



Explorando a química e a atividade antifúngica de óleos essenciais: Uma proposta de projeto para a Educação Básica

Almeida, M. P. de^a, Romero, R.B.^b, Romero, A. L.^c, Crespan, E. R.^d

^{b,c,d}Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento de Química, Via Rosalina Maria dos Santos, 1233,
Campo Mourão/PR, CEP: 87301-899, Caixa postal: 271.

ARTICLE INFO

Received: XX Mes 2013

Accepted: XX Mes 2013

Keywords:

Funções orgânicas.
Extração de óleos essenciais.
Bioatividade.

E-mail:

moniccalmeida@gmail.com
rbromero@utfpr.edu.br
adrianoromero@utfpr.edu.br
crespan@utfpr.edu.br

ISSN 2007-9842

© 2015 Institute of Science Education.
All rights reserved

ABSTRACT

The chemistry of substances present in essential oils has not been exploited in high school, despite the existence of some articles published in specialized magazines that deal about this theme. The relationship of this theme with other areas of knowledge, such as biology, is even less explored. In this context, this communication presents a proposal for a project that lets you explore the theme essential oils to work concepts of organic chemistry, separation methods, relation of the physical and biological properties with the molecular structure. It is suggested to obtain one or more essential oils from the hydro distillation of cloves, star anise, orange or lemon peels. The chemical profile of essential oil obtained can be studied using chalk chromatography and visualization with iodine vapor. After obtaining and registration of chromatograms professor must explore, with the aid of articles available on the internet, the molecular structures, functional groups, physico-chemical, biological and sensory inherent in substances present in essential oils. As a result, evaluates the bioactivity of essential oils against fungi that focus on food, for example, the fungus that develops in tomato extract or in bread. The bioactivity can be performed using as culture medium gelatin/broth commonly used by teachers of sciences/biology to assess the presence of bacteria in different environments/materials. In this activity is observed that different essential oils differentially inhibit the fungus growth evaluated and that this fact is related to the compounds present in these natural products.

A química das substâncias presentes em óleos essenciais tem não sido explorada no ensino médio, apesar da existência de alguns artigos publicados em revistas especializadas que versam sobre esta temática. A relação desta temática com outras áreas do conhecimento, tal como biologia, é ainda menos explorada. Neste contexto, a presente comunicação apresenta uma proposta de projeto que permite explorar a temática óleos essenciais para trabalhar conceitos de química orgânica, métodos de separação, relação das propriedades físicas e biológicas com a estrutura molecular. Sugere-se a obtenção de um ou mais óleos essenciais a partir da hidroddestilação de cravo-da-india, anis-estrelado, cascas de laranja ou de limão. O perfil químico do óleo essencial obtido pode ser estudado utilizando cromatografia em giz e visualização com vapor de iodo. Após obtenção e registro dos cromatogramas o professor deve explorar, com auxílio de artigos disponíveis na internet, as estruturas moleculares, grupos funcionais, características físico-químicas, biológicas e sensoriais inerentes às substâncias presentes nos óleos essenciais. Na sequência, é avaliada a bioatividade dos óleos essenciais frente a fungos que incidem em alimentos, por exemplo, o fungo que se desenvolve em extrato de tomate ou em pão. A bioatividade pode ser realizada utilizando como meio de cultura gelatina/caldo de carne comumente utilizado por professores de ciências/biologia para avaliação da presença de bactérias em diferentes ambientes/materials. Observa-se nesta atividade que diferentes óleos essenciais inibem de forma diferenciada o crescimento do fungo avaliado e que este fato está relacionado aos compostos presentes nesses produtos naturais.

I. INTRODUÇÃO

Tradicionalmente as disciplinas da educação básica são apresentadas de forma fragmentada e não associadas ao cotidiano dos alunos. No entanto, a adoção de uma abordagem interdisciplinar, conforme orientação dos parâmetros curriculares nacionais (PCN's) pode ser considerada uma das maneiras de superar a fragmentação do conhecimento, apresentando-se como um processo que precisa ser vivenciado para ser assimilado em sua complexidade, ganhando importância na vida escolar à medida que os docentes passam a desenvolver de forma integrada um trabalho pedagógico, capacitando o estudante a se comunicar, argumentar, enfrentar problemas de diferentes naturezas e a elaborar críticas ou propostas de ação em torno de questões abrangentes da atualidade, estabelecendo conexões entre discursos disciplinares, o que possibilita ainda uma maior compreensão do que foi ensinado, levando-o a perceber como a ciência é inserida em seu cotidiano (Freitas Filho *et al.*, 2013).

A utilização de um enfoque interdisciplinar possibilita ao estudante o aprofundamento da compreensão da relação entre teoria e prática; aproximando o sujeito da sua realidade mais ampla; auxiliando os estudantes na compreensão das complexas redes conceituais; permitindo maior significado e sentido aos conteúdos da aprendizagem, possibilitando uma formação mais crítica, criativa e responsável (Thiesen, 2008). Segundo Hartmann & Zimmermann (2007), a interdisciplinaridade surgiu como um esforço para evitar a comum e excessiva fragmentação do conhecimento, e pressupõe um processo de articulação entre pelo menos duas disciplinas, promovido por diferentes especialistas, que planejam e orientam uma ação de forma integrada. Não existe a intenção de fundir disciplinas, mas de estabelecer ligações de interdependência, convergência e complementaridade entre elas. Constitui-se em um fator de transformação pessoal e não apenas na integração de teorias, conteúdos, métodos ou outros aspectos do conhecimento. A integração é apenas um momento do processo, que leva a “novos questionamentos, novas buscas, para uma mudança na atitude de compreender e entender”, mas não uma síntese disciplinar, como propõe a transdisciplinaridade. Na interdisciplinaridade, o valor do indivíduo não está na quantidade de conhecimento que possui, mas no potencial de ser um sujeito-efetivo, capaz de interagir coletivamente como agente de transformações da realidade onde se insere.

Um olhar interdisciplinar sobre a realidade permite que entendamos melhor a relação entre seu todo e as partes que a constituem (Goldman, 1979). Japiassu (1976) entende que o docente se reconhece diante de um empreendimento interdisciplinar todas as vezes que consegue incorporar os resultados de várias especialidades, tomando de empréstimo a outras disciplinas certos instrumentos e técnicas metodológicas, fazendo uso dos esquemas conceituais e das análises que se encontram nos diversos ramos do saber, a fim de fazê-los integrarem e convergirem, depois de terem sido comparados e julgados. Onde é possível dizer que o papel específico da atividade interdisciplinar consiste, primordialmente, em lançar uma ponte para ligar as fronteiras que haviam sido estabelecidas anteriormente entre as disciplinas com o objetivo preciso de assegurar a cada uma seu caráter propriamente positivo, segundo modos particulares e com resultados específicos.

Uma forma de trabalhar interdisciplinarmente, e que tem apresentado resultados bastante significativos, envolve a aplicação de projetos que levam o aluno a desenvolver competências e habilidades gerais e específicas em cada unidade curricular, a compreender os conhecimentos e processos tecnológicos, diagnosticar e enfrentar problemas reais e construir argumentações. Atividades que proporcionem o exercício da observação, da formulação de indagações e estratégias para respondê-las, como a seleção de materiais, instrumentos e procedimentos adequados e das condições de trabalho seguras, da análise e sistematização de dados, criando condições para uma aprendizagem significativa dos conceitos por parte dos alunos, que acabam retendo uma informação nova, relacionando-a ao que já foi aprendido. (Gramolelli *et al.*, 2006).

Um projeto interdisciplinar pode ser uma importante alavanca em uma proposta pedagógica de sucesso, além de proporcionar condições para que o aluno evidencie suas habilidades, seu potencial, possibilitando ainda uma renovação no relacionamento com professores e colegas, agora sob a ótica da cooperação. Dentro deste contexto, o presente artigo apresenta uma proposta de projeto a ser desenvolvida e aplicada na educação básica, envolvendo as disciplinas de

química e biologia, permitindo explorar a temática óleos essenciais, abordando conceitos de química orgânica, métodos de separação, relação das propriedades físicas e biológicas com a estrutura molecular.

I.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais são produtos naturais constituídos por substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, extraídas de plantas aromáticas. Estas denominações derivam de suas propriedades físico-químicas, como, por exemplo, a de serem líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, dando origem a designação óleo. Contudo, a principal característica dos óleos essenciais é a volatilidade, o que os diferencia dos óleos fixos (mistura de lipídeos) obtidos geralmente de sementes. As substâncias orgânicas presentes nos óleos essenciais são os principais componentes bioquímicos de ação terapêutica das plantas medicinais e aromáticas (Simões, 1999).

Para os perfumistas, assim como para as pessoas com olfato aguçado, os óleos essenciais são uma forma de eternizar fragrâncias e odores das quais gostamos. Usados principalmente em perfumaria, os aromas estão presentes nas mais diversas plantas e possuem características peculiares, de acordo com o tipo de planta, a localização do aroma, a forma de extração e as estruturas moleculares dos compostos que fazem parte da essência. Há mais de seis mil anos, os egípcios já conheciam o poder das substâncias químicas aromáticas e sua influência sobre a saúde do corpo, da mente e do espírito.

Do ponto de vista químico, os óleos essenciais podem ser definidos como misturas de compostos terpênicos e fenilpropanóides. Compostos terpênicos são hidrocarbonetos que possuem, geralmente, em seu esqueleto carbônico múltiplos de cinco átomos de carbono: 10 átomos de carbono (monoterpenos), 15 átomos de carbono (sesquiterpenos) e 20 átomos de carbono (diterpenos). A volatilidade dos terpenos está associada ao tamanho da cadeia carbônica, sendo assim os monoterpenos são muito voláteis, os sesquiterpenos apresentam média volatilidade e os diterpenos são, praticamente, não voláteis. Já os fenilpropanóides possuem como característica molecular um anel fenila ligado a uma cadeia lateral com três átomos de carbono. Alguns exemplos de terpenos e fenilpropanóides comuns em óleos essenciais são apresentados na Figura 1.

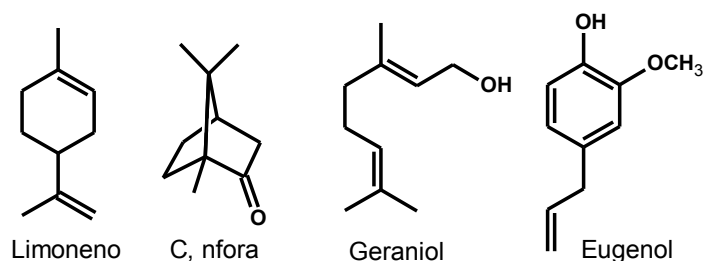


FIGURA 1. Exemplos de terpenos e fenilpropanóides encontrados em óleos essenciais.

Uma característica interessante observada nos constituintes de óleos essenciais é a diversidade estrutural, principalmente em relação aos compostos terpênicos, e de grupos funcionais - tais como cetonas, aldeídos, ésteres, alcoóis e fenóis -, apresentando-se como uma rica fonte para o ensino de funções orgânicas na disciplina de química orgânica na educação básica. A composição química depende de vários fatores, principalmente da origem da planta, por isso cada óleo tem uma composição química específica, podendo em alguns casos ser constituído por mais de 300 componentes químicos diferentes, o que faz dele um produto tão valorizado.

Os óleos essenciais podem ser extraídos das plantas a partir de diferentes métodos como a prensagem a frio, turbodestilação, enfleurage, com o auxílio de um gás refrigerante e a hidrodestilação. A prensagem a frio é bastante utilizada para a extração de óleos de frutos cítricos, já a turbodestilação é usada quando deseja-se extrair o óleo de plantas cujos tecidos retêm a seiva de forma mais intensa. A enfleurage é o método mais indicado para extração de óleos instáveis e que podem perder completamente seus compostos aromáticos se extraídos por outros métodos. A extração de óleos essenciais na presença de um gás refrigerante baseia-se na utilização de uma substância química que

tem afinidade com as moléculas constituintes do óleo, e que atua como solvente, como por exemplo, a utilização de dióxido de carbono hiper crítico sob extrema pressão (200 atm) e temperatura mínima de 30 C. Na hidrodestilação, método sugerido para a obtenção dos óleos essenciais nesta proposta de projeto, a matéria-prima vegetal é completamente mergulhada em água, sem que a temperatura ultrapasse os 100°C.

Os óleos essenciais vão além da satisfação olfatória que os tornam indispensáveis nas indústrias de perfumaria e de cosmética, possuem interessantes e importantes propriedades biológicas e farmacológicas, tais como antimicrobiana, inseticida, analgésica e anti-inflamatória. Entre as propriedades relatadas, a atividade antimicrobiana é a que possui um maior número de trabalhos na literatura especializada, principalmente no que se refere ao controle de fungos causadores de doenças em plantas.

Alguns gêneros de fungos são agentes causais de doenças em plantas de grande importância econômica na agricultura, assim como para a espécie humana, a exemplo das aspergílozes, problemas respiratórios, micoses da pele e de mucosas. Apesar da existência de uma grande variedade de antimicrobianos sintéticos, é de conhecimento da comunidade científica que os micro-organismos são capazes de adquirir resistência às substâncias microbicidas. Este fato tem resultado, por exemplo, no aumento da dosagem dos microbicidas para garantir a eficiência no tratamento, levando a efeitos colaterais indesejados.

Como alternativa aos antimicrobianos químicos, vários estudos têm discutido a ação antifúngica de óleos essenciais. Cakir *et al.* (2005) estudaram as propriedades do óleo essencial e extratos de *Hypericum linarioides* (usado popularmente como antidepressivo, ansiolítico e antimicrobiano) contra 11 fungos fitopatogênicos, entre eles *Rhizoctonia solani* e *Verticillium albo-atrum*. A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Origanum majorana* foi testada por Vági *et al.* (2005) contra linhagens de fungos e bactérias presentes em alimentos. Este autor, assim como outros que trabalham com atividade de óleos essenciais, defende que estes produtos naturais, devido aos seus efeitos contra as espécies microbianas, podem vir a ser empregados como preservativos em alimentos e cosméticos.

1.2 Fungos

Durante muitos anos, os fungos foram considerados como vegetais, porém, a partir de 1969, passaram a ser classificados em um reino à parte, por apresentarem características próprias, tais como: não sintetizar clorofila, não possuir celulose na sua parede celular (exceto alguns fungos aquáticos), e não armazenar amido como substância de reserva, eles foram diferenciados das plantas.

Existem diferentes tipos de fungos, e pode-se dizer que eles são uma forma de vida bastante simples. Os fungos são organismos eucarióticos, heterotróficos, com núcleo bem definido circundado por uma membrana nuclear; uma membrana celular que contém lipídeos, glicoproteínas e esteróis; parede celular; mitocôndrias; aparelho de Golgi; ribossomos ligados ao retículo endoplasmático e um citoesqueleto constituído por microtúbulos, microfilamentos e filamentos intermediários. Podem ser encontrados na natureza em habitats como o ar, água, solo, alimentos, animais, podendo sofrer variações de incidência conforme a localidade, estação do ano e grau higroscópico do ar (Schaechter *et al.*, 2002, Sidrim & Moreira, 1999).

Os fungos podem ser classificados de acordo com a sua morfologia, em leveduras, dimórficos e filamentosos.

Sendo que os dimórficos podem apresentar-se na forma leveduriforme ou filamentosa, dependendo da temperatura a que é exposto; na temperatura ambiente (25 - 28°C), apresentam-se na forma filamentosa e na temperatura de 37-39°C mostram-se como leveduras (Figura 2).

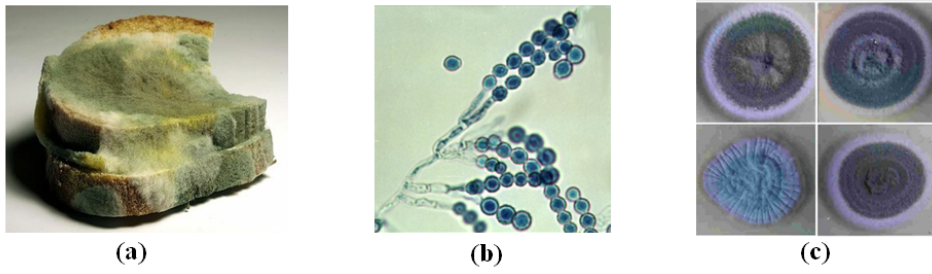


FIGURA 2. Representação de diferentes tipos de fungos: **(a)** Bolor, **(b)** Fungos Leveduriformes, **(c)** Fungos Filamentosos.

II. METODOLOGIA

A proposta de projeto interdisciplinar entre as áreas de química e biologia possibilita explorar a escolha dos métodos de extração de óleos essenciais, análise estrutural dos seus constituintes químicos, assim como a análise do efeito destes compostos no crescimento de determinados fungos. Esta atividade foi desenvolvida por um aluno do curso de Licenciatura em Química, participante do Programa de Iniciação à Docência (Pibid), e aplicada com um aluno de ensino médio durante o evento de extensão “Química nas Férias”¹, promovido pela UTFPR-Campo Mourão, sob orientação de uma pibidiana da UTFPR.

II.1 Obtenção dos óleos essenciais

Utilizando a hidrodestilação, com vidraria simples de destilação e com o extrator Clevenger, obteve-se os óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), de anis estrelado (*Illicium verum*) e de casca de laranja (*Citrus sinensis*). Para a extração, pesou-se 100 g de cravo-da-índia, que foram transferidas para um balão de fundo redondo contendo água destilada e algumas pedras de porcelana. Acomodou-se este balão em uma manta aquecedora, o conectando posteriormente ao sistema de destilação. Após aproximadamente três horas de destilação coletou-se um óleo ligeiramente amarelado. Utilizando um funil de separação, obteve-se 2,3 ml de óleo de cravo-da-índia. O mesmo procedimento foi realizado para a obtenção dos óleos essenciais de anis-estrelado e de casca da laranja, obtendo-se 2,5 ml de óleo de anis estrelado e 3,2 ml de óleo essencial de casca da laranja.

A Figura 3 apresenta amostras de cravo da índia, de anis estrelado e de casca da laranja usadas para a obtenção dos respectivos óleos, assim como a hidrodestilação em vidraria simples de destilação e com o extrator Clevenger.

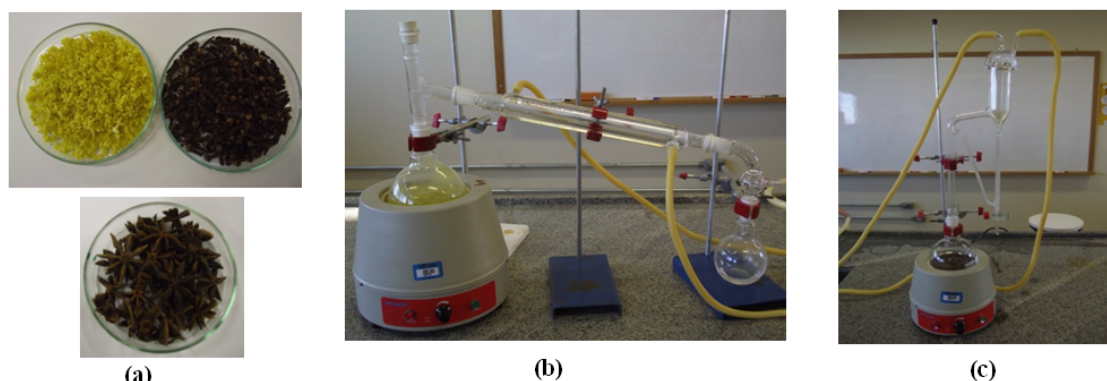


FIGURA 3. (a) Raspas de cascas de laranja, cravo-da-índia e anis estrelado. (b) Extração do óleo essencial da casca de laranja por hidrodestilação simples. (c) Extração do óleo essencial de anis estrelado por hidrodestilação com extrator Clevenger.

II.2 Perfil cromatográfico dos óleos essenciais

Para análise qualitativa da composição química dos óleos essenciais utilizou-se após a obtenção dos mesmos, a cromatografia em camada delgada. Com o auxílio de capilares transferiu-se para uma placa cromatográfica uma alíquota de cada óleo essencial, a placa foi eluída utilizando uma mistura de *n*-hexano: acetato de etila 90:10 (v/v) e revelada, posteriormente, em vapor de iodo.

¹ O evento “Química nas Férias” ocorreu no período de 15-19/07/2013 e contou com a participação de dezesseis alunos de ensino médio de diferentes escolas estaduais da cidade de Campo Mourão/PR. A seleção dos alunos participantes foi realizada pela equipe técnica do Núcleo Regional de Educação de Campo Mourão, com apoio dos professores das escolas.

II.3 Testes microbiológicos

Para os testes microbiológicos os meios de cultura, bastante utilizados por professores de biologia, foram preparados em placas de Petri com gelatina sem sabor e caldo de carne (Figura 4a). A esse meio de cultura realizou-se, com cotonete, o esfregão de uma dispersão do fungo extraído do extrato de tomate (Figura 4b, 4c). Segundo Mariutti & Soares (2009) os fungos mais comuns em extrato de tomate são os *Aspergillus flavus* e *A. parasiticus*.

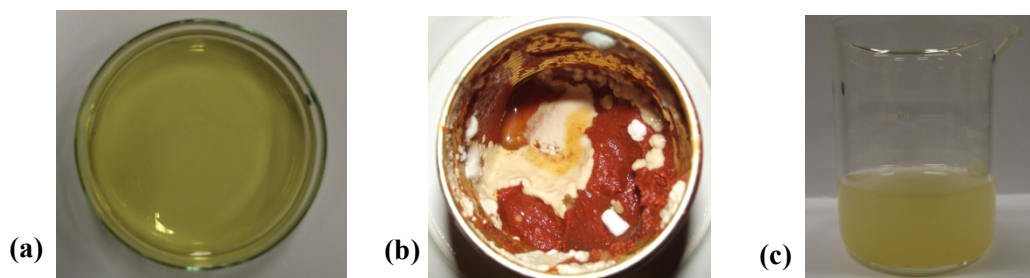


FIGURA 4. (a) Meio de cultura preparado com gelatina sem sabor e caldo de carne. (b) Fungo do extrato de tomate. (c) Dispersão do fungo.

Os óleos essenciais extraídos na primeira etapa do projeto foram testados quanto à sua atividade antifúngica em ensaios de inibição do crescimento micelial. Foram aplicados em pedaços de papel filtro de $0,5 \text{ cm}^2$, 3 gotas de óleo essencial, acomodando-os posteriormente no centro da placa de Petri contendo o meio de cultura e a dispersão do fungo.

As avaliações foram feitas 5 dias após a aplicação inicial, medindo-se o raio de inibição no desenvolvimento das culturas fúngicas. Para fins comparativos é necessária a preparação de um controle/padrão contendo apenas o fungo e o meio de cultura

III. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Escolher o tema óleos essenciais para a execução de um projeto interdisciplinar, envolvendo as disciplinas de química e biologia, possibilita aos professores dessas áreas abordarem a partir de atividades experimentais, temas que são muitas vezes de difícil entendimento dos alunos, como funções orgânicas e microbiologia. As atividades experimentais por si só, levam o educando a prática da observação, da formulação de indagações e estratégias para respondê-las, como a seleção de materiais, instrumentos e procedimentos adequados, da escolha do espaço físico e das condições de trabalho seguras, da análise e sistematização de dados (Fiorio *et al.*, 2012).

Na sequência são apresentadas algumas características dos óleos essenciais, seus constituintes e atividades biológicas e/ou farmacológicas associadas. Estas informações poderão ser utilizadas pelo professor para motivar os alunos no estudo da temática apresentada. Sugere-se ainda, que o professor, antes da aplicação deste projeto, faça uma leitura dos trabalhos de Guimarães *et al.* (2000), que relata a obtenção de óleos essenciais utilizando um destilador confeccionado com materiais alternativos, e de Dias & Silva (1996) que explora a química dos perfumes.

Outros óleos essenciais podem ser obtidos, utilizando a mesma metodologia, ou adquiridos em farmácias de manipulação ou em lojas que comercializam produtos naturais. Independente do óleo a ser utilizado, o professor e os alunos conseguirão facilmente informações sobre a composição química e as atividades biológicas e/ou farmacológicas dos óleos essenciais. Em português, existem vários artigos que versam sobre a composição química e atividades biológicas de óleos essenciais, tais como a Química Nova e a Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. Em inglês, além

de artigos em uma variedade de periódicos, é possível utilizar banco de dados especializados em produtos naturais, a exemplo do *Dictionary of Natural Products*, disponível no endereço eletrônico <http://dnp.chemnetbase.com>.

III.1 Óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

O cravo-da-índia é uma planta arbórea nativa das Ilhas Molucas ou Ilhas das Especiarias, localizadas na Indonésia, que pode atingir de 8 a 10 metros de altura. Considerada uma especiaria muito apreciada desde a antiguidade, seu botão floral seco é muito utilizado tanto em fins culinários quanto terapêuticos (Lorenzi & Matos, 2002). O principal princípio ativo extraído do cravo-da-índia é o eugenol, cujo nome IUPAC é 4-*alil*-2-metoxifenol. Todavia, constituintes como o β -cariofileno, isoeugenol e o acetato de eugenila também são encontrados no óleo essencial desta especiaria, cujas estruturas encontram-se representadas na Figura 5.

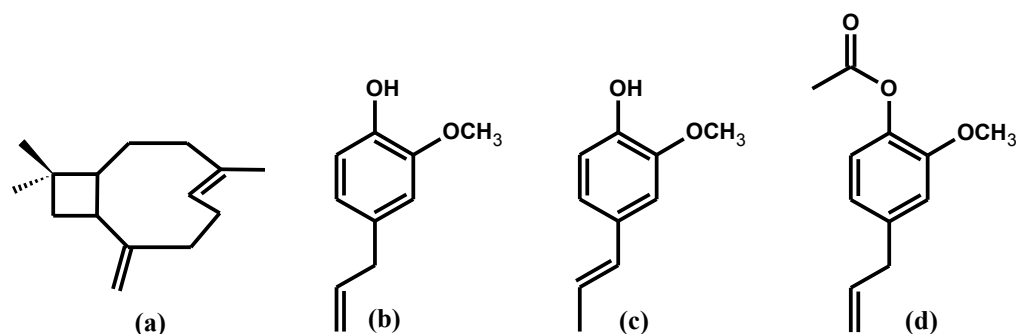


FIGURA 5. Estruturas do β -cariofileno (a), do eugenol (b), do isoeugenol (c) e do acetato de eugenila (d).

A concentração destes compostos, em especial do eugenol varia de acordo com a porção do vegetal analisada e a região na qual a planta foi cultivada. Um exemplo disso foi uma amostra de *S. aromaticum* coletada na região sul de Ilhéus, que apresentou elevado teor de eugenol e baixos teores de acetato de eugenila e β -cariofileno, em comparação com os resultados de Oliveira *et al.* (2009). Dentre as atividades relacionadas ao princípio ativo eugenol, destacam-se a antiviral, antiúlcera, afrodisíaca, antioxidante, inseticida, antimicrobiano, anestésico e anti-inflamatório.

III.2 Óleo essencial do anis estrelado (*Illicium verum*)

A árvore do anis estrelado, de origem chinesa, pode atingir até 5 metros de altura produzindo pequenas flores amarelas e folhas largas de coloração verde intenso, entretanto, o que mais caracteriza esta planta são seus frutos na forma de estrela, apresentando de 8 a 12 pontas, de cor acastanhada, sendo que em seu interior encontram-se inseridas as sementes.

Pode produzir até 4.000 frutos por colheita. Possui forte aroma característico, e é bastante apreciado na culinária, como temperos, chás e bebidas alcoólicas (Duarte, 2009). A parte utilizada do vegetal são os frutos com suas sementes, por apresentarem grande quantidade de óleos essenciais, que são empregados principalmente como aromatizantes, pelas indústrias farmacêutica, de bebidas e de perfumarias (Farias, 2010).

À confusão com a erva doce, dá-se acerca do nome "anis". No Brasil refere-se ao anis estrelado, porém no resto do mundo o termo "anis" ou "anis-verde" é empregado quando se refere à planta *Pinpinella anisum*, que aqui no Brasil é chamada de "erva-doce". O anis estrelado não é muito utilizado no Brasil, provavelmente em função do preço elevado.

Não é cultivado em nosso território, sendo importado principalmente da Europa. As principais características atribuídas ao principal componente no anis estrelado, direcionam-se ao controle de algumas atividades hormonais, como no tratamento da menopausa e da tensão pré-menstrual, além de ser carminativo, útil em problemas de obesidade, como calmante, digestivo, utilizado também para cólicas intestinais. É galactagogo, aumentando a produção de leite na mulher após o parto.

O *Illicium verum* apresenta em sua composição química o *trans*-anetol como componente majoritário (cerca de 90%), além do *cis*-anetol, metilchavicol e anisaldeído, e suas propriedades são atribuídas, principalmente, ao *trans*-anetol, que possui ação fungicida e inseticida (Lima *et al.*, 2008). Como constituintes minoritários, observa-se a presença de α -felandreno, safrol, terpinol e 1,4-cineol (Figura 6).

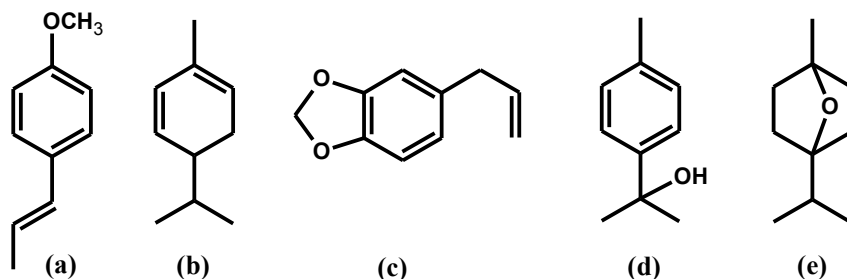


FIGURA 6. Estruturas de alguns constituintes do óleo essencial do anis estrelado: (a) *trans*-Anetol, (b) α -Felandreno, (c) Safrol, (d) Terpinol, (e) 1,4-cineol.

III.3 Óleo essencial da casca da laranja

A laranja é uma fruta nativa da China, mas cultivada em grande parte do mundo. Das suas cascas pode-se obter o óleo essencial de laranja que tem como princípio ativo majoritário, assim como o limão, o D-Limoneno (Figura 1). A principal aplicação do D-limoneno é como um precursor para a carvona, uma cetona terpênica com propriedades odoríferas e sápidas muito utilizada pela indústria alimentícia e na fabricação de dentifrícios. No entanto, está crescendo o seu uso como solvente, pois além de ser biodegradável, decompondo-se naturalmente pelos microrganismos existentes no meio ambiente, possui baixa toxicidade.

O princípio do D-limoneno tem chamado a atenção dos profissionais da saúde, afinal, de acordo com alguns estudos, tem se mostrado ativo contra vários tipos de câncer. Estudiosos do Hospital Universitário de Radbound na Holanda e do Departamento de Oncologia da Universidade de Wisconsin-Madison nos EUA, por exemplo, têm apresentado estudos sobre a eficácia do D-Limoneno sobre carcinógenos do corpo, como câncer gástrico.

III.4 Cromatografia em camada delgada

A cromatografia em camada delgada é um tema importante a ser abordado, principalmente no ensino de química orgânica experimental. É uma técnica simples e de execução relativamente rápida. Na química orgânica, a CCD é utilizada, principalmente, como uma ferramenta eficaz de análise qualitativa para avaliação da pureza de uma amostra simples, avaliação do número de componentes de uma mistura, determinação da identidade de uma amostra por comparação com um padrão, identificação de uma ou mais substâncias presentes em uma mistura por comparação com padrões, monitoramento do progresso de uma reação química, escolha de um solvente apropriado para uma separação cromatográfica em coluna e monitoramento de uma separação cromatográfica em coluna (Silva *et al.*, 2009).

Devido à composição química dos óleos essenciais obtidos, que consiste principalmente de monoterpênoides, com uma razoável diversidade de grupos funcionais, é possível, abordar a cromatografia em camada delgada sob

diferentes aspectos, tais como poder de eluição e poder de resolução de solventes, reveladores versus estrutura química e fator de retenção versus estrutura química. A Figura 7 apresenta as placas onde foram realizadas a cromatografia em camada delgada para os óleos essenciais da casca de laranja, de anis estrelado e de cravo-da-índia.

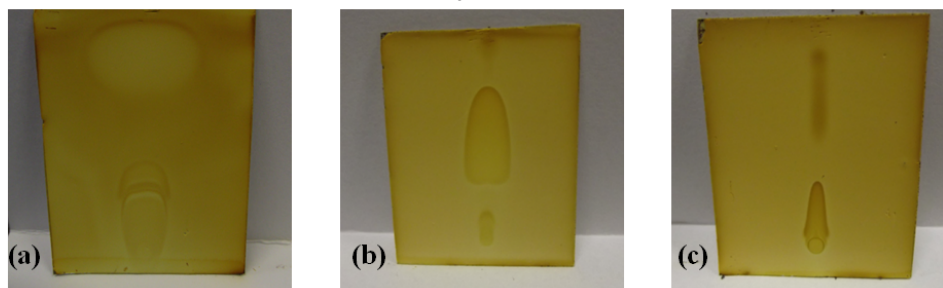


FIGURA 7. Resultado da cromatografia em camada delgada para os óleos essenciais da casca de laranja (a), de anis estrelado (b) e de cravo-da-índia (c).

A partir destes cromatogramas observa-se que o óleo essencial de laranja é constituído por uma mistura de vários compostos, separados em diferentes bandas, sendo o composto menos retido, mais apolar, o composto majoritário (Figura 7a). Este perfil cromatográfico está de acordo com os dados da literatura, onde verifica-se que o D-limoneno, hidrocarboneto monoterpênico, sempre é reportado como constituinte majoritário.

Já o óleo essencial de anis estrelado, por outro lado, possui menor diversidade química, apresentando um constituinte majoritário, de média polaridade, e baixas concentrações de compostos mais polares (Figura 7b). Este perfil cromatográfico era esperado, uma vez que o *trans*-anetol devido à presença de grupo funcional éter estabelece interações intermoleculares mais fortes com a sílica gel do que o D-limoneno, justificando a diferença entre as retenções destes dois compostos.

Para o óleo essencial de cravo-da-índia observa-se um perfil cromatográfico diferente das demais amostras avaliadas. Neste caso, o composto majoritário possui maior retenção (Figura 7c). A banda observada é característica de substâncias com caráter ácido, tal como ocorre para o eugenol, que devido a presença de grupo fenol em sua estrutura estabelece interações intermoleculares, com a sílica gel, mais forte do que o D-limoneno e o *trans*-anetol.

III.5 Ação antifúngica

Apesar de muitos fungos desempenharem importante papel socioeconômico e agroindustrial, participando da produção de alimentos como bebidas alcoólicas e outros fermentados como queijos finos, pães, combustíveis, enzimas para uso industrial e até mesmo antibióticos, a sua ação negativa muitas vezes prevalece, principalmente por serem agentes causadores de diversas doenças em plantas como a ferrugem do café (*Hemileia Vastatrix*), requeima da batata (*Phytophthora infestans*), pinta preta dos citros (*Guignardia Citircarpa*), além de serem responsáveis por várias doenças humanas como as micoses na pele e mucosas, candidíases, aspergiloses e diversos problemas respiratórios.

Os óleos essenciais extraídos por hidrodestilação foram avaliados frente aos fungos que se desenvolvem no extrato de tomate. A Figura 8 mostra o desenvolvimento de fungos no extrato de tomate, assim como os testes microbiológicos realizados.

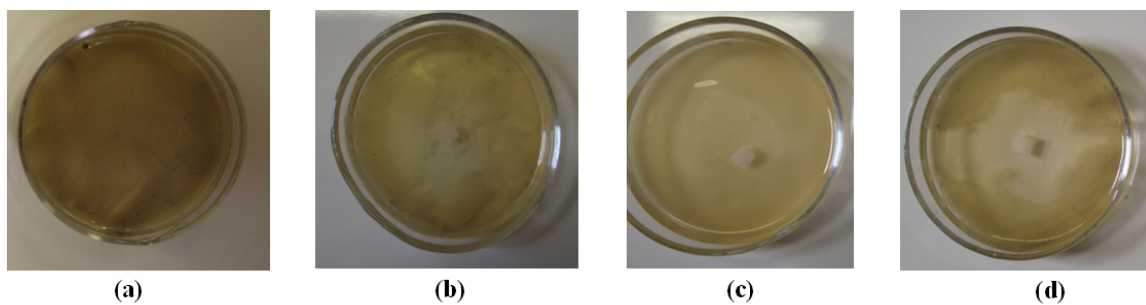


FIGURA 8. Aspecto visual observado nas avaliações do **(a)** controle, **(b)** óleo essencial da casca da laranja, **(c)** óleo essencial do anis estrelado e **(d)** óleo essencial do cravo da índia sobre o desenvolvimento de fungos do extrato de tomate.

Os resultados obtidos pelos testes, apresentados na tabela I, demonstram uma maior eficiência antifúngica dos extratos de óleo essencial do anis estrelado e do cravo-da-índia, quando comparados ao resultado do óleo essencial da casca de laranja, indicando o potencial antifúngico que estes óleos apresentam.

TABELA I. Inibição do crescimento do fungo do extrato de tomate por ação dos óleos essenciais extraídos.

Controle	Casca da laranja	Anis estrelado	Cravo-da-índia
0 %	16,7 %	66,7 %	50,0 %

Esses dados sugerem que os fenilpropanóides eugenol e *trans*-anetol apresentam maior efeito sobre os fungos que se desenvolvem em extratos de tomate do que o hidrocarboneto monoterpênico D-limoneno. Segundo Romero *et al.* (2012) a inibição de micro-organismos por óleos essenciais pode ocorrer por diferentes mecanismos de ação. Os efeitos tóxicos na estrutura e função da membrana celular têm sido utilizados para explicar a ação antimicrobiana dos óleos essenciais e de seus componentes isolados. Esses efeitos estão associados ao caráter lipofílico dos constituintes dos óleos essenciais, que sofrem partição da fase aquosa para dentro da membrana celular. Isto conduz à expansão da membrana, aumento da fluidez e da permeabilidade da célula, permitindo a liberação dos componentes intracelulares vitais à sobrevivência do micro-organismo. Alguns estudos sugerem que a ação antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser consequência da inativação de enzimas, incluindo aquelas envolvidas na produção de energia e na síntese de componentes estruturais do micro-organismo, além da destruição ou inativação de material genético.

IV. CONCLUSÕES

A proposta ora relata permite explorar uma variedade de conceitos inerentes as áreas de química orgânica e de microbiologia. Apesar de se tratar de um projeto interdisciplinar, o professor de química ou de biologia possui autonomia para utilizar todas as propostas apresentadas, em sequência ou não, assim como explorar uma ou outra metodologia, dependendo da disponibilidade de tempo e das condições do laboratório/escola.

A temática apresentada permite, ainda, explorar a relação entre antimicrobianos sintéticos e naturais, o uso indiscriminado destas substâncias, por exemplo, na agricultura ou pela população, tal como os antibióticos, que atualmente são comercializados apenas com prescrição médica.

Alternativamente, o professor poderá utilizar extratos aquosos de condimentos, tais como orégano (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e manjerição (*Ocimum basilicum*), assim como outros fungos que se desenvolvem em alimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Ministério da Educação MEC-Secretaria de Educação Superior (SESu), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e a Fundação Araucária pelo apoio concedido para a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

- Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H. & Kaya, E. (2005). Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochemical Systematics and Ecology*, 33, 245-256.
- Dias, S. M. & Silva, R. R. (1996). Perfumes - uma química inesquecível. *Química Nova na Escola*, 4, 3-6.
- Duarte, A. B. N. (2009). Avaliação da qualidade de amostras de *Illicium verum* Hook. f. comercializadas na região do Distrito Federal. *Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente*, 12(14), 17-31.
- Farias, M. C. de, (2010). Catalogação de ervas medicinal comercializadas no Mercado Público de São José, Recife/PE, associado a sua utilização. *X Jornada de ensino, pesquisa e extensão JEPEX*. Recife-BRA: UFRPE.
- Fiorio, J. L., Galvan, D., Teixeira, S. D., Pereira, E. A. & Carpes, S. T. (2012). A química dos óleos essenciais. Uma forma de abordagem de química orgânica no ensino médio. *4º Congresso Internacional de Educação de Pesquisa e Gestão*. UEPG. Ponta Grossa, Brasil.
- Freitas Filho, J. R., Almeida, M. A. V. de, Pina, M.S.L., Reis Filho, A. F., Oliveira, M. G. de, Arruda, A.M., Dantas, V. A. & Souza, M. V. J. de. (2013). Relato de uma Experiência Pedagógica Interdisciplinar: Experimentação Usando como contexto o Rio Capibaribe. *Química Nova na Escola*, 35(1). Artigo no prelo.
- Gramolelli, F. J., Paoletti, L. F., Oliveira, L. R., Canonico, L., Destéfano, H. R., Paula, V. I. de & Dobarro, V. R. (2006). Extração de óleos essenciais e verificação da atividade antifúngica. *Argumento*, 8(14), 49-65.
- Guimarães, P. I. C., Oliveira, R. E. C. & Abreu, R. G. (2000). Extraíndo óleos essenciais de plantas. *Química Nova na Escola*, 11, 45-46.
- Goldman, L. (1979). *Dialética e cultura*. Rio de Janeiro: Paz e Terra.
- Hartmann, A. M. & Zimmermann, E. (2007). O trabalho interdisciplinar a partir do tema Sociedade Sustentável: um desafio para a Física. *XVII Simpósio Nacional de Ensino de Física*.
- Japiassu, H. (1976). *Interdisciplinaridade e patologia do saber*. Rio de Janeiro: Imago. pp. 75.
- Lima, R. K., Cardoso, M. G., Moraes, J., Vieira, S., Melo, B. & Filgueiras, C. (2008). Composição dos Óleos Essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus*. Avaliação do efeito repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera: Aphididae). *Revista Bioassay*, 3(8), 1-6.
- Lorenzi, H. & Matos, F. J. (2002). *Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas*. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA.
- Mariutti, L. R. B. & Soares, L. M. V. (2009). Aflatoxinas em produtos de tomate. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(2), 431-434.
- Oliveira, R. A. de, Reis, T. V., Sacramento, C. K. do, Duarte, L. P. & Oliveira, F. de (2009). Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(3), 771-775.

- Romero, A. L., Romero, R. B., Silva, E. L., Diniz, S. P. S. S., Oliveira, R. R. & Vida, J. B. (2012). Composição química e atividade do óleo essencial de *Origanum vulgare* sobre fungos fitopatogênicos. *Unopar Científica - Ciências Biológicas e da Saúde*, 14(4), 231-235.
- Schaechter, M. E., Engleberg, N. C., Eiseinsten, B. I. & Medoff, G. (2002). *Microbiologia: mecanismos das doenças infecciosas*. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Sidrim, J. J. & Moreira, J. L. B. (1999). *Fundamentos clínico-laboratoriais da micologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Silva, R. S., Ribeiro, C. M. R., Borges, M. N. & Blois, G. S. O. (2009). Óleo essencial de limão no ensino da cromatografia em camada delgada. *Química Nova*, 32(8), 2234-2237.
- Simões, C. M. & Spitzer, V. (1999). *Farmacognosia da planta ao medicamento. Cap. 18: Óleos essenciais*. Florianópolis-BRA: Editora da UFSC.
- Thiesen, J. S. (2008). A interdisciplinaridade como um movimento articulador no processo ensino-aprendizagem. *Revista Brasileira de Educação*, 13(39), 545-554.
- Vági, E., Simándi, B., Suhajda, Á. & Héthelyi, É. (2005). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*, 38(1), 51-57.