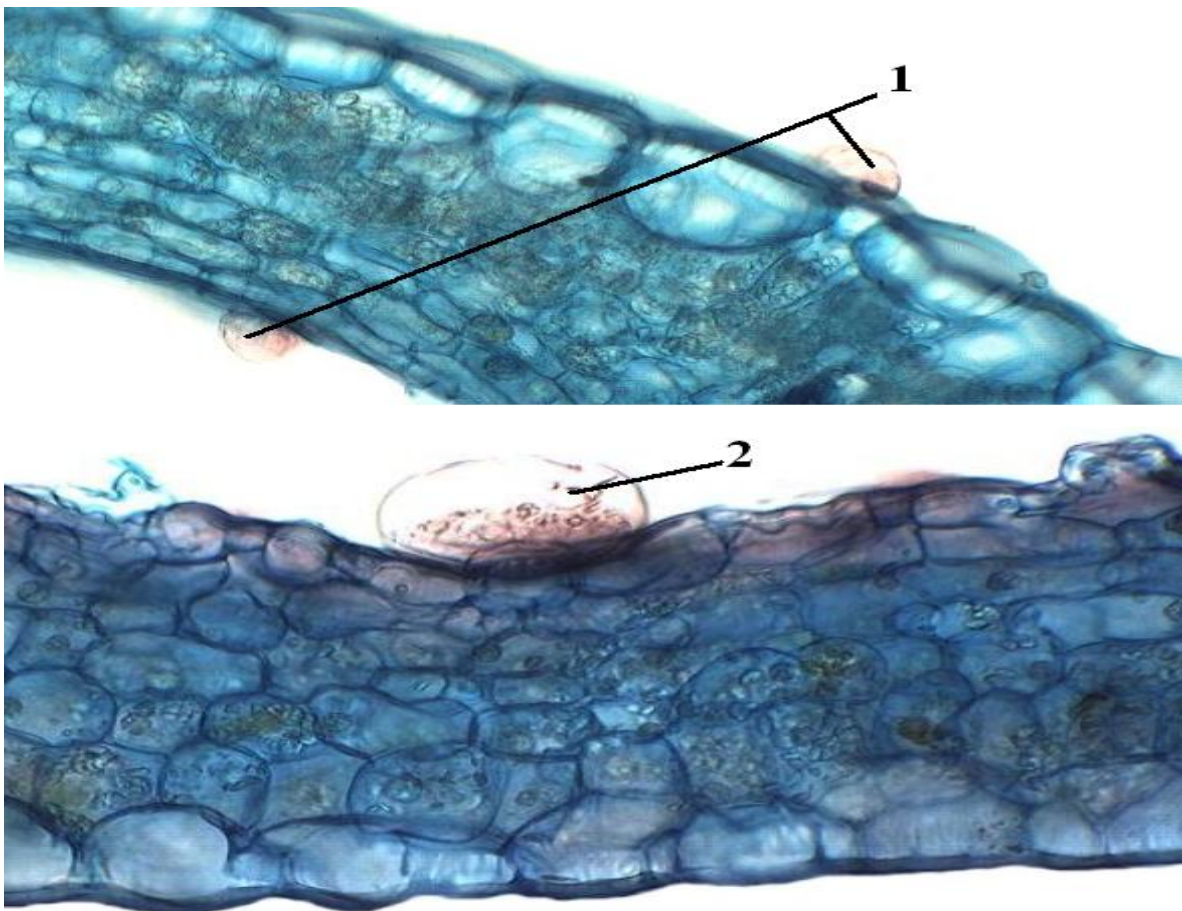


Figura 1.19: Corte transversal do acesso 72 (*Mentha spicata* L.), lente 20x : 1- tricoma capitado; 2- tricomas peltado.

## 6. Conclusão

- As características morfológicas dos seis acessos de *Mentha sp.* possibilitar reconhecer tipos diferentes, sendo um deles identificado como forma intermediária entre *Mentha suaveolens* e *Mentha x villosa*;
- Os dois tipos de tricomas encontrados nos seis acessos ocorrem em maior quantidade na face abaxial, em destaque para 28 e 29 em maior quantidade de tricomas.
- Apenas os acessos 28 e 35 apresentaram tricomas e em pequena quantidade na nervura principal do acesso 65.
- Há predominância de tricomas capitados em relação aos tricomas peltados.

## 7. Considerações finais

Os acessos 28 e 35 reúnem características morfológicas que os distanciam do padrão típico do hortelanzinho comercializado nas feiras e supermercados brasileiros. O pecíolo curto do acesso 28 coexiste com a ausência da cor púrpura e um baixo índice de rugosidade. Provavelmente não se trata da *Mentha x villosa* típica. As características são mais próximas de *Mentha piperita* var. *officinalis* Solé, conforme encontrado por Silva (2005). O acesso 35 por seu turno, apresenta suficiente rugosidade mas a pilosidade elevada o aproxima muito mais de um dos parentais de *Mentha villosa*, qual seja, *M. suaveolens*, muito embora o índice de afilamento seja alto, o que não ocorre com *M. suaveolens*. Diríamos que se trata de uma forma intermediária. Enfim, quatro acessos aproximam-se, pelos parâmetros morfológicos analisados, da *Mentha x villosa* relatada no Brasil, quais sejam: 29, 64, 65 e 72. Análises subseqüentes poderão indicar, pelos teores de óxido de piperitenona, sobre suas propriedades protozoicidas. Uma avaliação de bouquet também se faz necessária para se verificar a aprovação pelo consumidor.

## 8. Referências Bibliográficas

ALMEIDA R. N. & BARBOSA FILHO J. M. **Avaliação do efeito antinociceptivo do óleo essencial e da Rotundifolona obtidos de *Mentha x villosa* Hudson.** Anais da IX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 1994.

ALMEIDA, R. N., HIRUMA, C. A., BARBOSA FILHO, J. M. **Analgesic effect of rotundifolone in rodents.** Laboratório de Tecnologia Farmacéutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 1996.

BORBA, M. O. P., KOBAYASHI, S. *et al.* **Frações ativas da *Mentha crisper* sobre Camundongos albinos swiss infectados com *Schistosoma mansoni*.** CEPA SLM Parte I. XI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil, João Pessoa, 1990.

BUNSAWAT, JIRANAN *et al.* **Phylogenetics of *Mentha* (Lamiaceae): Evidence from Chloroplast DNA Sequences.** Disponível em:

<<http://www.kbrin.louisville.edu/about/pubs/bunsawat-revised.pdf>>. Acesso em : 11 jun. 2004.

CARRICONDE ET AL. **Plantas medicinais e plantas alimentares.** Olinda : Centro nordestino de medicina popular, v.1, 153p. 1996.

CRAVEIRO A. A. *et al.* **Novos óleos essenciais de Labiadas do Nordeste.** XI Reunião da Sociedade Brasileira de Química, Caxambu, MG, 1990.

DESCHAMPS, C.; ZANATTA, J. L.; ROSWALKA, L.; OLIVEIRA, M. de C.; BIZZO, R.; ALQUINI, Y. **Densidade de tricomas glandulares e produção de óleo essencial em *Mentha arvensis* L., *Mentha x piperita* L. e *Mentha cf. aquatica* L.** Ciência e Natura, v. 28, n. 1, p. 23-34, 2006.

GOBERT, V. *et al.* **Hybridization in the section *Mentha* (Lamiaceae) inferred from AFLP markers.** American Journal of Botany 89(12), 2002. pags. 2017 a 2023.



Disponível em : <<http://oregonstate.edu/instruction/bot421/hybrids.aflp.pdf>>. Acesso em : 11 jun. 2004.

HIRUMA C. A. **Estudo químico e farmacológico do óleo essencial das folhas de *Mentha x villosa* Hudson.** Tese de doutorado, Universidade Federal da Para, 1993.

ILLINOIS PLANT INFORMATION NETWORK. USDA Forest Service. ILPIN information on *Mentha x villosa*. Disponível em:

<<http://www.fs.fed.us/ne/delaware/ilpin/1898.co>>. Acesso em 11 jun. 2004.

LAHLOU, S. *et al.* **Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha x villosa* and its main constituent, piperitenone oxide, in normotensive anaesthetised rats: role of the autonomic nervous system.** Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2001.

LAHLOU, S., CARNEIRO LEÃO, R. F. L., LEAL CARDOSO, J. H. **Cardiovascular effects of the essential oil of *Mentha x villosa* in DOCA-salt-hypertensive rats.** Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2002.

LAWRENCE, B. M. **Chemical components of Labiatae oils and their exploitation.** In: HARLEY, R. M.; REYNOLDS, T. (Eds.). *Advances in labiatae science.* Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. p.399-436. 2006

LIMA, C. A. H. *et al.* **Efeitos farmacológicos do óleo essencial da *Mentha x villosa* Hudson sobre o sistema nervoso central.** Anais da IX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 1994.

MARINHO, P., LOPES, K., ALENCAR, G. **Cultivo in vitro de *Mentha x villosa* HUDSON: Micropropagação, indução e crescimento de calos e regeneração.** Disponível em : <[www.cnpq.br/gpesq2/garea2/apg203/](http://www.cnpq.br/gpesq2/garea2/apg203/)>. Acesso em : 25/06/2004.

MARTINS, M. B. G. **Estudo de microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata* x *suaveolens* (Lamiaceae).** *Bragantia*, Campinas, v. 61, n. 3, 205-218, 2002

MATOS, F. J. A. *Farmácia viva*. 3ª edição. Fortaleza : Edições EFC, 100p. 1998.

MATOS, F. J. A. *et al.* **The essential oil of *Mentha x villosa* Huds. from northeastern Brazil.** Universidade Federal do Ceará, Laboratório de Produtos Naturais, Fortaleza, CE, 1999.

MATTOS, J. K. A., COSTA, M. V. **Segregação de caracteres morfológicos em *Mentha piperita*.** Monografia de Graduação, UnB, 23 p. 2003.

MATTOS, S. H. *et al.* **Época de Colheita de Hortelã-Rasteira (*Mentha x villosa* Huds).** II Congresso Brasileiro de Medicina e Terapias Naturais, p. 87. 1996.

MAUSETH, J. **Plant Anatomy.** Inglaterra: Pergaman-Press, 1988. 588 p. 1988

MELO, F. X. & FREIRE, M. N. **Caracterização morfológica e reprodução rápida via estaquia de hortelã rasteira (*Mentha x villosa*).** Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Monografia de Graduação em Engenharia Agrônômica. 25 p. 2006.

MINZEN. ***Mentha x villosa* Huds. var. *alopecuroides* (Hull.) Briq.** in: *Bull Herb. Boissier* 4: 679. 1896. häufig bezeichnet als: Apfelminze, rundblättrige Minze. Disponível em: [www.minzen.com/mentha354.jpg](http://www.minzen.com/mentha354.jpg). Acesso em 16 dezembro 2007.

NASCIMENTO, M. M. *et al.* **Fenologia da hortelã-rasteira (*Mentha x villosa* Huds.).** II Congresso Brasileiro de Medicina e Terapias Naturais, p. 83. 1996.

NASCIMENTO, M. M., MATTOS, S. H., CHAVES, F. C. M., MATOS, F. J. A., FREITAS, J. B. S. & INNECO, R. **Espaçamentos em hortelã rasteira (*Mentha x villosa* Huds.).** II Congresso Brasileiro de Medicina e Terapias Naturais, p. 85. 1996.

PAGE, M., STEARN, W. T. **Hierbas para cocinar**. Manuales Jardín Blume. BLUME. The Royal Horticultural Society. Barcelona, Espanha. 62 p. 1992.

PEGORARO, R. L. **Avaliação do crescimento e produção de óleos essenciais em plantas de *Mentha x piperita* L. var *piperita* (Lamiaceae) submetidas a diferentes níveis de luz e nutrição**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

SOUSA, P. J. C., LEAL-CARDOSO, J. H., MAGALHÃES, P. J. C., LIMA, C. C., OLIVEIRA, V. S., ANDRADE, L. A. P. **Effects of piperitenone oxide on the intestinal smooth muscle of the guinea pig**. XI Reunião da Federação das Sociedades de Biologia Experimental, Caxambu, MG, Resumo. 1996.

SANTANA C. F., ALMEIDA E. R., DOS SANTOS R & SOUZA I. A. **Actions of *Mentha crispata* hydroethanolic extract in patients bearing intestinal protozoan**. *Fitoterapia*, 63: 409-410. 1992.

SILVA, A. C. P. **Estudo da variação morfológica da hortelã miúda (*Mentha x villosa*, H.) comercializada no Distrito Federal**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Monografia de Graduação em Engenharia Agrônômica. 23 p. 2005.

SILVA, R. L. C. **Giamebil® *Mentha crispata* L. Medicamento Fitoterápico Tradicional**. Documento informativo. 2 p. 2007.

TAVARES, H. M.; CERQUEIRA V. D. **Caracterização morfológica de acessos de Hortelãzinho cultivados em estufa**. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. Monografia de Graduação em Engenharia Agrônômica. 28 p. 2007.

TURNER, G. W.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. B. **Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint**. *Plant Physiology*, v. 124, p. 655 – 663. 2000.

TURNER, G. W ; CROTEAU, R. **Organization of monoterpene biosynthesis in Mentha. Immunocytochemical localization of geranyl diphosphate synthase, limonene-6- hidroxylase, isopiperitenol dehydrogenase, and pulegone reductase.** Plant Physiology, v.136, p. 4215- 4227, 2004.

VIEIRA, M.C., ZARATE, N. A H , RAMOS, M. B. M. **Produção de biomassa de Mentha x villosa Huds e Mentha cf. longifolia Huds, em função de cama-de-aviário semidecomposta e de épocas de colheita.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu-SP, v. 4, n. 2, p. 25-29, 2002.

WATANABE, S. **Morphological observations on the gland hairs or oil gland of leaf surface in some aromatic plants.** Journal Yamagata Agriculture and Forestry Society, Tsuruoka, v.50, p.73-76, 1993.

## **CAPÍTULO II:**

### **ANÁLISE QUANTITATIVA E QUALITATIVA DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEIS ACESSOS DE HORTELÃ**

#### **RESUMO**

Seis acessos de *Mentha aff. villosa* foram analisados quanto ao perfil de aromáticos e o rendimento em óleo essencial e biomassa fresca e seca. O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelhos de Clevenger modificados. Para avaliação da composição dos óleos dos exemplares de *Mentha*, foi utilizado um cromatógrafo a gás Agilent 6890N em coluna capilar HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25µm). A temperatura do forno foi de 60° a 240°C a 3°C/min e o hidrogênio foi o gás carreador (1,4 ml/min). Foi injetado 0,05µm de óleo puro no modo split (1: 100, injetor a 250°C). A análise comparativa do perfil de substâncias aromáticas do grupo de mentas afins de *Mentha x villosa* Huds, sob cultivo protegido em Brasília, confirma resultados anteriores que descreviam a inter-fertilidade entre as espécies *M. spicata*, *Mentha suaveolens* e *Mentha x villosa*, mediante a detecção de tipos intermediários quanto à morfologia e o perfil de substâncias aromáticas.

#### **YIELD AND QUALITY OF SIX MINT ACCESSES ESSENTIAL OIL**

##### **ABSTRACT**

Six accessions of *Mentha aff. villosa* were analyzed for aromatic profile and yield of essential oil (EO) and fresh weight and dry weight of leaves and aerial part. The EO was extracted by hydro-distillation with modified Clevenger device. The chromatography was done by Agilent 6890N with capilar column HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25µm). The oven temperature was 60° a 240°C a 3°C/min and the hydrogen was the gas (1,4 ml/min), and 0,05µm of pure oil were injected in the split (1: 100, injector at 250°C). The comparative analysis of the accesses close to *Mentha x villosa* Huds under glasshouse in Brasília confirmed the inter-fertility between *M. spicata*, *Mentha suaveolens* and *Mentha x villosa* by the detection of intermediate forms based on the morphology and aromatic profile.

## **1. Introdução**

Há milhares de anos, os óleos essenciais vem sendo extraídos de plantas e usados nas indústrias de perfumes, cosméticos e fármacos de uso medicinal.

Com sabor e aroma refrescantes, as mentas ou hortelãs destacam-se pelo uso culinário ou em chás medicinais, para combater parasitas intestinais e distúrbios digestivos (Lorenzi & Matos, 2002). As glândulas oleíferas, principalmente das folhas, concentram óleos voláteis ricos em terpenóides de amplo interesse industrial, em produtos farmacêuticos, alimentícios, cosméticos e aromatizantes do tabaco.

Várias espécies de *Mentha* têm sido investigadas, tanto por suas atividades biológicas como também pelos óleos essenciais produzidos por suas folhas. O gênero *Mentha* L., família Labiatae, da subfamília Nepetoideae e da tribo Mentheae, consiste aproximadamente de vinte e cinco espécies. A espécie *Mentha villosa* é uma erva cultivada em todo o Brasil e é usada como remédio popular no tratamento de amebíase, giardíase e shistosomíase (Oliveira & Brás, 2001).

## **2. Objetivo**

Avaliar quantitativamente e qualitativamente o óleo essencial presente nos diferentes acessos de hortelãzinho comercializados em feiras.

### **3. Revisão Bibliográfica**

#### **3.1. Óleos essenciais**

Os óleos essenciais podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos devido à solubilidade em éter, ou essências pelos seus aromas característicos.

De acordo com a ISO (International Standard Organization), óleos voláteis são produtos obtidos de partes de plantas através da destilação. São geralmente voláteis e lipofílicos, diferindo dos óleos fixos que são misturas de substâncias lipídicas obtidas normalmente de sementes (Castro, 2007).

A designação de óleo se dá devido a algumas características físico-químicas usadas em sua identificação e controle de qualidade, como a de serem líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, voláteis com aroma agradável e intenso, solúveis em solventes orgânicos apolares, geralmente incolores ou ligeiramente amarelados, não são estáveis em presença de luz, ar, calor umidade e metais (Garlet, 2007)

##### **3.1.1. Biossíntese dos compostos do óleo essencial**

Os produtos secundários de plantas podem ser divididos em grupos de acordo com o modo de biossíntese: Terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo componentes nitrogenados (Figura 2.1). Terpenos são lipídeos sintetizados através do Acetil CoA na via do ácido mevalônico. Compostos fenólicos são substâncias aromáticas formadas na via do ácido chiquímico ou do ácido mevalônico em vários caminhos. Os compostos contendo nitrogênio como alcalóides, são biossintetizados primeiramente, através dos aminoácidos (Taiz & Zeiger, 1991).

Os terpenos ou terpenoides compreendem a larga classe de produtos secundários. As substâncias dessa classe são geralmente insolúveis em água e são unidas por sua comum origem biossintética.

Quimicamente, a grande maioria dos óleos voláteis é formada a partir de derivados de fenilpropanoides, a partir do ácido chiquímico ou terpenoides a partir do isopreno. A maior parte das moléculas que ocorrem em óleos essenciais tem até 12 átomos de carbono, isto permite uma maior volatilidade e diversidade de estruturas. Muitas destas moléculas são terpenos, classe de compostos orgânicos baseados na unidade de isopreno, C<sub>5</sub>H<sub>8</sub> (Atkins, 2000).

Os óleos essenciais das mentas são ricos em terpenos. A biossíntese dos terpenos ou terpenoides envolve a rota do ácido mevalônico e a rota do metileritrol fosfato (rota do MEP) (Garlet, 2007). Na rota do ácido mevalônico, a síntese ocorre no citoplasma das células secretoras dos tricomas peltados, sendo que para formar o ácido mevalônico, três moléculas de acetil CoA sofrem várias reações, passando por processos de fosforilação descarboxilação e desidratação formando o IPP - Isoprenil difosfato (Castro, 2007). A rota do MEP ocorre nos cloroplastos e utiliza como matéria prima os intermediários da glicose ou da redução do carbono por meio da fotossíntese para originar o DMAPP – Dimetilalildifosfato (Castro, 2007).

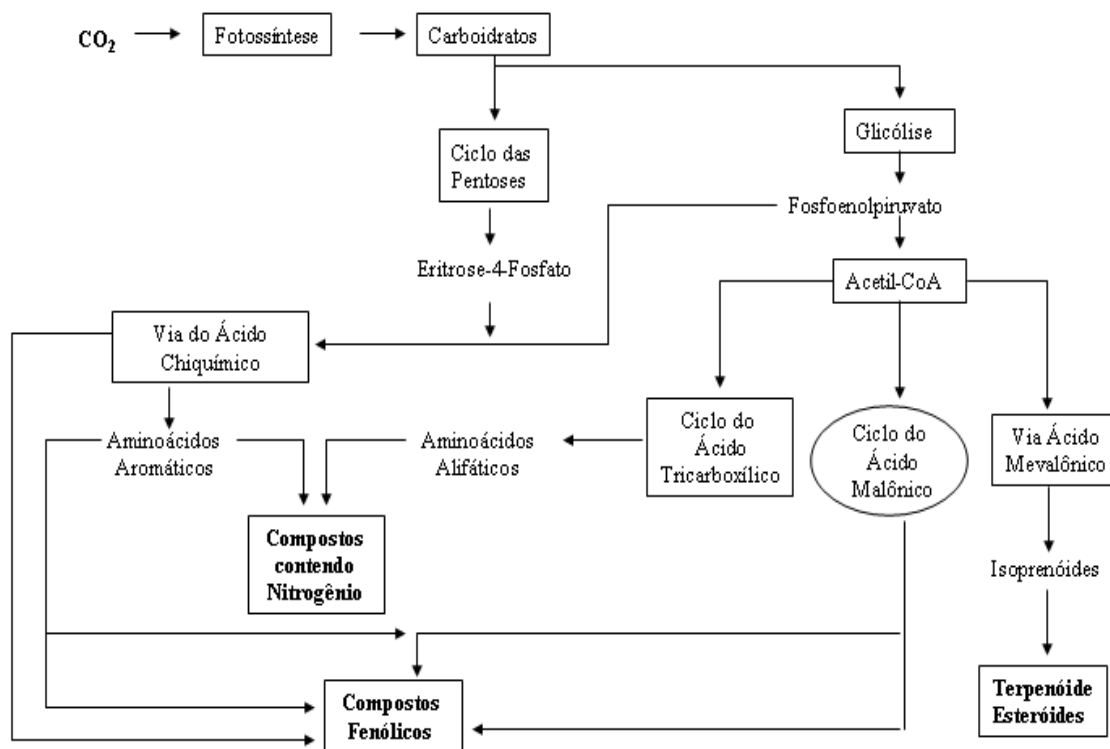


Figura 2.1: Biossíntese dos principais metabólitos secundários de plantas de interesse para agricultura e medicina (adaptado de Taiz & Zeiger, 1998).

Estes compostos resultantes destas rotas são isômeros e se unem para formar geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a partir da qual são formados monoterpenos. O GPP pode se ligar a outra molécula de IPP, formando o farnesil difosfato (FPP), composto de 15 carbonos e precursor dos sesquiterpenos (Garlet, 2007).

Compostos terpenoides representam a segunda classe com maior número de compostos ativos, sendo subdivididos em várias subclasses: monoterpenos (10 átomos de carbono), sesquiterpenos (15), diterpenos (20), sesterpenos (25), triterpenos (30) e



tetraterpenos (40) (Figura 2.2). Moléculas componentes de diversos óleos essenciais estão entre os monoterpenos, por exemplo: cineol, linalol, cânfora e carvacol (DiStasi, 1996).

Os tricomas glandulares de mentha sintetizam óleos constituídos principalmente de monoterpenos, com pouca quantidade de sesquiterpenos. A biossíntese destes monoterpenos ocorre a partir do precursor GPP e por sucessivas reações enzimáticas envolvendo sintases, hidroxilases, desidrogenases, redutases e isomerases, são originados linalol e seu éster acetato de linalila, 1,8-cineol, sabineno, hidrato de sabineno e limoneno (Figura 2.3). O limoneno é precursor da carvona; e a partir de reações sucessivas, a pulegona pode formar mentofurano, mentona, isomentona, mentol e seus isômeros e acetato de metila (Garlet, 2007).

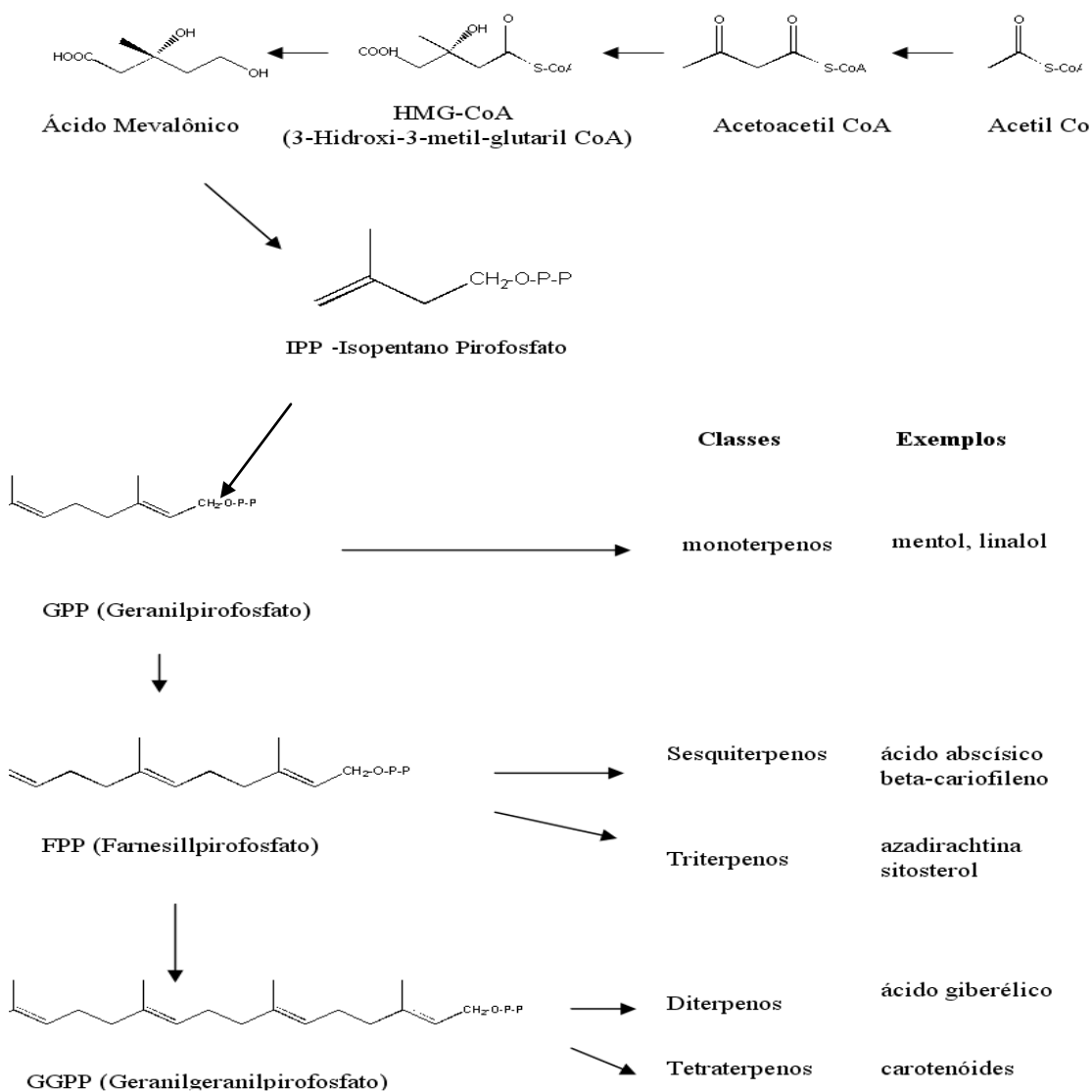


Figura 2.2: Biossíntese dos compostos a partir do precursor GPP (adaptado de Garlet, 2007).

Estes óleos possuem em sua composição vários compostos que variam de planta para planta. Na espécie *Mentha x villosa*, estudos de seu óleo essencial destilado a vapor de suas folhas demonstram que este é rico em óxido de piperitenona (55,4%) e  $\gamma$ -muuroleno (13,1%). Almeida (1994) e Lima *et al.* (1994) em estudos de identificação de princípio ativo de *Mentha x villosa*, relataram a atividade de seu óleo essencial, indicando elevado teor de óxido de piperitenona, além de outros 23 constituintes em menores concentrações.

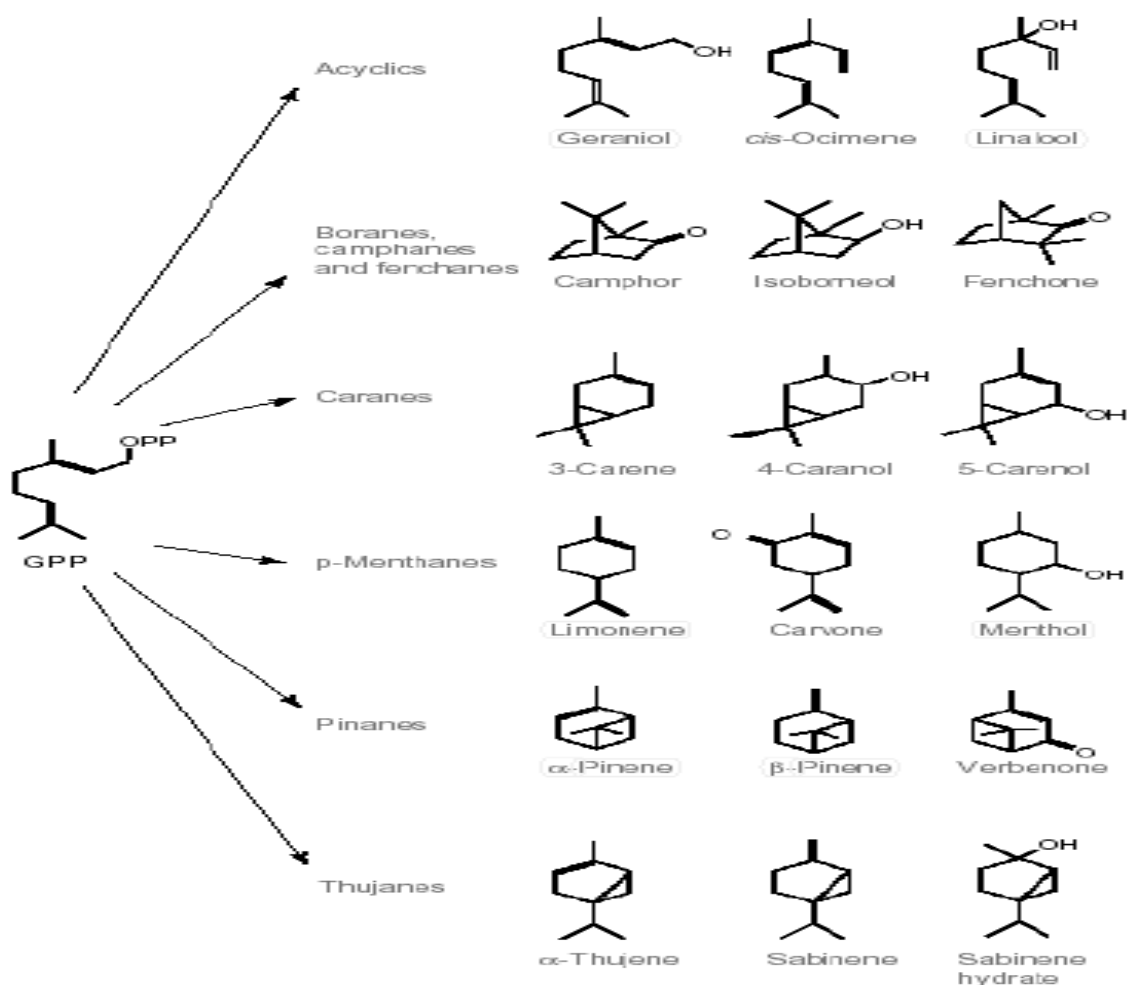


Figura 2.3: Compostos formados a partir do GPP.

### 3.2. Nomenclatura

A utilização de óleos essenciais de plantas é grande em indústrias de perfumes e fragrâncias e medicinal. Em muitos casos o pesquisador bate de frente com o problema de identificação dos numerosos componentes em muitas misturas complexas. Os óleos voláteis são compostos basicamente de terpenoides – mono, sesqui e diterpenos- mais

vários álcoois, cetonas aldeídos. Muitos dos componentes dos óleos essenciais são comuns a muitas espécies ( alfa-pineno, limoneno, mircendo, etc.) (Adams, 2007).

Nas espécies de *Mentha* encontramos muitos compostos, tendo como principais o Limoneno, a Carvona, 1,8 cineol, Óxido de piperitenona e Germacreno D.

### 3.2.1. Limoneno

O Limoneno ( $C_{10}H_{16}$ ) é um carboidrato natural, cíclico e insaturado, fazendo parte da família dos terpenos (Figura 2.4). Apresenta-se à temperatura ambiente como um líquido, límpido, incolor e oleoso. No últimos anos tem adquirido uma importância fundamental devido a sua demanda como solvente biodegradável. Além de solvente industrial também apresenta aplicações como componente aromático e, é usado amplamente na síntese de novos compostos. O limoneno pode ser considerado um agente de transferência de calor limpo e ambientalmente inócuo, pelo qual é utilizado em muitos processos farmacêuticos e de alimentos. O limoneno é usado, por exemplo, em dissolventes de resinas, pigmentos, tintas, na fabricação de adesivos, etc. Também é usado pelas indústrias farmacêuticas e alimentícias como componente aromático e para dar sabor (flavorizantes), na obtenção de sabores artificiais de menta e na fabricação de doces e chicletes. (Santos *et al*, 2004).

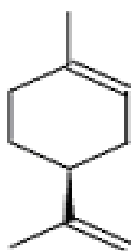


Figura 2.4: Estrutura química do Limoneno

Por possuir um centro quiral, concretamente um carbono assimétrico, apresenta isomeria óptica. Portanto, existem dois isômeros ópticos: o D-limoneno e o L-limoneno (Figura 2.5). A nomenclatura IUPAC correta é R-limoneno e S-limoneno, porém se emprega com mais frequência os prefixos D e L ou alfa e beta.

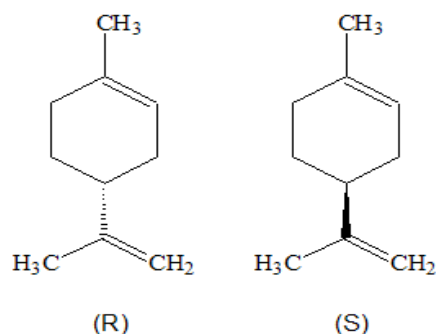


Figura 2.5: Estrutura química dos isômeros ópticos (R e S) do Limoneno.

### 3.2.2. Carvona

A carvona é uma cetona terpênic com propriedades odoríferas e sápidas (Figura 2.7) e encontra-se na natureza na forma de dois isômeros ópticos (R e S). A forma **R** é o componente principal do óleo de hortelã (Figura 2.6), enquanto que a **S** é o componente principal das sementes do cominho (Queiroz, 2002). A S- carvona é um *flavour* amplamente utilizado na manufatura de dentifrícios, enquanto que a R- carvona é utilizada na indústria alimentícia (Olsen *et al*, 2004).



Figura 2.6: Estrutura química dos isômeros ópticos (R e S) da Carvona.

É um composto natural que veicula o cheiro e o sabor de mentol. A carvona é usada como carminativa e em produtos cosméticos, mas em alguns estudos foi demonstrada sua atividade bactericida e fungicida (Santos *et al*, 2004).

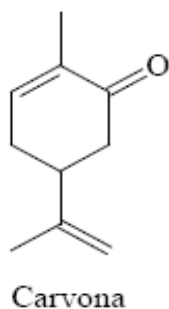


Figura 2.7: Estrutura química da Carvona

### 3.2.3. 1,8 cineol

O 1,8-cineol, também conhecido como eucaliptol, é uma substância natural produzida pelo metabolismo secundário de várias plantas, sendo encontrado em óleos essenciais obtidos das folhas de várias espécies de *Eucalyptus* spp (Figura 2.8). Esse composto possui diversas aplicações terapêuticas como no tratamento de reumatismo, tosse e asma brônquica. Possui efeito germicida útil na pediculose. O 1,8-cineol apresenta atividade relaxante da musculatura lisa do intestino e das vias respiratórias (Santos. 2005). Este monoterpreno é um dos principais compostos do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* Labill de grande interesse para as indústrias, pois a A hidroxilação da molécula do 1,8 cineol é importante para obtenção de novos aromas (Almeida, 2005). Neves (2007) relata em seu estudo com *Croton nepetaefolius* Baill, comumente usada na medicina popular para distúrbios do trato gastrointestinal, que o 1.8 cineol diminui a complacência gástrica em ratos anestesiados além de apresentar efeitos hipotensor e bradicárdico; provavelmente por ação direta sobre a musculatura lisa gastrointestinal e vascular e modulação do sistema nervoso autônomo.

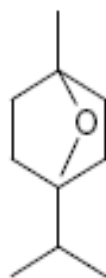


Figura 2.8: Estrutura química do 1,8 cineol.

### 3.2.4. Óxido de piperitenona

O óleo essencial da *Mentha x villosa*, destilado a vapor de suas folhas, é rico em óxido de piperitenona (55,4%) e  $\gamma$ -muuroleno (13,1%). Segundo estudo realizado por Matos *et al.* (1999), o óxido de piperitenona (uma cetona monoterpênica) também é um importante constituinte dos óleos essenciais de muitas outras espécies de *Mentha*, como a *Mentha longifolia*, *M. rotundifolia*, *M. suaveolens* e *M. spicata* L (Sousa *et al.*, 1997). Estudos de identificação de princípio ativo de *Mentha x villosa*, relataram a atividade de seu óleo essencial, indicando elevado teor de óxido de piperitenona (Almeida, 1994; Lima *et al.*, 1994), além de outros 23 constituintes em menores concentrações (Craveiro *et al.*, 1990; Hiruma, 1993)

O oxido de piperitenona, é um composto excelente como amebicida e giardicida, sendo largamente utilizado pela população rural com esta finalidade e podendo ser empregada na industria farmacêutica como agente antivermífugo (Innecco *et al*, 2003). Magalhães (2002) relata que o óleo de *Mentha x villosa* é farmacologicamente ativo em células lisas e esqueléticas, segundo ele o principal componente deste óleo, o óxido de piperitenona, se mostrou ativo sobre diversas preparações biológicas inclusive sobre o músculo liso intestinal de cobaias com efeitos antiespasmódicos.

### 3.2.5. Germacreno D

Germacreno D é um sesquiterpeno (Figura 2.9). Segundo Kokkalou *et al* (1992) este composto possui forte ação sobre insetos como atrativos, imitando um feromônio sexual. Castro (2004) em seu experimento analisando a atividade inseticida de óleos essenciais de *Achillea millefolium* e *Thymus vulgaris* sobre *Spodoptera frugiperda* e *Schizaphis graminum* confirma a atividade atrativa destes óleos devido ao composto germacreno D, pois o esqueleto deste composto imita feromônios sexuais de insetos. Strandén *et al.* (2002) observam que a mariposa *Helicoverpa armigera* apresentam em maior quantidade neurônios receptores que demonstram alta sensibilidade a seletividade ao sesquiterpeno Germacreno D..

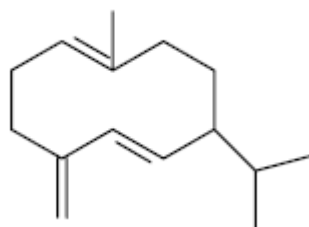


Figura 2.9: Estrutura química do germacreno D

### 3.3. Função dos óleos essenciais

As plantas representam uma importante fonte de alimentos para os animais e seu valor nutricional tem sido estudado por décadas. Além dos metabólitos primários, as plantas são capazes de produzir, transformar e acumular ;uma grande variedade de compostos orgânicos que parecem não ter função direta no crescimento e

desenvolvimento. Essas substâncias são conhecidas como metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais (Garlet, 2007).

Os metabólitos secundários, embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens adaptativas à sobrevivência e à perpetuação da espécie, em seu ecossistema. Muitas funções ecológicas foram reconhecidas, como a defesa contra herbívoros e infecção por microrganismos, proteção contra raios ultravioleta, efeitos alelopáticos, atração de animais polinizadores, dispersores de sementes e participa do mecanismo de resistência regulando a transpiração (Garlet, 2007).

Terpenos são toxinas que impedem um grande número de ataques de insetos e de animais e parece ter importante defesa no reino vegetal. Em coníferas o acúmulo de monoterpenos se dá em ductos de resina. Os principais monoterpenos de coníferas são alfa pineno, beta pineno, limoneno e mirceno. Estes componentes são tóxicos para um grande número de insetos, incluindo bezouros, que são sérias pragas de coníferas ao redor do mundo. (Taiz & Zeiger, 1991).

Metnta, limão e manjeriço são exemplos de plantas contendo óleo essencial e que tem conhecida propriedade repelente. O cheiro da hortelã repele lepidópteros, tipo borboleta-de-couve, sendo seu plantio recomendado em bordas de hortas e lavouras (Cardoso *et al.*, 2001). Eles são frequentemente encontrados em tricomas glandulares que são projeções para fora da epiderme e serve para “anunciar” a toxicidade da planta repelindo potenciais herbívoros depois de uma mordida. Contudo estes óleos essenciais são importantes comercialmente como aromatizante de comidas e em fabricações de perfumes (Taiz & Zeiger, 1991).

### **3.4. Utilização dos óleos essenciais**

#### **3.4.1. Histórico da utilização dos óleos essenciais**

Na planta, a produção deste composto está relacionada à manutenção de sua sobrevivência atraindo ou afastando insetos (Martins *et al.*), contudo o aroma característico de cada óleo vem atraindo cada vez mais a atenção de pesquisadores que procuram avaliar seus efeitos em nosso organismo, também por parte da indústria interessada em seus aromas.

O uso de plantas aromáticas (inteiras ou suas partes como folhas, cascas, sementes e seus produtos extrativos como as resinas), é tão antigo quanto a história da humanidade, sendo empregadas na medicina, na cosmética e em cerimônias religiosas.

A história da extração de óleo essencial não tem um início exato conhecido. Acredita-se que há muitos séculos atrás estes óleos foram usados como bálsamos, ervas aromáticas e resinas em cerimônias religiosas.

Há relatos chineses do uso de essências em 2700 A.C, no mais antigo livro de ervas do mundo. O Egito parece ser o berço da arte de obtenção de óleos essenciais através da destilação, apesar de existirem poucas referências atuais disso. Os egípcios utilizavam os óleos essenciais em massagens para embelezar e proteger a pele do clima árido e para embalsamar os mortos, mostrando que conheciam suas propriedades antisépticas. Estes conhecimentos espalharam-se para os antigos gregos e destes para os romanos, que eram ótimos perfumistas. (Marques, 2007).

Todo esse conhecimento se difundiu durante as cruzadas principalmente entre os árabes. Podemos citar como exemplo o caso do médico árabe Avicena, que descobriu a técnica da destilação sendo o primeiro a extrair óleo de rosas (Marques, 2007).

A partir daí novas técnicas foram desenvolvidas para separar os óleos essenciais e a comercialização destes compostos se popularizou pelo mundo nos séculos XVI e XVII, devido ao nível de tecnologia e também ao conhecimento de suas propriedades jamais divulgados e explorados no mundo.

No século XX, os óleos tornaram-se também um aliado da medicina em várias áreas, como na Aromaterapia. Este termo foi criado por um químico francês conhecido como Maurice René de Gattefossé, quando em uma de suas destilações ele sofreu um acidente e teve seus braços seriamente queimados. Em meio ao pânico, emergiu-os em uma tina de lavanda, que até então pensava ser água. Notou que em poucos minutos sua dor havia passado e dias mais tardes não tinha mais cicatrizes. Passou a explorar mais as propriedades curativas desse óleo, ao contrário de antes, que só os usava como produto para seus perfumes. Atualmente é muito grande o número de plantas conhecidas para a produção de óleos essenciais em bases econômicas. Tal ocorrência vai desde plantas rasteiras, como é o caso da hortelã, até plantas de arbóreas, como o caso do eucalipto (Vitti & Brito, 2003).

Estes produtos são utilizados principalmente por indústrias de perfumes e domissanitários. Atualmente muitos destes compostos são obtidos sinteticamente, por razões econômicas, por dificuldade na continuidade da obtenção das plantas produtoras,



bem como pelo interesse na obtenção de novos componentes aromáticos. Contudo, a busca pelo naturalismo tem feito crescer a demanda pelo produto original obtido diretamente das plantas. Além do mais há dificuldades para que os aromas sintéticos se aproximem da perfeição dos aromas naturais (Vitti & Brito, 2003).

### **3.4.2. Utilização do óleo de Mentha**

No Brasil a Menta passou a ser cultivada em pequena escala pelos primeiros imigrantes japoneses, no começo do século (Leal, 2001), contudo, as restrições impostas aos produtores japoneses durante a Segunda Guerra Mundial causaram escassez do óleo de menta e do mentol no mundo todo, elevando seus preços e estimulando os agricultores japoneses imigrados para o Brasil a cultivarem a menta em escala industrial. Assim o Brasil passou a ter grande importância mundial na produção deste óleo essencial, alcançando em pouco tempo o nível de grande produtor e exportador de óleo essencial e mentol (Leal, 2001).

O gênero *Mentha* ocupa posição de destaque na produção de óleos essenciais, devido ao grande interesse das indústrias farmacêutica, alimentícia e perfumaria por compostos como menthol e linalol (Castro, 2007).

Nos Estados Unidos, China e Índia as espécies pertencentes a este gênero são cultivadas em larga escala. Em 2005 a produção mundial de óleo essencial destas espécies foi de aproximadamente 22,2 mil toneladas, com faturamento de US\$ 276 milhões e deste total 57% foi produzido na Índia. Para 2010 a expectativa é que a produção chegue a 29,7 mil toneladas de óleo essencial (Castro, 2007).

No Estado do Paraná, a produção de mentha teve início na década de 1960. Neste período o cultivo de uma variedade desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas ocupou a maior área de cultivo, quando o Brasil ocupou posição de destaque na produção de mentol. Ao longo do tempo, devido principalmente ao surgimento do mentol sintético e problemas fitossanitários nas espécies, como ocorrência de ferrugem, houve grande declínio na produção nacional. Na safra de 2003/2004, a área de plantio de Estado do Paraná ficou em torno de 100 ha. Atualmente, a pequena produção estadual atende o mercado interno que utiliza a matéria seca para chá, não sendo utilizada comercialmente para a extração de óleo essencial (Castro, 2007).

### **3.5. Extração de óleos essenciais**

Os óleos essenciais são encontrados em várias plantas e são abundantes especialmente nas labiadas, mirtáceas, coníferas, rutáceas, lauráceas e umbelíferas (Lavabre, 1993).

Os métodos de extração empregados no passado eram bem simplificados e os produtos obtidos a partir destes nem sempre eram óleos 100%. Contudo com a tecnologia que temos hoje somos capazes de extrair óleos essenciais de extrema pureza e qualidade.

Existem diversas formas de obtenção de óleos essenciais que dependem de fatores como: local de planta onde o óleo está armazenado, se é apenas óleo volátil ou misturado a óleo fixo e o volume do óleo a ser extraído. É importante deixarmos claro que conforme o método empregado para a extração de um óleo, suas características poderão ser alteradas fazendo com que seus efeitos terapêuticos alterem-se junto (Lavabre, 1993). A destilação é o processo mais comum para a extração de óleos essenciais, além de ser um processo primitivo de extração, conhecido, possivelmente desde o século III d.C (Zoghbi, *et al.*, 2000)

A extração de óleos essenciais de folhas em escala industrial, em geral, é feita por destilação por arraste de vapor, enquanto que em laboratórios, o mais comum é a hidrodestilação, sendo usada algumas vezes a extração por solventes. Outro método promissor, ainda pouco usado para a extração de óleos essenciais, é a extração com fluido supercrítico.

#### **3.5.1. Destilação por arraste de vapor**

A destilação por arraste de vapor é um método utilizado para isolamento e purificação de substâncias, aplicável em líquidos imiscíveis em pequeno grau. (Vogel, 1971).

Normalmente é empregado para se obter óleos essenciais de folhas e ervas, mas nem sempre é indicado para extrair o óleo essencial de sementes, raízes e madeiras (Lavabre, 1993).

Os óleos voláteis possuem pressão de vapor mais elevada do que a água, por isso são arrastados por ela. O óleo, após a extração e separação da água, deve ser seco com

sulfato de sódio anidro. Este método é usado preferencialmente para a extração de óleos essenciais de plantas frescas (Simões & Spitzer, 2003).

O equipamento para a destilação por arraste de vapor consiste em extrator, coletor, condensador e caldeira. As folhas são acondicionadas no extrator, a caldeira fornece vapor d'água que entra pelo lado inferior da caldeira e atravessa as folhas, carregando o óleo até o condensador, onde a mistura de água e óleo é resfriada, condensada e é recolhida no coletor (Pimentel & Silva, 2000).

A água que sobra de todo este processo após retirado o óleo, denominada destilado, hidrosol ou de hidrolato, retém muito das propriedades terapêuticas da planta, mostrando-se útil tanto em preparados para a pele, como até mesmo de uso oral no tratamento da saúde interna (Lavabre, 1993).

### **3.5.2. Hidrodestilação**

A hidrodestilação é o método mais utilizado em escala laboratorial e se divide em duas técnicas: arraste a vapor e coação (recirculação de água condensada) (Santos *et al*, 2004)

É um método usado em pequena escala. O material a ser extraído é aquecido junto com água como em um chá, empregando-se o sistema de Clevenger modificado (Santos *et al*, 2004). O óleo obtido é separado da água por diferença de densidade e, em seguida, pode ser seco com sulfato de sódio anidro. Este método é usado para extrair óleo de plantas frescas e secas (Simões & Spitzer, 2003).

Craveiro (1981) utiliza uma corrente de vapor d'água com ou sem pressão, passando através do material, arrastando os produtos voláteis existentes. O aquecimento promove a ebulição do óleo essencial devido ao seu menor ponto de ebulição. O vapor é conduzido a um condensador, onde o óleo evaporado condensa-se e é recolhido no aparelho de Clevenger. Em seguida, recolhe-se a mistura de substâncias orgânicas imiscíveis em água, das que são separadas da água por decantação.

### **3.5.3. Extração com solventes**

A extração com solventes é uma técnica de separação de um composto orgânico de uma solução. Os fatores que podem interferir na extração como a estrutura histológica das partes que compõem a planta, a consistência dos tecidos e a infiltração do solvente,

devem ser considerados. A seleção do solvente depende da solubilidade da substância a ser extraída, da facilidade da separação do solvente e da substância e da seletividade do solvente (Vogel, 1971; Simões & Spitzer, 2003).

Os fatores relacionados à extração com solventes são a agitação, a temperatura e o tempo de extração. O aumento da temperatura aumenta a solubilidade, mas nem sempre os métodos de extração a quente podem ser usados. O tempo de extração varia em função da rigidez do material utilizado. A extração por solvente pode ser realizada a frio como na maceração ou a quente por infusão, extração sob refluxo e em aparelhos de Soxhlet (Simões & Spitzer, 2003).

#### **3.5.4. Fluido supercrítico**

Outra forma de extração de óleos essenciais, ainda apenas experimentalmente, é a extração utilizando gás carbônico (CO<sub>2</sub>) superfluido. Esta é uma forma de extração onde a usual fase líquida é substituída por fluido supercrítico, substância acima de seu ponto crítico. Este fluido não é nem um líquido, nem um gás verdadeiro, tem propriedades dos dois estados. Fluidos supercríticos possuem coeficiente de difusão próximos aos dos gases, transportando substâncias rapidamente. A baixa viscosidade permite sua passagem por pequenas aberturas arrastando substâncias. A pressão pode ser um meio efetivo de controle da força de eluição (Bevan, 1994).

O CO<sub>2</sub> supercrítico é obtido através da compressão do gás pelo aquecimento a 31°C. Desta forma, o CO<sub>2</sub> tem viscosidade análoga à de gás com capacidade de dissolução elevada como um líquido. Ao fim da extração o CO<sub>2</sub> volta ao estado gasoso sendo totalmente eliminado como gás (Simões & Spitzer, 2003).

As vantagens do uso de CO<sub>2</sub> supercrítico são a baixa toxicidade, baixo custo após implantação, falta de reatividade e inflamabilidade e como desvantagens, podem ser citadas: o alto custo dos equipamentos e a falta de tecnologia para uso contínuo. O CO<sub>2</sub> supercrítico tem sido usado industrialmente para produção de café descafeinado e para remoção da nicotina do tabaco (Friedrich, 1984).

### 3.6. Análise da composição química dos óleos essenciais

A cromatografia é um processo físico químico de separação de constituintes em uma mistura. Os componentes voláteis de misturas podem ser separados por cromatografia gasosa. O perfil cromatográfico é aplicado em análises de identificação e também permite interferências sobre a pureza do material (Fariaz, 2003).

A cromatografia é um método físico de separação no qual os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases: fase estacionária e a fase móvel, A amostra é transportada por uma corrente de gás através de uma coluna. O fluxo de gás passa por uma coluna através da qual os componentes da amostra se deslocam a velocidades influenciadas pelo grau de interação de cada componente com a fase estacionária não volátil. Para colunas capilares utiliza-se uma câmara de injeção separada onde somente uma pequena parte da amostra vaporizada é transferida à coluna. Isso é necessário para não sobrecarregar a coluna com volume de amostras. As substâncias que tem maior interação com a fase estacionária são retidas por mais tempo e, por tanto, separadas daquelas de menor interação. À medida que as substâncias eluem da coluna são quantificadas por um detector (HIQr – Produtos, equipamentos e serviços de gases especiais).

Os componentes detectados são representados em gráficos chamados cromatogramas. Cada composto tem um tempo de retenção para uma coluna específica em condições padronizadas em relação a um composto padrão. Assim, cada composto é separado. A porcentagem de um composto presente no óleo essencial é proporcional à área de pico no cromatograma. Desta forma, tem-se a indicação dos componentes presentes da quantidade de cada um nas amostras (Araujo, 1999).

A espectrometria de massa é uma técnica analítica poderosa que associada à cromatografia gasosa é utilizada para identificar compostos desconhecidos e quantificar compostos conhecidos, além de ajudar na elucidação da estrutura das moléculas. É uma técnica de impacto de elétrons. As moléculas na fase de vapor são bombardeadas por um feixe de elétrons de alta energia, a maior parte dos íons formados tem carga unitária, estes íons são registrados pelo detector e separados na razão massa/ carga ( $m/Z$ ) (Siltestein & Webster, 2000).

## **4. Material e Método**

### **4.1. Coleta do Material**

Decorrido 100 dias (Figura 2.10), os exemplares foram coletados (folhas e talo), armazenados em saco de papel, pesados e secos em estufa de ar circulante a 38°C por uma semana, após o qual foram novamente pesados, as folhas foram retiradas dos ramos e pesadas separadamente (Figura 2.11).

### **4.2. Extração do óleo essencial**

O óleo essencial foi extraído por hidrodestilação em aparelhos de Clevenger modificados (Figura 2.12), onde foram colocadas as folhas secas em balões de dois litros, com um litro de água filtrada, por uma hora, após o início da destilação, de acordo com adaptação realizada a partir de Selatino e Silva, (1975); Smith e Kassim, (1979); Charles e Simon, (1990); Martins *et al.*, (1998).

### **4.3. Análise dos dados**

#### **4.3.1- Rendimento de óleo essencial**

O rendimento de óleo essencial de cada amostra foi calculado através da fórmula:

$$R = \frac{\text{volume de óleo (ml)}}{\text{Peso seco (g)}} \times 100$$

Onde:

R= rendimento de óleo essencial 1%

Volume de óleo = volume de óleo extraído

Peso seco = quantidade de folhas utilizadas na extração.

#### **4.3.2- Cromatografia Gasosa – CG**

Para avaliação da composição dos óleos dos exemplares de *Mentha*, foi utilizado um cromatógrafo a gás Agilent 6890N em coluna capilar HP-5 (25m x 0,32mm x 0,25µm). A temperatura do forno foi de 60° a 240°C a 3°C/min e o hidrogênio foi o gás carreador (1,4 ml/min). Foi injetado 0,1ml de óleo essencial com 1,5ml de diclorometano (Figura 2.13) no modo split (1: 100, injetor a 250°C).

### 4.3.3- Identificação dos constituintes

A identificação dos constituintes dos óleos foi baseada nos espectros de massa obtidos em comparação com os dados da biblioteca Wiley 6th ed. (pertencente ao programa do espectrômetro de massa Agilent 5973N); seus índices de retenção calculados (IR) foram comparados com dados de Adams (1995); e os Índices de Kovats(IK). O Índice de Kovats foi calculado utilizando os dos tempos de retenção obtido na cromatografia gasosa e pela interpolação logarítmica da série homóloga de n-alcenos como padrões, segundo a fórmula abaixo:

$$IK = \frac{\text{Log TR subs}}{\frac{\text{TR Cn}}{\text{Log TR Cn+1} - \text{Log TR Cn}}} + Cn \times 100$$

Onde:

TR subs= o tempo de retenção da substância;

TR Cn = o tempo de retenção do hidrocarboneto correspondente na série;

TR Cn+1= o tempo de retenção do hidrocarboneto seguinte ao hidrocarboneto correspondente

Cn = número de carbonos do hidrocarboneto correspondente.

A concentração dos compostos foi calculada através da integração da área do pico correspondente no cromatógrafo a gás.

A análise dos dados foi submetida à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, através do programa Statistical Analysis System – SAS, utilizando-se o nível de 5% de probabilidade.



Figura 2.10: Massa verde dos seis acessos de *Mentha* com 100 dias.





Figura 2.11: Corte do material (A), transporte em sacos de papel devidamente identificado (B) e (C), pesagem para coleta de matéria fresca (D), secagem em estufa a 38°C (E) e retirada das folhas para extração de óleo essencial (F).

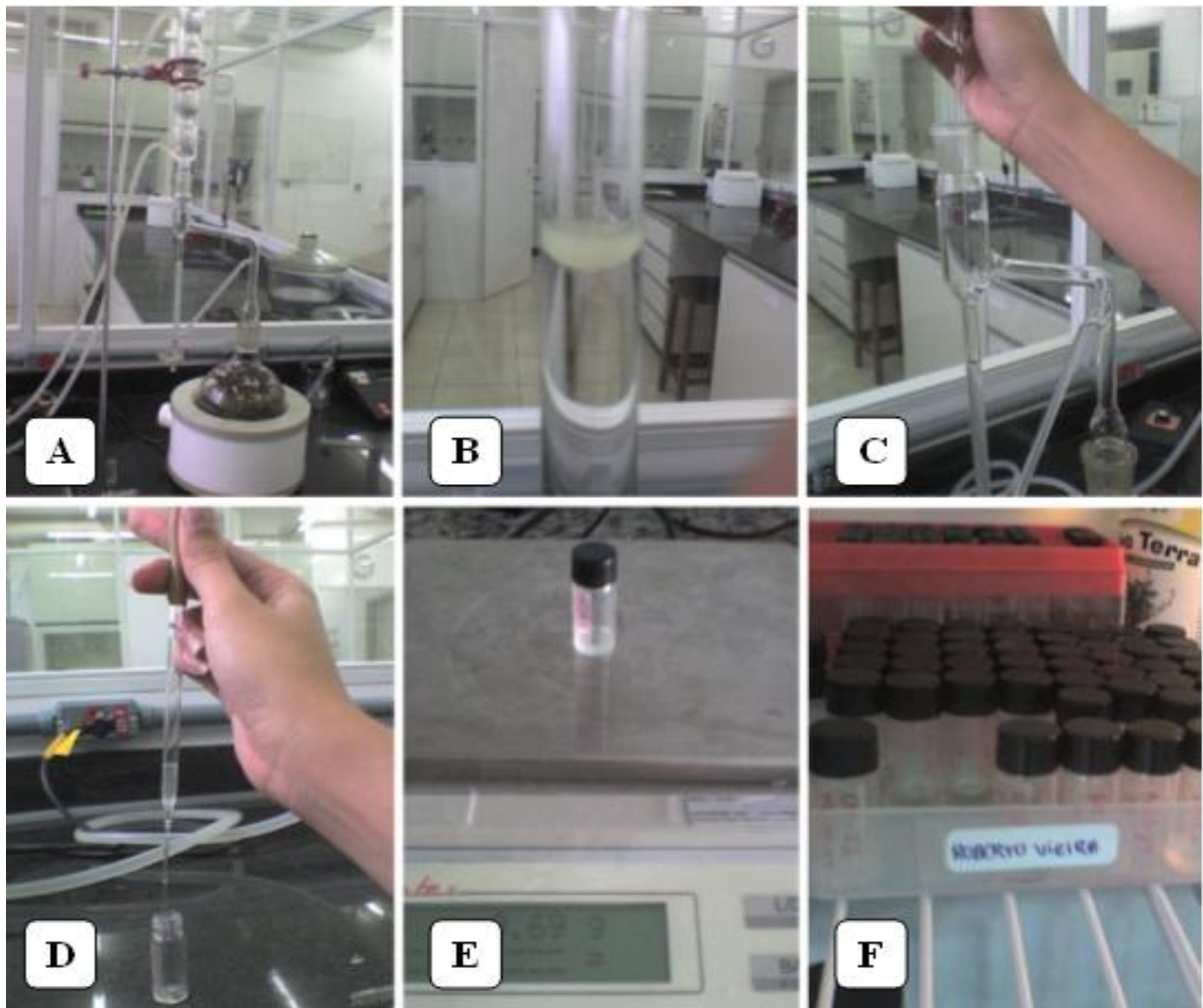


Figura 2.12: Extração por hidrodestilação (A), óleo obtido na extração (B), coleta (C) e (D), pesagem (E) e armazenagem do óleo local refrigerado (F).

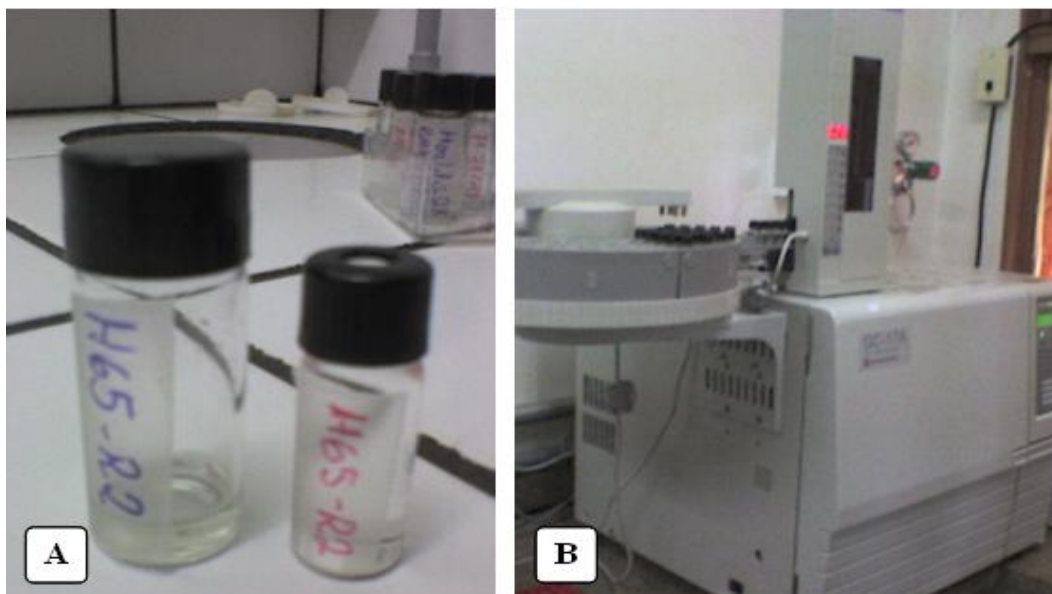


Figura 2.13: Preparo do material para análise cromatográfica (A) e análise em cromatógrafo (B)

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Rendimento de óleo essencial

Os genótipos de *Mentha* diferiram na quantidade de óleo essencial

Os resultados do presente ensaio estão representados na Tabela 2.1, que apresenta as médias do peso fresco, peso seco, peso seco das folhas porcentagem do óleo e rendimento do óleo, de seis acessos de hortelãzinho.

A média do rendimento em peso fresco variou entre 225,7g e 411,03g. Os menores valores foram nos acessos 35 e 64, com médias de 225,7g e 303,30g respectivamente. Destaca-se o acesso 72 com maior rendimento de peso fresco (411,03g).

A média do rendimento em peso seco da parte aérea variou entre 34,40g e 89,72g. Nota-se que em média, 81,78% do peso fresco da planta inteira corresponde à quantidade de água presente nas folhas e hastes. Os acessos 35 e 65 apresentaram menores valores: 34,4g e 48,61g, respectivamente. Os maiores rendimentos em peso seco da parte aérea da planta inteira foram obtidos pelos seguintes acessos: 28, 29, 64 e 72, sendo este último o de maior rendimento (89,72g).

A média do peso seco das folhas variou entre 14,25g e 39,74g. Os acessos 35 e 65 obtiveram menor valor, com média de 14,20g e 26,85g respectivamente. Os acessos 28, 29, 64 e 72 obtiveram maiores rendimentos em peso seco das folhas: 27,87g, 30,62g, 28,82g e 39,74g.

A média do volume de óleo nos materiais analisados variou de 0,16ml a 0,49ml. O acesso 28 apresentou maior volume: 0,49; e o acesso 72 em massa, apresentou um dos menores volumes: 0,25ml. O rendimento do óleo variou de 0,6% a 2,05%, tendo maior rendimento no acesso 35 (2,05%). O acesso 64 neste caso apresentou o menor rendimento (0,57%). Os acessos 28, 29, 35 e 64 apresentaram rendimentos superiores a 1%.

Estatisticamente, os acessos 28, 29, 64, 65 e 72 não diferiram para peso fresco, enquanto no peso seco os acessos 29, 64 e 72 mostraram diferenças não significativas em peso de folhas secas. Apenas os acessos 29 e 72 não diferiram. Apenas para peso fresco, o acesso 35 diferiu do líder, o 72. Os acessos 35 e 64 foram os que tiveram, estatisticamente comprovadas, as produções mais baixas para peso fresco e peso seco.

Tabela 2.1. Médias fresca da parte aérea (MFPA), média seca da parte aérea (MSPA), média seca das folhas (MSF), Média de óleo (MO) e rendimento do óleo essencial (RO), de seis acessos de *Mentha spp*

ACESSO	GENÓTIPO	MFPA (g)	MSPA (g)	MSF (g)	MO (ml)	RO (%)
	<i>Mentha sp. x M. Villosa</i>					
CM 28	Huds.	373,76 a	56,87 b	27,87 b	3,99 a	7,64 ab
	<i>Mentha spicata L.x</i>					
CM 29	suaveolens	378,21 a	64,58 ab	30,62 ab	3,76 ab	6,79 ab
	<i>Mentha sp</i>					
CM 35		225,7 b	34,40 c	14,20 c	2,62 ab	7,66 a
	<i>Mentha spicata L</i>					
CM 64		303,3 ab	72,69 ab	28,82 b	2,28 b	4,23 b
	<i>Mentha sp. x M. Villosa</i>					
	Huds.					
CM 65		317,56 ab	48,61 bc	26,85 b	2,83 ab	5,39 ab
CM 72	<i>Mentha spicata L</i>	411,03 a	89,72 a	39,74 a	2,78 ab	4,37 ab
	CV%	18,82	16,18	16,71	23,49	27,37
	DMS	141,85	22,26	10,53	-	-

Obs.: as médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem pelo teste de Tukey (0,05). Para efeito de análise estatística, os dados originais referentes ao óleo essencial foram transformados em arc. sen.  $x^{0,5}$

Em seu experimento Inneco *et al.* (2003) concluiu que durante a época de seca, a espécie *Mentha x villosa* Huds. chega a produzir 24,02t/ha de matéria fresca e 3,49t/ha de matéria seca, com um rendimento de óleo essencial de 12L/ha. Em época de chuva o rendimento da matéria seca fresca, da matéria seca e de óleo essencial cai para 17,98t/ha, 3,39t/ha e 6,69L/ha respectivamente.

Garlet (2007) em seus experimentos com hidroponia demonstrou que a adubação influencia na quantidade de óleo na planta. O valor máximo da concentração de K, nas soluções hidropônicas, afeta negativamente o crescimento e a acumulação de fitomassa em plantas de *Mentha*, porém proporciona aumento no teor de óleo essencial por planta. A concentração de metabólitos secundários, segundo Tuomi *et al.* (1991), utilizados para defesa do vegetal tende a ter uma concentração inversa às taxas de crescimento, por ser este o “custo da defesa” das plantas, com o desvio de substâncias que poderiam gerar açúcares, proteínas e gorduras para produção de metabólitos secundários. Charles *et al.* (1990) relatam que folhas produzidas por plantas cultivadas com altos níveis de estresse osmótico podem ter alta densidade de glândulas de óleo, como produto do estresse induzido pela redução da área foliar. E, além disso, citam que a redução no

crescimento, induzida pelo mais baixo potencial osmótico pode ter resultado em novo padrão de partição de reservas, proporcionando esqueletos carbônicos para biossíntese e acumulação de terpenóides.

Já em experimentos com fósforo em *Mentha x villosa* Ramos (2005) verificou um aumento da produção de matéria com o aumento das doses de fósforo. Para a produção de óleo essencial, as doses de P não influenciaram significativamente, sendo a produção média de óleo essencial de 1,25%. Por outro lado, a quantidade de óleo essencial acumulada foi maior com o aumento da produção da matéria seca da parte aérea. Em baixos níveis de fósforo houve redução no teor de monoterpenos, constituinte majoritário do óleo essencial, devido à redução da fosforilação requerida para a produção de geranilpirofosfato, que é o percurso dos monoterpenos.

Vieira *et al* (2002) encontraram que a adubação com esterco de frango semidecomposto aumentaram a produção de *M. villosa* e *M. longifolia*, com vantagem para *M. longifolia* que apresentou a melhor resposta com 14,72 T/ha de matéria fresca.

Segundo Sing *et a.* (1989), a biomassa e a produção de óleo essencial de *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* aumentaram significativamente com a fertilização com N em acima de 100 kg N/ha e os mesmos parâmetros em *M. citrata* aumentaram com dose de N em acima de 150 kg/ha. A altura da planta e relação folha : caule e o índice de área foliar aumentaram com a aplicação de N e o conteúdo em óleo essencial decresceu em todas as espécies. As doses econômicas ótimas de N para *M. arvensis*, *M. piperita* e *M. spicata* foram 167, 153 e 145 kg/ha, respectivamente, e a produção de óleo estimada em 190, 103 e 50 kg N/ha. Para *M. citrate* a dose ótima de N foi 225 kg/ha, com uma produção de 193 kg de óleo/ha. A qualidade do óleo não variou apreciavelmente com a fertilização com N.

Grisi (2006) avaliando genótipos de mentha no Distrito Federal encontrou variação no volume de óleo nos materiais analisados de 0,47% a 4,17%. Dos 26 genótipos avaliados, 18 obtiveram rendimento de óleo superior a 1%, acima do determinado pelos padrões de aceitação do produto no mercado.

## 5.2. Análise do óleo essencial

Os resultados referentes à análise do óleo essencial encontram-se representados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Principais componentes aromáticos e a correspondente percentagem no óleo essencial, encontrados em grupo de acessos de *Mentha* cultivados em Brasília-DF

ACESSO	GENÓTIPO	Limoneno	1,8 cineol	Carvona	Óxido de piperitenona	Germacreno D
CM 28	<i>Mentha</i> sp. x <i>M. Villosa</i> Huds.	11,57 a	2,06 b	42,02 b	0,17 c	4,60 c
CM 29	<i>Mentha</i> spicata L.x <i>suaveolens</i>	11,00 a	0,10 b	56,30 a	0,07 c	3,45 c
CM 35	<i>Mentha</i> sp	0,38	0,73 b	0,19 c	75,39 a	11,45 a
CM 64	<i>Mentha</i> spicata L <i>Mentha</i> sp. x	2,37 b	12,63 a	1,19 c	55,15 b	8,53 b
CM 65	<i>M. Villosa</i> Huds.	11,83 a	0,11 b	56,14 a	0,59 c	2,98 c
CM 72	<i>Mentha</i> spicata L	1,08 b	1,07 b	0,20 c	73,77 a	8,91 b
	<b>CV%</b>	<b>14,61</b>	<b>54,95</b>	<b>8,71</b>	<b>14,53</b>	<b>31,16</b>
	<b>DMS</b>	<b>1,83</b>	<b>3,25</b>	<b>5,23</b>	<b>14,99</b>	<b>2,97</b>

Obs.: as médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Observa-se analisando a tabela referida, que três acessos são caracteristicamente ricos em carvona, que é típico de *Mentha spicata* conforme Díaz-Maroto *et al.* (2003), que encontraram, como componentes majoritários, carvona, limoneno, e 1,8-cineol, e Gershenzon *et al.* (1989) que relatou a riqueza da espécie em carvona. Embora os acessos explorados comercialmente sejam via de regra ricos em carvona e dihidrocarvona, populações nativas são bem variáveis. Kokkini & Vokou (1989), encontraram quatro quimiotipos da espécie, quais sejam: (1) linalool, (2) óxido de piperitona ou óxido de piperitenona, (3) carvona-dihidrocarvona e (4) pulegona-mentona-isomentona.

Podemos ver que três menthas: *Mentha* sp. x *M. villosa* (28), *M. spicata* (29) e *M. spicata* (65) têm em comum o conteúdo elevado de carvona. Distinguem-se das outras três mentas, *Mentha spicata* x *suaveolens* (35), *Mentha* sp. x *M. villosa* (64) e *Mentha spicata* (72), quanto à presença de óxido de piperitenona, nelas abundante e escasso no OE das três primeiras. O teor de limoneno reúne os acessos 28, 29 e 65, tal como fez a carvona. Germacreno reúne o segundo grupo, acessos 35, 64 e 72, assim como o fez o óxido de piperitenona. Apenas uma menta destacou-se pela presença de 1,8 cineol.

Não há evidências de uma associação entre a classificação taxonômica morfológica e os tipos químicos, corroborando resultados anteriores que atestam o grande polimorfismo de *Mentha spicata*.

O fato de três acessos conterem altos níveis de óxido de piperitenona deve ser comemorado pois são mentas próprias para o tratamento da amebíase. Os acessos ricos em carvona são mais apropriados para tratamento de afecções das vias respiratórias.

Na Turquia, Telci *et al.* (2004) encontraram vasta variação em *Mentha spicata* nas propriedades agrônômicas e nas propriedades do óleo essencial. A cultura foi colhida duas vezes durante o período vegetativo e o conteúdo em óleo essencial dos acessos variou de 0,90 a 2,70% na primeira colheita e de 1,00 a 3,00% na segunda. Três quimiotipos foram determinados em plantas crescidas ao natural e em acessos cultivados. Os do tipo carvona (quimiotipo I) foram mais comuns. O tipo pulegona (quimiotipo II) foi definido entre as plantas encontradas ao natural. Embora a carvona estivesse constantemente presente como principal componente entre os acessos locais (79,70% a 82,97%), encontrou-se um acesso contendo linalol (quimiotipo III) (82,80%). Os autores concluíram que em virtude da variação agrônômica e química observada entre os acessos pesquisados, os trabalhos de seleção teriam ampla chance de ganhos genéticos para uso industrial e culinário.

Os resultados deste trabalho confirmam outros, encontrados por Radüns *et al.*, (2004), cujos principais componentes encontrados no OE da espécie foram a carvona, o óxido de piperitenona e o germacreno D.

Nesta espécie, *Mentha spicata* L., são reportados diferentes genótipos, uns apresentam carvona como composto majoritário, outros possuem linalol, dyhidrocarvona, óxido de piperitenona e óxido de piperitona de forma abundante (Sánchez *et al.*, 1998)

Em estudos com *M. spicata*, Kizil (2006) encontrou como compostos majoritários do óleo os compostos carvona (48,6-57,9%), p-cimeno (9,6-20,5%) e 1,8cineol (14,6-19,3%). Já Cervelli (2006) analisando mentas provenientes do Egito e Índia relata a grande concentração de carvona em um caso e de mentol no outro.

Comparando as características químicas de quatro espécies, dentre elas *M. spicata* e *M. suaveolens*, LanRong *et al.* (2006) observaram no óleo de *M. suaveolens* grande concentração de oxido de piperitenona excedendo 80% e em *M. spicata* os compostos limoneno e também óxido de piperitenona, com 20,49 e 39,96% respectivamente.

A carvona confere um odor adocicado à menta e pode ser produzindo sinteticamente para uso em fragrâncias e cosméticos além de agente antimicrobiano e de grande interesse medicinal, fatores que justificam o interesse de pesquisar por este monoterpeneo (Carvalho & Fonseca, 2006).

No Marrocos, Oumzil et al. 2002, encontraram que os principais componentes do OE de *M. suaveolens* foram a pulegona, o óxido de piperitenona (PEO) e o óxido de piperitona (PO), que ocorrem em diferentes concentrações dependendo da subespécie. Os constituintes principais, bem como outros também encontrados, como carvona, limoneno e mentona, foram testados para atividade antimicrobiana contra bactérias e fungos. O óleo rico em pulegona foi o mais eficiente, seguido pelos tipos PEO e PO.

No Brasil, Martins et al. (2007) distinguiram 28 componentes no óleo essencial de *M. x villosa*. Treze eram monoterpeneos e 10 eram sesquiterpeneos. O óxido de piperitenona foi o componente principal, com 35,4%.

Também no Brasil, Matos et al. (1999) analisando óleo extraído das folhas de *M. x villosa* coletadas em dois locais do Brasil e analisados por GC-MS descreve os principais componentes como sendo: óxido de piperitenona (55,4%) e gama-muuroleno (13,1%).

Ainda no Brasil, analisando o espaçamento utilizado na produção de *Mentha x villosa*, Innecco et al (2003) verificou que a produção de óleo essencial e óxido de piperitenona aumentou à medida que o arranjo espacial entre as plantas também aumentou. Os máximos valores ocorreram no espaçamento de 0,60m x 0,30m (4,22 t/ha; 12,75t/ha e 78,28%).

Lorenzo (2002) relata que o maior constituinte encontrado em *M. rotundifolia* (*M. suaveolens*) foi óxido de piperitenona, 80,8% dentre outros monoterpeneos oxigenados que também vem sendo relatado como característica de óleos voláteis de alguns quimiotipos de *Mentha sp.*, como *M. spicata*, *M. longifolia* e *M. x villosa*.

Analisando a atividade antineoplástica do extrato de flor de *Mentha spicata* associada a *M. rotundifolia*. Nedel, et al (2007) constataram a presença de monoterpeneos oxigenados no óleo essencial de *M. rotundifolia*, o que também tem caracterizado o óleo volátil da *M. spicata*. Recentemente os monoterpeneos oxigenados têm chamado atenção devido as suas propriedades quimiopreventivas e quimioterapêuticas. Ainda, em estudos, foi verificado que monoterpeneos dietéticos têm atividade antitumoral, mostrando não somente a habilidade de prevenir a formação ou progressão do câncer, mas regredir tumores malignos já existentes (Crowell, 1999).

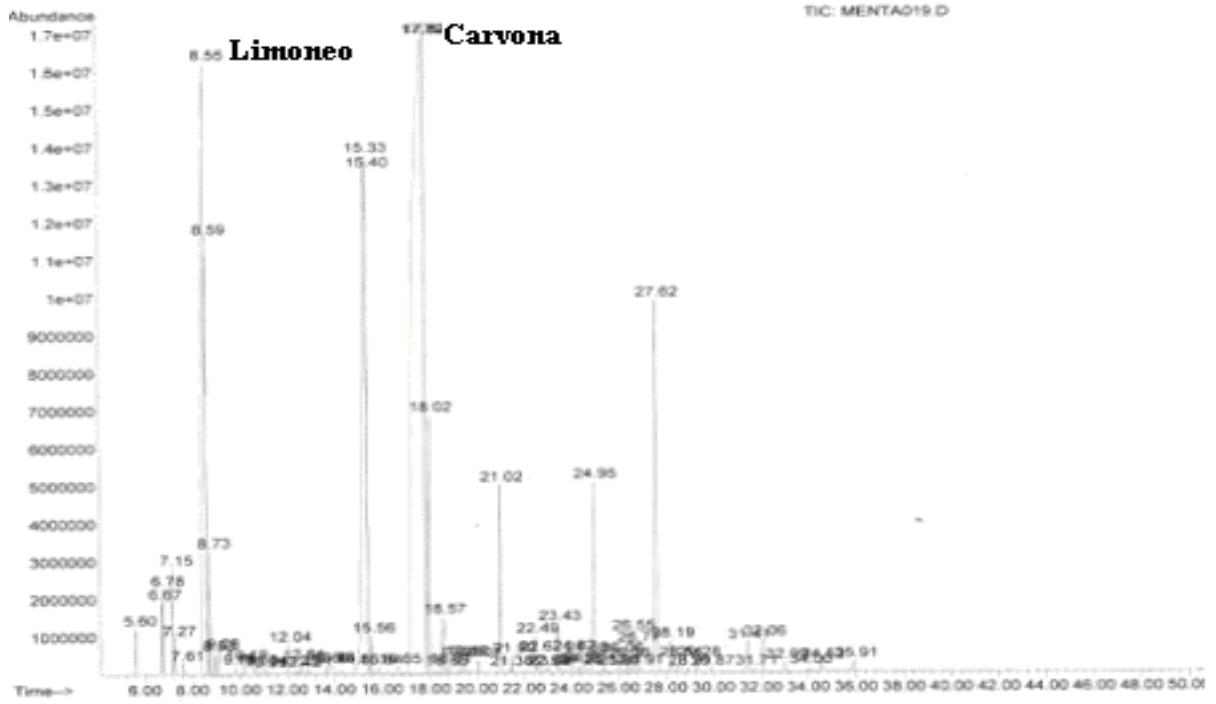


Contudo, não basta apenas conhecer os principais compostos de um óleo, muitas vezes os compostos majoritários podem ser muito semelhantes, mas quem determina a diferença no aroma são compostos minoritários, por isso faz-se necessário a identificação de todos os compostos existentes em um óleo (Tabela 2.3) .

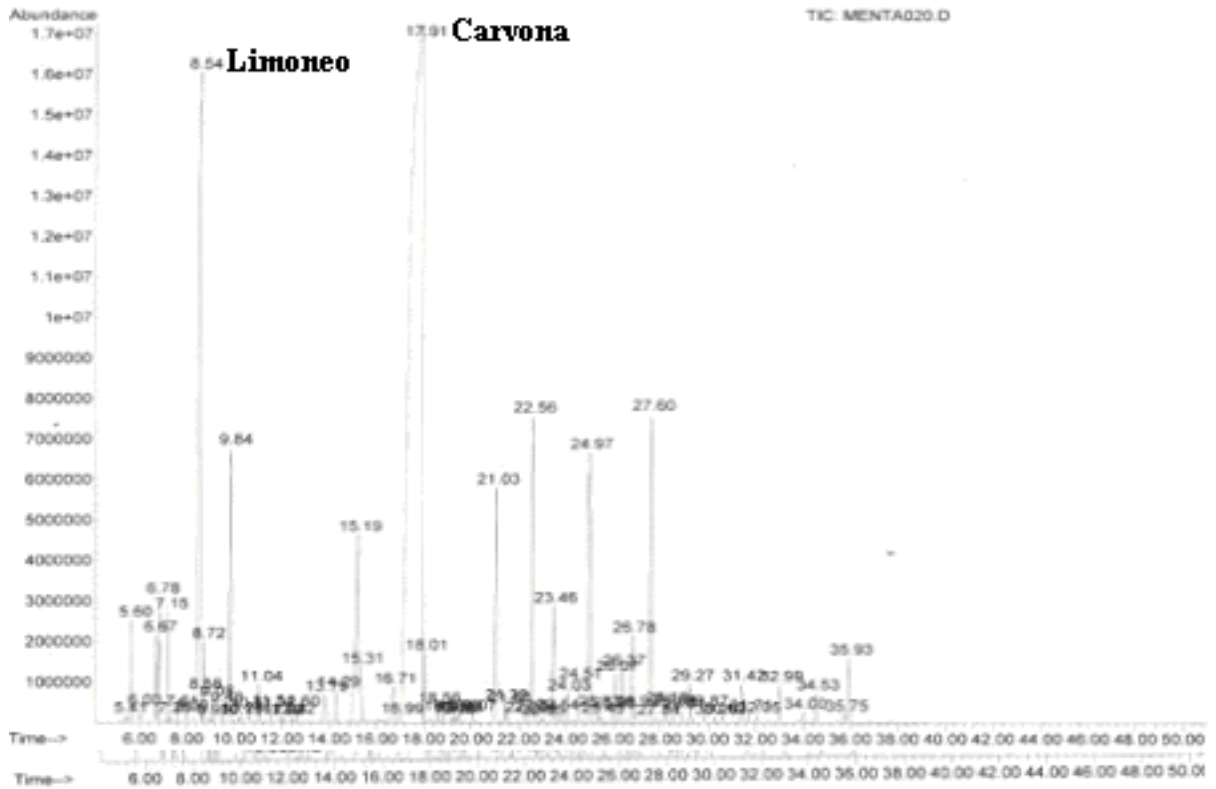
Os genótipos de *Mentha* diferiram na quantidade e qualidade de óleo essencial (Figura 29). Com estes resultados dividimos os acessos em dois grupos ou quimiotipo. O Quimiotipo I (Figura 2.15) rico em limoneno e carvona, correspondente aos acessos 28, 29 e 65 e o Quimiotipo II (Figura 2.16) rico em óxido de piperitenona e germacreno D, correspondente aos acessos 35, 64 e 72.

# Quimiotipo I

CM 28



CM29



CM 65

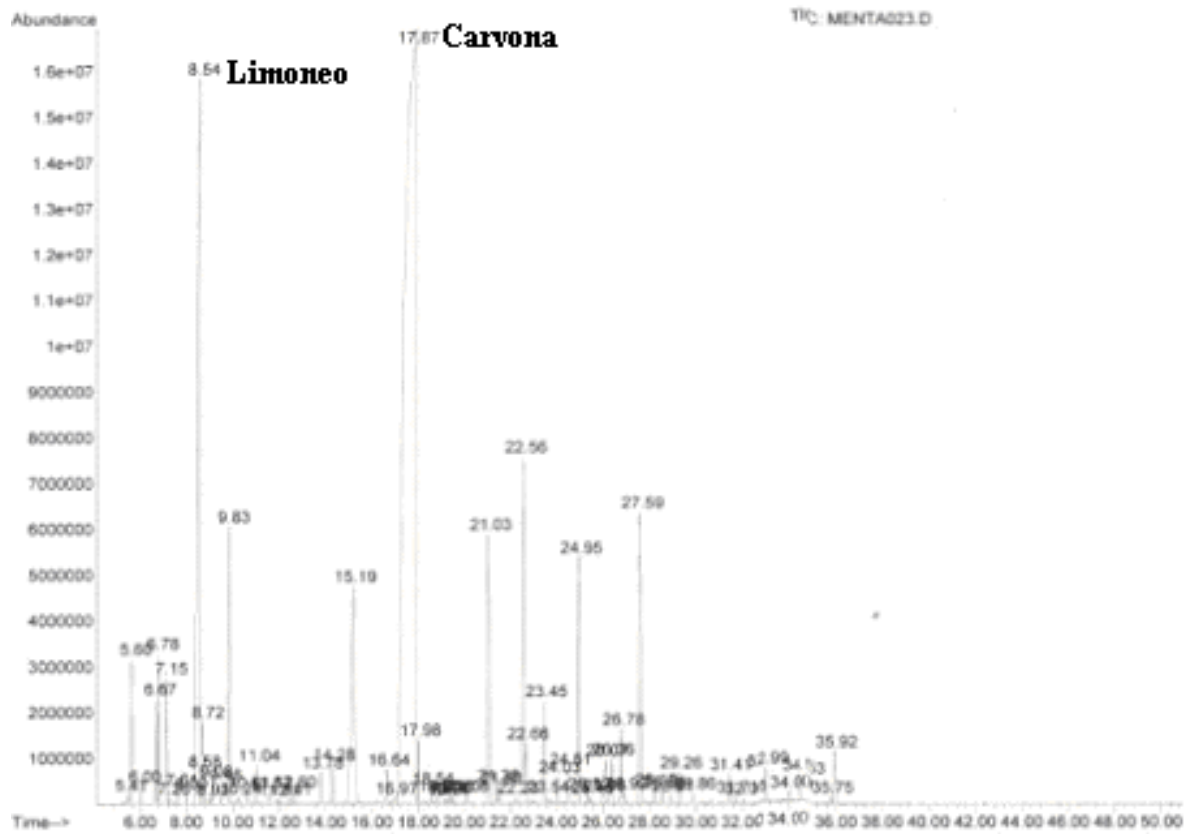
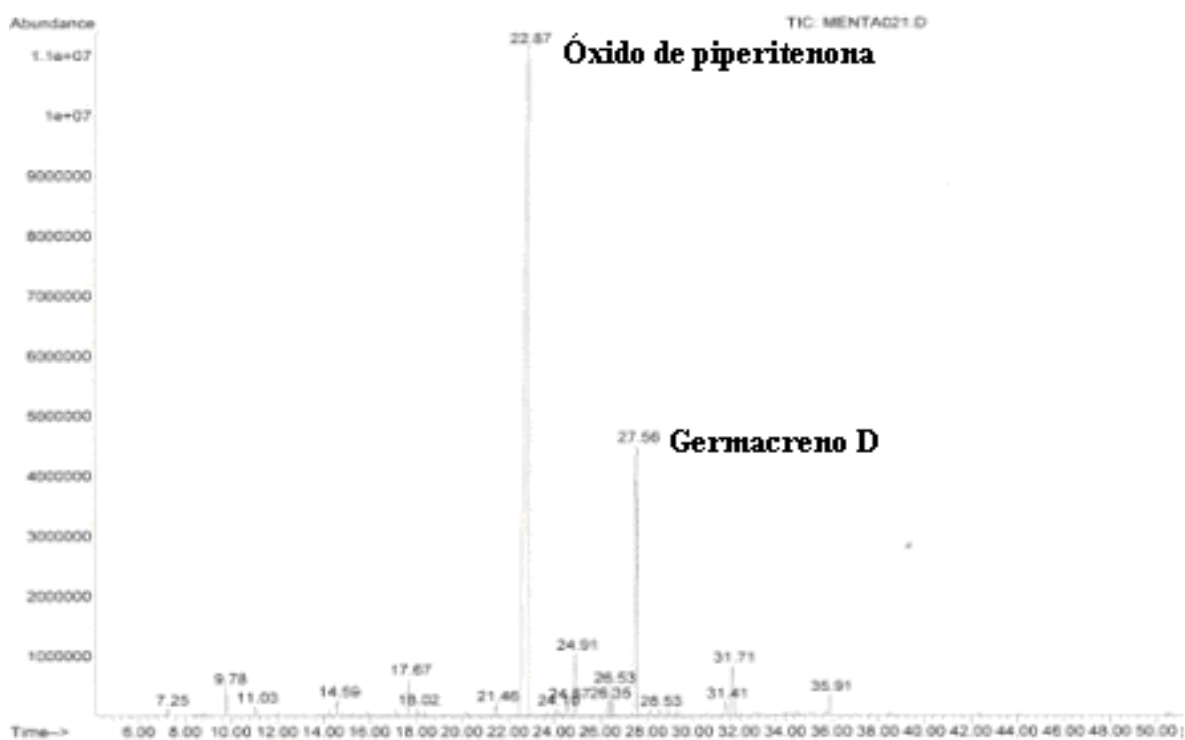


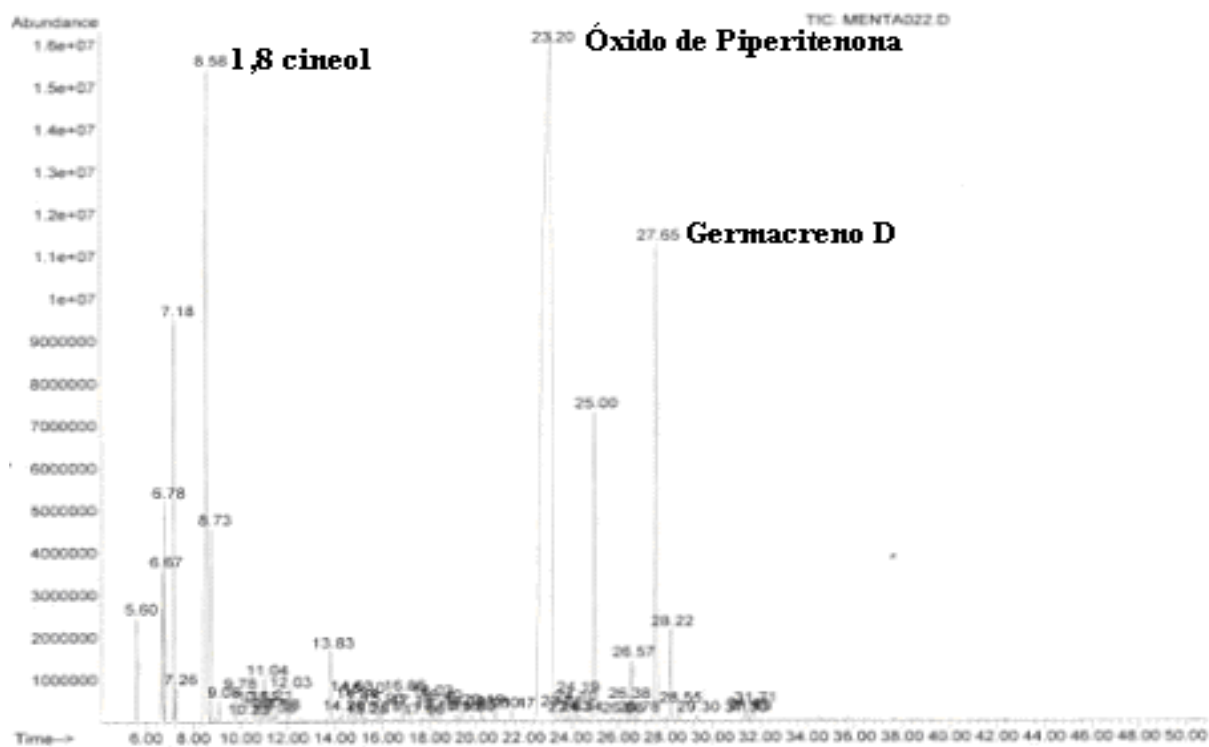
Figura 2.14: Acessos pertencentes ao Quimiotipo I rico em limoneno e carvona.

## Quimiotipo II

CM35



CM64



CM72

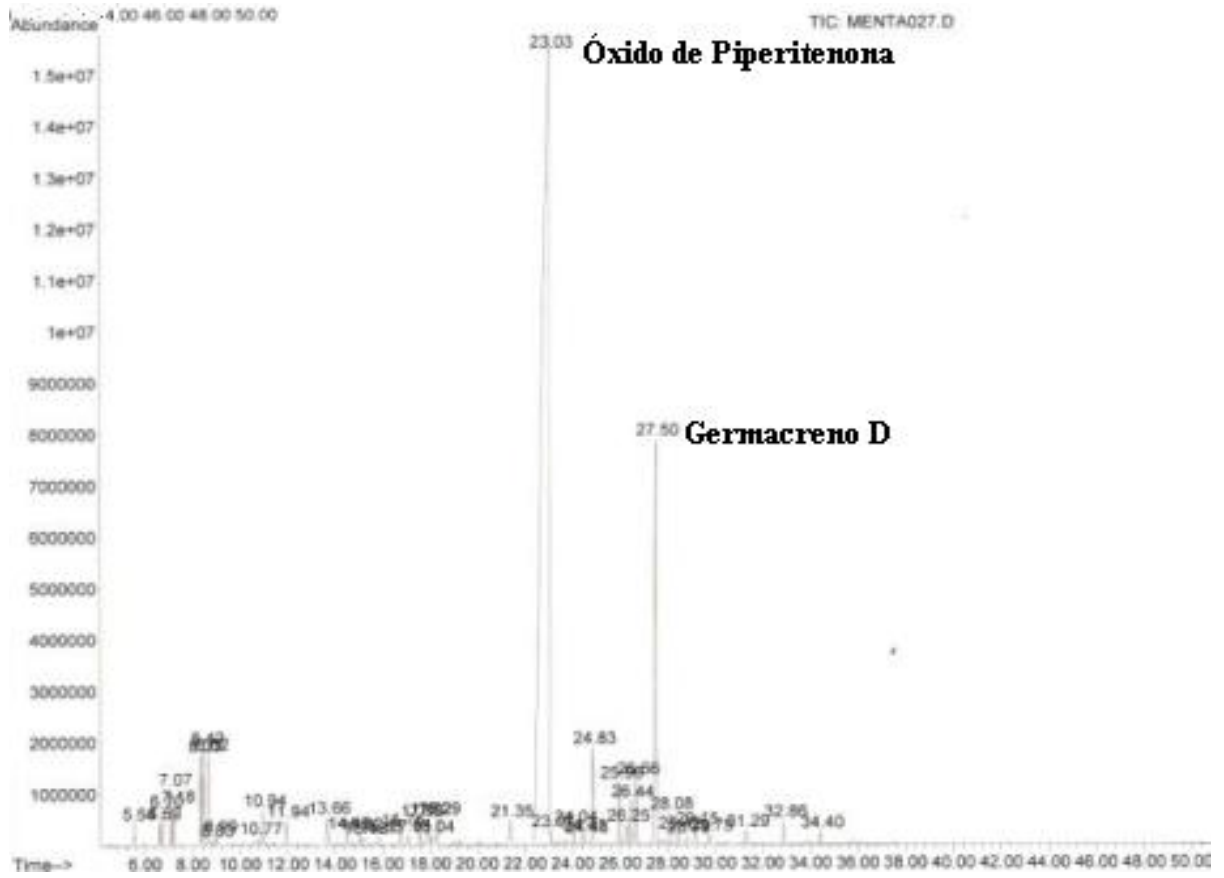


Figura 2.15: Acessos pertencentes ao Quimiotipo II rico em oxido de piperitenona e germacreno D.

Tabela 2.3 . Perfil dos constituintes químicos do óleo essencial de seis acessos de *Mentha* cultivadas no Distrito Federal.

Contituíntes do Óleo Essencial	RT <sup>1</sup>	CM 28 <sup>2</sup>	CM 29 <sup>2</sup>	CM 35 <sup>2</sup>	CM 64 <sup>2</sup>	CM 65 <sup>2</sup>	CM 72 <sup>2</sup>
Alfa pineno	5,588	0,220	0,476	-	0,651	0,650	0,184
canfeno	5,996	-	-	-	-	0,088	-
sabineno	6,654	0,398	0,467	-	1,141	0,549	0,212
beta pineno	6,764	0,481	0,723	-	1,670	0,845	0,360
beta mirceno	7,110	-	-	-	-	0,671	0,542
mirceno	7,166	0,621	0,606	-	3,956	-	0,389
3 octanol	7,259	0,328	0,037	0,173	0,250	0,034	-
mentha 1,4,8 trieno	7,609	0,09	-	-	-	0,116	-
alfa terpineno	8,004	-	0,076	-	-	0,092	-
limoneno	8,463	11,570	11,006	0	0	11,838	1,087
1,8 cineol	8,543	2,064	0,107	0	12,633	0,114	1,072
cis ocimeno	8,705	0,730	0,455	-	1,564	0,451	1,009
trans beta ocimeno	9,060	0,141	0,139	-	-	0,131	0,101
gana terpineno	9,485	-	0,106	-	-	0,125	-
cis sabineno hidrato	9,811	0,049	2,374	0,787	-	2,215	-
alfa terpinoleno	10,609	0,076	0,091	-	0,186	0,095	-
3 octanol n-octan-3-ol	10,777	-	-	-	-	-	0,094
linalol	11,022	0,058	0,375	0,327	0,461	0,362	0,473
1 octen-3-il-acetato	11,535	-	0,094	-	0,089	0,083	-
3 octanil acetato	12,010	0,212	0,036	-	0,286	-	0,306
óxido de cis limoneno	12,415	0,044	0,048	-	-	0,047	-
óxido de trans limoneno	12,602	0,143	0,099	-	-	0,099	-
borneol	13,659	0,079	-	-	-	-	0,520
borneol L	13,784	-	0,457	-	-	0,442	-
delta terpineol	13,856	0,207	-	-	0,807	-	-
terpineno-4-ol	14,276	-	0,311	-	0,089	0,35	-
p-cimen-8-ol	14,560	-	-	0,551	0,32	-	0,193
cis dihidrocarvona	15,181	13,119	3,561	-	-	4,497	0,162
trans dihidrocarvona	15,558	0,276	-	-	-	-	-
trans -(+)- carveol	16,320	0,101	0,491	-	0,055	0,435	-
z-3-hexenil-isopentanoato	16,753	-	-	-	-	-	0,222
óxido de piperitona	17,631	-	-	1,444	0,059	-	0,303
carvona	17,825	42,029	-	-	-	56,194	-
L-carvona	17,377	-	56,306	-	0,199	-	0,200
piperitona	18,005	1,882	0,359	0,253	-	0,345	-
bornil acetato	19,144	-	0,045	-	-	0,041	-
lavandulil acetato	19,356	-	0,060	-	-	0,057	-
transiso limoneno	20,066	0,114	0,073	-	-	0,065	-
dihidrocarvil acetato	21,027	1,814	2,261	-	-	2,571	-
cis L carvil acetato	21,383	0,044	3,472	-	-	0,154	-
piperitenona	21,464	0,157	0,142	0,457	0,231	0,138	0,595
eugenol	22,225	-	0,079	-	-	0,074	-
trans carvilacetato	22,523	0,321	-	-	-	3,534	-
óxido de piperitenona	22,836	0,178	0,076	75,395	55,157	0,599	73,773
beta bourboneno	23,465	0,407	1,080	-	0,193	0,901	-
cis jasmona	24,057	0,175	0,276	0,259	0,230	0,254	-

alfa gurjuneno	24,482	0,067	0,449	-	-	0,385	0,165
beta cariofileno	24,935	1,960	2,887	2,45	4,384	2,405	1,656
delta cadineno	26,044	0,169	0,452	-	0,065	-	1,038
alfa humuleno	26,341	0,116	0,561	0,569	0,229	-	0,315
beta cubebeno	25,969	0,319	0,859	-	-	0,100	0,731
trans beta farmeseno	26,548	0,371	-	1,064	0,773	-	-
germacreno D	27,318	4,600	3,458	11,457	8,534	0,071	8,912
isopuleguil acetato	26,363	-	-	-	-	0,472	-
gama elemeno	28,076	-	-	-	-	-	0,532
bicilclo germacreno	28,198	0,295	0,149	-	1,158	0,129	-
eremophileno	28,425	-	-	-	-	-	0,198
beta elemeno	28,545	0,117	0,134	-	0,180	0,114	-
alfa amorfeno	28,880	0,042	0,102	-	-	0,085	0,143
cis calameneno	29,241	0,172	0,411	-	-	0,347	0,395
alfa cadineno	29,837	0,039	0,123	-	-	0,102	0,165
germacreno D - 4 - ol	31,390	0,333	0,395	0,72	0,139	0,31	0,314
oxido de cariofileno	31,712	0,059	0,177	2,228	261	0,095	-
viridiflorol	32,053	0,322	0,069	-	-	0,063	-
carotol	32,947	0,096	0,364	-	-	-	0,417
T cadinol	34,818	0,100	-	-	-	0,253	0,224
cadinol	35,748	-	0,094	-	-	0,253	-
vulgarola	35,928	-	0,664	-	-	0,072	-

<sup>1</sup> Tempo de Retenção

<sup>2</sup> CM 28 (*Mentha sp. x M. x villosa* Huds), CM 29 (*Mentha spicata L. x suaveolens*), CM 35 (*Mentha sp.*), CM 64 (*Mentha spicata L.*), CM 65 (*Mentha sp. x M. x villosa* Huds.) e CM 72 (*Mentha spicata L.*).

## 6. Conclusão

- Os genótipos de *Mentha* diferem na quantidade e qualidade de óleo essencial, formando dois grupos ou quimiotipo: (I) rico em limoneno e carvona, correspondente aos acessos 28, 29 e 65 e (II) rico em óxido de piperitenona e germacreno D, correspondente aos acessos 35, 64 e 72.
- O Quimiotipo I (CM28, CM29 e CM65) mostra melhor desempenho nos parâmetros agronomicos em relação ao Quimiotipo II (CM 35, CM 64 e CM72).

## 7. Considerações Finais

A análise comparativa do perfil de substâncias aromáticas de um grupo de mentas afins de *Mentha x villosa* Huds, sob cultivo protegido em Brasília, confirma resultados anteriores, mediante a detecção de tipos intermediários quanto à morfologia, a produtividade em óleo essencial e o perfil de substâncias aromáticas.

Podemos ainda indicar para a produção agrícola os seguintes acessos, de acordo com o objetivo do produtor:

1. Produção para comercialização como condimento: os acessos 72 e 29 que apresentaram considerável produção de massa fresca.
2. Produção de óleo essencial rico em limoneno e carvona: dentre os acessos enquadrados como do quimiotipo I destaca-se o acesso 28 e 29 com maior rendimento de óleo e boa porcentagem destes compostos no óleo.
3. Produção de óleo essencial rico em óxido de piperitenona: entre os acessos enquadrados como quimiotipo II destaca-se o acesso 35, com maior rendimento de óleo essencial e apresentando maiores porcentagens de óxido de piperitenona e germacreno D.



## 7. Referências Bibliográficas

ADAMS R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography and mass spectroscopy**. 4<sup>th</sup> Edition, Allured Publ., Corporation, Carol Stream, IL. 698 p, 2007.

ALMEIDA, R.N. & BARBOSA-FILHO, J.M. **Avaliação do efeito antinociceptivo do óleo essencial e da Rotundifolona obtidos de Mentha x villosa Hudson**. Abstracts of the IX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental, 194. 1994.

ALMEIDA, FRANCISCO DE A. C.; ALMEIDA, SILVANA A. DE; SANTOS, NILENE R.; GOMES, JOSIVANDA P.; ARAÚJO, MARIA E. R. **Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*)**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.9, n.4, p.585-590, 2005

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos teoria e prática**. Editora UFV, 2<sup>a</sup> Edição;. 475 p, 1999

Bevan C. D.; Marshall P. S. **The use of supercritical fluids in the isolation of natural products**. Nat. Prod. Rep., 11, p.451 – 466, 1994.

CARDOSO, M. G.; SHAN, A. Y. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; FILHO, N. D.; BERTOLUCCI, S. K. V. 2001. **Metabólitos secundários vegetais: visão geral química e medicinal**. Lavras: UFLA. 81 p. 2001.

CARVALHO C.C.R.; & FONSECA M.M.R. **Carvone: why and how should one bother to produce this terpene**. Food Chemistry, v.95, p.413-422, 2006.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, A. F.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Viçosa.. v. 1. 113 p, 2004.

CASTRO, L. W. P. **Desenvolvimento de *Mentha aquatica* e *Mentha x piperita*, rendimento e qualidade do óleo essencial em resposta a níveis de radiação e adubação nitrogenada.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná Setor de Ciências Agrárias. 54 p, 2007.

CERVELLI C., RUFFONI B., DALLA GUDA C. (Editors). **International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation.** Sanremo, Italy 30 November 2006.

CHARLES, D.J.; JOLY, R. J.; SIMON, J. E. **Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint.** Phytochemistry, v.29, n.9, p.2837-2840, 1990.

CRAVEIRO, A. A., ALENCAR J. W., MATOS, F. J. A., MACHADO, M. I. L. **The essential oil of *Croton adenocalyx* A.DC. J Essent. Oil Res. 2: 145-146.** 1990.

CROWELL P.L. **Prevention and therapy of cancer by dietary monoterpenes.** The Journal of nutrition, :129:775S-778. 1999.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar.** Editora UNESP, São Paulo, 1996.

FARIAS, M.R. **Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C.M.O et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, :.263-288. 2003.

GARLET, T. M. B., SANTOS, O. S., MEDEIROS, S. L. P., MAFRON, P. A., GARCIA, D. C., BORCIONI, E., FLEIG, V. **Produção e qualidade do óleo essencial de menta em hidroponia com doses de potássio.** Ciência Rural, Santa Maria, v.37, n.4, p.956-962, jul-ago, 2007

GRISI, M. C. M.; SILVA, D. B. ; ALVES, R. B. N. ; GRACINDO, L. A. ; VIEIRA, R. F. **Avaliação de genótipos de Menta (*Mentha spp*) nas condições do Distrito Federal, Brasil.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. v. 8, p. 33-39, 2006.

HIRUMA C. A. **Estudo químico e farmacológico do óleo essencial das folhas da *Mentha x villosa* Hudson.** Dissertação de Mestrado – LTF/UFPB. 97p, 1993.

INNECCO, R.; CRUZ, G. F. ; VIEIRA, A. V. ; MATTOS, S. H. ; CHAVES, F. C. M. **Espaçamento, época e número de colheitas em hortelã-rasteira (*Mentha x villosa* Huds).** Ciência Agronômica, Fortaleza, v. 34, n. 2, p. 247-251. 2003.

KIZIL, S., TONCER, Ö. **Influence of different harvest times on the yield and oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.).**Journal of food agriculture & environment, 43: 135-137. 2006.

KOKKALOU, E.; KOKKINI, S.; HANDIDOU, E. **Volatile constituents of *Achillea millefolium* in relation to their infraspecific variation.** Biochem. System. Ecol. 20:664-670. 1992

LAVABRE, M. **Aromaterapia: Cura pelos óleos essenciais.** Rio de Janeiro: Nova Era;. 97 p, 1993.

LEAL, F. P. **Desenvolvimento produção e composição de óleo essencial de *Mentha piperita* L cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de nitrogênio.** Dissertação de Mestrado em Agronomia/Horticultura. Faculdade de Ciências Agrárias- Universidade Estadual Paulista- Botucatu. 148 p. 2001.

LIMA, C. S.; SOUZA, P. E.; BOTELHO, A. O. **Fungos da Família Pucciniaceae Causadores de Ferrugem em Plantas Mediciniais.** Fitopatologia Brasileira 29(5), set - out.: 499-503. 2004

LORENZI H.; & MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas.** Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.. 544 p. 2002.

LORENZO D, PAZ, D., & DELLACASSA E. **Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay.** Braz Arch Biol Techn, 45(4): 519-524. 2002

MAFFEI, M.; MUCCIARELLI, M. & SCANNERINI, S. **Environmental factors affecting the lipid metabolism in *Rosmarinus officinalis* L.** Biochem. System. Ecol., V.21,n.8,p.765-784, 1993.

MARQUES, M.O.M. **Óleos essenciais: história e sua importância para a indústria de perfumaria.** <http://www.comciencia.br/comciencia/?section=8&edicao=28&id>  
Acesso em: 30 /03/2008

MARTINS E. R., CASTRO, D. M de; CASTELLANI, D. C. & DIAS, J. E. **Plantas medicinais.** Viçosa, MG: Editora UFV, 220p. 1998.

MARTINS, A. P., CRAVEIRO, A. A., MACHADO, M. I. L. , N. RAFFIN FERNANDA , MOURA T. F. , NOVÁK, CS. & ÉHEN, Z. **Preparation and characterization of *Mentha x villosa* Hudson oil- $\beta$ -cyclodextrin complex.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, vol. 8(2): 363-371. 2007.

MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; CRAVEIRO, A. A.; ALENCAR, J. W.; SILVA, M. G. V. **Medicinal plants of northeast Brazil containing tymol an carvacrol – *Lippia sidoides* Cham. and *L. gracillis* H.B.K. (Verbenaceae).** Journal Essential Oil Research, v.11, p.666-668, 1999.

OLSEN, M. H. N., SALOMÃO, G. C., FERNANDES, C. ; HORNJUNIOR, A. ; CARDOZO L., CARDOZO FILHO, L.; ANTUNES, O. A. C. **Estudo da Oxidação do Limoneno Utilizando Catalisadores Metaloporfirínicos com Variação do Sistema Solvente/Oxidante.** Acta Scientiarum, Maringá, v. 26, p. 1-6, 2004.

OUMZIL, H., GHOULAMI, S., RHAJAOU, M., ILIDRISSI, A. , FKI-H-TETOUANI, S., FAID, M., BENJOUAD, A. ***Mentha suaveolens* essential oils monoterpeneoids bacteria fungi inhibition**. Phytotherapy Research vol 6 (8): 727-731, 2002.

PIMENTEL, F. A. & SILVA, M. R. **Recomendações sobre o processo de destilação comercial de biomassa triturado de Pimenta Longa (*Piper hispidinervium*)**. COMUNICADO TÉCNICO N. 123: 1-3. 2000

RADÜNS, L. L. *et al* **Efeito da Temperatura do Ar de Secagem no Teor e Composição dos Óleos Essenciais de Guaco e Hortelã comum**. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa. 89 p. 2004.

RAMOS, S. J. ; FERNANDES, L. A. ; MARQUES, C. C. L. ; SILVA, D. D. ; PALMEIRA, C. M. ; MARTINS, E. R. . **Produção de matéria seca e óleo essencial por menta sob diferentes níveis de fósforo**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 8, n. 1, p. 9-12, 2005.

SANCHEZ, J., N. MARINO, M. C. VAQUERO, J. A. LEGORBURU, J. **Metal pollution by old leadzinc mines in Urumea river valley (Spain)**. Water Air Soil Pollut. 107, 303—319. 1998.

SANTOS, A. S; ALVES, S. de M; FIGUEIREDO, F. J. C; NETO, O. G. da R. **Descrição de sistemas e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. EMBRAPA. Comunicado técnico 99. Belém, 6 p. 2004.

SANTOS, M. M. F. B. **Doenças da menta**. In: KIMATI, H. et al. Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 3.ed. v.2. São Paulo: Agronômica Ceres, 663 p. 2005.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6ª edição; Cap. 3, 2000.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C.M.O *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editoras UFRGS/ UFSC:.467-495. , 2003.

SINGH D., & Siddiqui, M. S. **Reproduction retardant and fumigant properties in essential oils against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat**. Journal of Economic Entomology 82(3): 727-733. 1989.

SOUZA, J. G. de; BELTRÃO, N. E. de M.; SANTOS, J. W. dos. **Influência da saturação hídrica do solo na fisiologia do algodão em casa de vegetação**. Revista de Oleaginosas e Fibrosas, Campina Grande, v. 1, n. 1, p. 63-71, 1997.

STRANDEN, M., BORG-KARLSON, A.K. & MUSTAPARTA, H. **Receptor neuron discrimination of the germacrene D enantiomers in the moth *Helicoverpa armigera***. Chem. Senses: 27: 143–152. 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Surface protection and secondary defense compounds**. In: Plant Physiology. Redwood City: Benjamin Cummings, .318-345. 1991.

TELICI, I. *et al.* **Agronomical and chemical characterization of spearmint (*Mentha spicata* L.) originating in Turkey**. Economic Botany, v.58, n.4, p.721-728, 2004.

TUOMI, J. **Carbon allocation, phenotypic plasticity and induced defences**. In: TALLAMY, D.W.; RAUPP, M.J. Phytochemical induction by herbivores. New York: John Wiley.:85-104. 1991.

VIEIRA, R. F. **Conservação de Recursos Genéticos de Plantas Medicinais e Aromática Brasileiras: um desafio para o futuro**. Acta Horticulturae, ISHS, v. 569, p. 61-68, 2002.

VITTI, A. M. S; BRITO, J. O. **Óleo essencial de eucalipto**. Universidade de São Paulo. ESALQ. Documentos Florestais. nº17, São Paulo, 26 p. 2003.

**VOGEL, S.: Ölproduzierende Blumen, die durch ölsammelnde Bienen bestäubt werden.** Naturwissenschaften. 58: 58-69.1971.

**ZIGHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; CARREIRA, L.M.M; MAIA, J.G.S. Volatile constituents of the flowers of *Wulffia baccata* (L. f.) Kuntze and *Zinnia elegans* Jacq. (Asteraceae).** Journal of Essential Oil Research, v.12, p.415-417, 2000.