

- **AVALIAÇÃO DO RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Petroselinum crispum* (salsa) em diferentes níveis de déficit hídrico.**

- *Mestranda: Ivania Burin Borges*
- *Orientadora: Dra Zilda Cristiani Gazim*



Introdução



www.herbal-essences.org



www.chachlakis.com.gr



Petroselinum crispum

- Pertence a família *APIACEAE*
- *Inflorescências em Umbela.*
- *Fruto é aquênio.*
- *Altura de 15-30cm*



www.ppmac.org



www.henriettes-herb.com

Petroselinum crispum

- ✓ Conhecida como salsa, salsinha e salsa das hortas.
- ✓ Está entre as especiarias mais consumidas do mundo.
- ✓ É muito utilizada na indústria alimentícia e como planta medicinal.



imgarcade.com/1/petroselinum-crispum/



imgarcade.com/1/petroselinum-crispum

Petroselinum crispum



www.artenaleira.blogspot.com.br

- Das partes aéreas (folhas e sementes) e raízes é extraído um óleo essencial (OE) usado para aromatizar alimentos, atividades biológicas e na agroindústria.



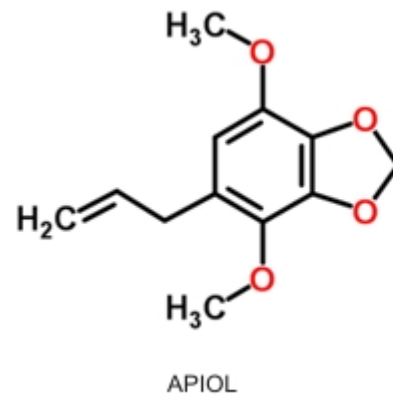
imgarcade.com/1/petroselinum-crispum



www.enirvana.com.br

Composição do óleo da salsa.

- Pineno
- Mirceno
- Felandreno
- Cimeno
- Metratiemo
- Elemeno
- Apiol
- Miristicina



<http://b2saude.blogspot.com.br>

Óleos essenciais



www.sersaudavelnossaescolha.blogspot.com.br

- ✓ São metabólitos secundários de plantas.
- ✓ Sua produção e composição variam com:

Fatores bióticos: Genéticos, idade, estágio de desenvolvimento, interação-planta-planta e interação microorganismos.

Fatores abióticos: Água, sazonalidade, salinidade, substrato e horário de coleta.

Óleos essenciais

- São usados na indústria:
- Alimentícia
- De medicamentos
- Cosmética
- De perfumaria



Óleos essenciais

- Podem atuar em sinergismo ou substituindo compostos químicos principalmente sintéticos.
- Podem ter função:
- Immunomoduladora
- Antioxidante
- Antimicrobiana



www.institutoalmaconsciente.wordpress.com



<http://melhorcomsaude.com/>

Déficit Hídrico nos vegetais

- ✓ A deficiência hídrica é uma das principais causas de perda da produtividade agrícola.
- ✓ A água apresenta correlação direta na concentração de metabólitos secundários ou seja composição dos óleos essenciais.



Experimento casa de vegetação Campus 3 Unipar

Objetivos:



www.herbal-essences.org



www.chachlakis.com.gr



Objetivos:

- Avaliar a interferência de dois níveis de déficit hídrico
- (0-10% controle)
- (30-40% nível 1)
- (50-60% nível 2)
- No desenvolvimento das partes aéreas e raízes
- No rendimento (%) e na composição química do OE.
- Nos índices físico-químicos
- densidade
- Índice de refração.



Experimento casa de vegetação Unipar.

Materiais e métodos:



www.herbal-essences.org



www.chachlakis.com.gr



Preparo do Solo

- Foi preparado com 65% esterco de curral e 35% de terra, então enviado para análise realizada no Laboratório Solo Fértil (CRQ-03751 e CRF-PR 015963/0), Umuarama –PR



<http://www.prosementes.com.br>



<http://www.prosementes.com.br>

-Análise do solo



Tabela 1. Análise de pH, macro e micronutrientes do solo utilizado no cultivo da salsa.

pH e macronutrientes									
pH	Al ³⁺	H ⁺ + Al ³⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	K ⁺	SB	CTC	P	C
6,91	0	1,89	13,25	0,21	13,46	15,35	188,0	23,38	
Micronutrientes									
V	Ca	Mg	K	Ca/Mg	Ca/K	Mg/K			
87,68	57,02	21,94	1,34	1,94	42,66	21,94			

Ca, Mg, Al: extraído com KCl 1 mol L⁻¹; **P, K:** extraído com Mehlich 1; **H + Al:** SMP método; **C:** Walkley& método negro; **SB:** Sum of Bases.

Fonte: Laboratorio Solo fértil.(Umuarama-PR)

A Tabela 1 mostrou um solo com:

- ✓ pH 6,9
- ✓ Baixos teores de Al (1,89.)
- ✓ Saturação de base de (V) de 87,68%.
- ✓ Substrato ideal para cultivo de salsa.(PH 5,8 e 6,8)
- ✓ Rico em matéria orgânica

Obtenção do material vegetal

- Plântulas do cultivar graúda portuguesa.
- Com aproximadamente 21 dias foram obtidas em sementeiras
- Quando foram então transferidas para vasos de 2L,
- Foram 120 vasos, 40 vasos por tratamento.



<http://www3.uma.pt/biopolis>



Plantulas 21 dias



Experimento casa de vegetação Campus Unipar

Identificação botânica

- A espécie foi identificada e a exsicata de *P. crispum* (Mill.) está depositada no Herbário Educacional da Universidade Paranaense (HEUP) sob o número 192.



Fonte :Horto medicinal Universidade Paranaense-Umuarama-PR

Aplicação dos déficits hídricos.

Plantas dois meses

40 vasos por tratamento

Controle(**vermelho 0-10%**)

nível 1 (**amarelo 30-40%**)

nível 2 (**azul 50-60%**)

capacidade de campo



Experimento casa de vegetação Unipar.

5-Extração do óleo

- ✓ Foi por hidrodestilação;
- ✓ Tempo 3 horas
- ✓ Retirado com hexano (P.A)
- ✓ Filtrado com Na_2SO_4 anidro
- ✓ Acondicionado em frascos âmbar
- ✓ Sob refrigeração e aberto até evaporar o hexano.
- ✓ A pesagem de cada extração para o cálculo do rendimento do óleo (%).
- ✓ Extração em triplicata por tratamento.



<http://www.socotech.cl>



Laboratório de Fitoquímica Unipar.

6-Determinação dos constituintes químicos do óleo essencial de *P. crispum* por CG-EM



Programação do cromatógrafo:

Tabela 2: Condições de análise cromatográfica por CG/EM
(Petropoulos, 2008)

Temperatura da coluna	50°C por 5 minutos Taxa de aquecimento: 6°C/min até 300°C
Temperatura do injetor	250°C
Temperatura do detector	320°C
Modo de injeção	Splitless (0.5 min)
Fluxo gás carreador	Hélio 4,8 mL/min.
Coluna DB-5	(30m x 0,25mm x 0,25 µm)



<http://www.ica.ufmg.br/>

7-Índices físico-químicos



- Índice de Refração

- ✓ O índice de refração foi determinado em refratômetro do tipo ABBE, modelo RL3, marca PZO warszawa a 20°C (FARMACOPÉIA, 1988).



fonte: <https://www.google.com.br/search?q=O+índice+de+refração>

- Densidade

- ✓ Densidade relativa da substância é a razão de sua massa, pela massa igual ao volume de água, ambas a 20°C conforme a técnica descrita na Farmacopéia, (1988).

Resultados e discussão:



www.herbal-essences.org



www.chachlakis.com.gr





-Desenvolvimento da planta(cm e g)

Tabela 2.Influência dos níveis de déficit hídrico(controle, nível 1 e nível 2) da capacidade de campo no desenvolvimento das partes aéreas e raiz.

		controle (0-10%)	Nível 1 (30-40%)	Nível 2 (50-60%)
Desenvolvimento	Parte aérea (cm)	20,00±0,30 ^a	18,31±0,25 ^b	15,33±0,05 ^c
	Parte aérea (g)	144,54±6,54 ^a	128,33±9,5 ^a	90,36±68,16 ^b
	Raiz(cm)	19,89±0,08 ^a	16,67±0,17 ^a	17,89 ±0,17 ^a
	Raiz (g)	145,41±9,32 ^a	137,00±9,00 ^a	109,34±5,85 ^a

Desenvolvimento da planta



Diferentes níveis de déficit hídricos e desenvolvimento das partes aéreas.

Biomassa partes aéreas



		Controle (0-10%)	Nível 1 (30-40%)	Nível 2 (50-60%)
Experimento	Parte aérea (g)	144,54 ± 6,54 ^a	128,33 ± 9,5 ^a	90,36 ± 8,16 ^b
Petropoulos, 2008	Parte aérea (g)	62,30	32,8	29,6

✓ esses resultados foram compatíveis com os resultados encontrados no presente experimento em que > déficit hídrico < biomassa.

Biomassa Raiz



		Controle (0-10%)	Nível 1 30-40%	Nível 2 (50-60%)
Experimento	Raiz (g)	145,41±9,32 ^a	137,00±9,0 ^a	109,34±5,85 ^a
Petropoulos, 2008	Raiz (g)	17,8	11,3	7,3

- ✓ Este experimento não encontrou diferenças entre a biomassa no diferentes níveis de déficit hídrico.
- ✓ Culturas em vasos com maior densidade podem obter menor biomassa de raízes, levando-se em
- ✓ consideração o menor espaço que tem para se desenvolver ; (MAROTTI et al., 1994).

Desenvolvimento (cm)



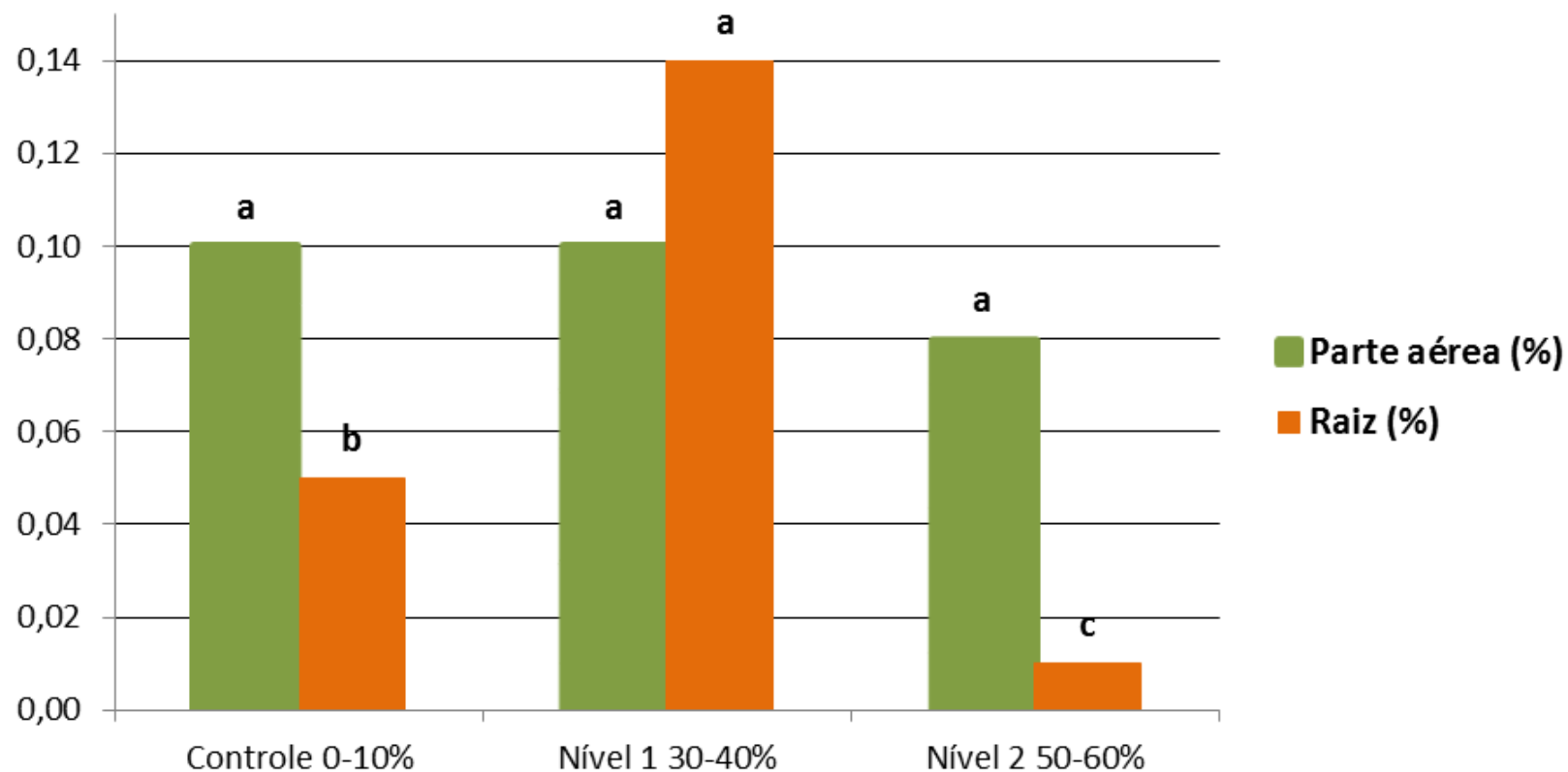
		Controle (90-10%)	Nível 1 30-40%	Nível 2 (50-60%)
Desenvolvimento	Parte aérea (cm)	20,0±0,30 ^a	18,31±0,25 ^b	15,33±0,05 ^c
	Raiz(cm)	19,71±0,08 ^a	16,67±0,17 ^a	17,89±0,017 ^a

- ✓ Houve diferença entre o desenvolvimento das partes aéreas, > déficit hídrico , < desenvolvimento.
- ✓ Culturas em vasos com maior densidade podem obter menor comprimento de raízes, levando-se em consideração o menor espaço que tem para se desenvolver ; (MAROTTI et al., 1994).

Rendimento do óleo da salsa.



Rendimento do OE de Salsa - Parte Aérea e Raiz (%)



Raiz.

Controle= 0,05%

Nível 1= 0,14%

Nível 2= 0,01%

Rendimento do óleo



- Em *Pimpinella anisum* família *Apiaceae* avaliada por Zehtab et al. (2001)
- Encontrou maior rendimento OE em déficit hídrico de 20%, houve semelhança com os níveis de déficit hídrico 30-40% do presente experimento.



Rendimento do óleo



- Bettaieb et al (2009) encontrou maior rendimento do óleo de *Salvia officinalis*;
- estresse moderado (50%), obteve (1,77%)
- estresse severo (75%) em que obteve (1,01%)
- controle (0%) com rendimento (0,39%).
- Esses resultados estão em conformidade com o presente trabalho.
- Petropoulos et al (2008) avaliou o rendimento do óleo da salsa, mas não obteve diferença entre os níveis avaliados.



Rendimento do óleo



- Farahani et al (2009) avaliaram cinco níveis de déficit hídrico em *Melissa officinalis* (0,20,30,40,60 e 80%)
- Maior rendimento do óleo foi em 40% (estresse moderado).
- Resultado que se assemelha a este experimento em que na raiz o maior rendimento do óleo foi em déficit hídrico de 30-40%.



<http://ernest.orgfree.com/>

Tabela 3. Influência dos níveis de déficit hídrico na composição química do OE extraído das partes aéreas e raiz da *P. crispum*. **Controle (0-10%), nível 1 (30-40%), nível 2 (50-60%).**



Pico	Compostos ^A	^a IRLit.	^b IRcalc.	Parte Aérea			Raiz			Métodos de identificação
				Controle (0-10%)	Nível 1 (30-40%)	Nível 2 (50-60%)	Controle (0-10%)	Nível 1 (30-40%)	Nível 2 (50-60%)	
1	β- felandreno	1025	1000	t	t	t	t	t	t	a, b, c
2	Canfora	1141	1100	t	t	t	t	t	t	a, b, c
3	β—elemeno	1389	1326	t	t	t	t	t	t	a, b, c
4	β- Cariofileno	1419	1446	t	t	t	t	t	t	a, b, c
5	β-bisaboleno	1484	1480	t	t	t	t	t	t	a, b, c
6	Miristicina	1517	1501	t	t	3,49± 0,02	t	t	3,61 ± 0,02	a, b, c
7	β-sesquifelandreno	1521	1505	t	t	6,53 ± 0,03	t	t	5,83 ± 0,04	a, b, c
8	γ-bisaboleno (E)	1529	1509	t	t	t	t	t	t	a, b, c
9	Elemicina	1555	1523	t	t	t	t	t	2,16 ± 0,01	a, b, c
10	Apiol	1677	1643	100 ± 0,00	100 ± 0,00	89,98±0,05	100 ± 0,00	100 ± 0,00	88,40 ± 0,09	a, b, c

Os valores das áreas (%) obtidas por CG, foram calculados a partir das médias ± erro padrão a partir de três repetições independentes

Métodos de Identificação:

^a**IRcalc.**- Índice de retenção calculado utilizando *n*-alcanos C₇ – C₂₅em coluna DB-5 (fenilmetilsiloxane 5%).

^b**IR lit.**- Índice de retenção relativo encontrado na literatura em coluna capilar DB5 e comparação dos Índices de Retenção e/ou dos Espectros de Massas com a Literatura (ADAMS, 2007).

^c**MS**- Identificação baseada na comparação com os espectros de massa da espectrotecaWiley 275 libraries

t- traços

^A Compostos listados em ordem de eluição pela coluna DB-5 (fenilmetilsiloxane 5%).

Composição química

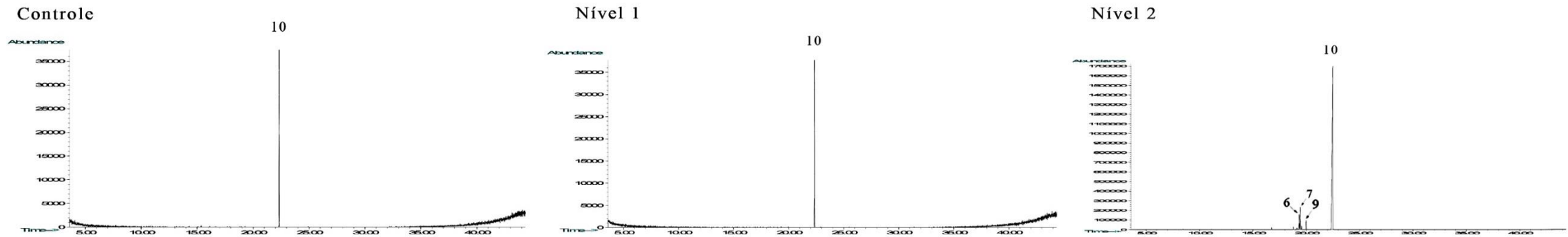


Área (%) da Composição do óleo essencial de <i>P.crispum</i> (Salsa)							
Pico	^A Composto	Parte Aérea			Raiz		
		Controle	Nível 1	Nível 2	controle	Nível 1	Nível 2
1	Miristina	t	t	3,49	t	t	3,61
2	β -sesquiphellandreno	t	t	6,53	t	t	5,83
3	Apiol	100	100	89,98	100	100	88,40
Área (%) da Composição do óleo essencial de <i>P.crispum</i> (Salsa) – Petropoulus; 2008.							
1	miristicina	28,63	33,43	33, 35	13,55	16,05	7,7
2	β -felandreno	25,07	23,63	21,97	20,95	14,37	19,8
3	apiol	t	t	t	23,59	33,92	25,59
4	pineno	t	t	t	16,43	12,97	21,0

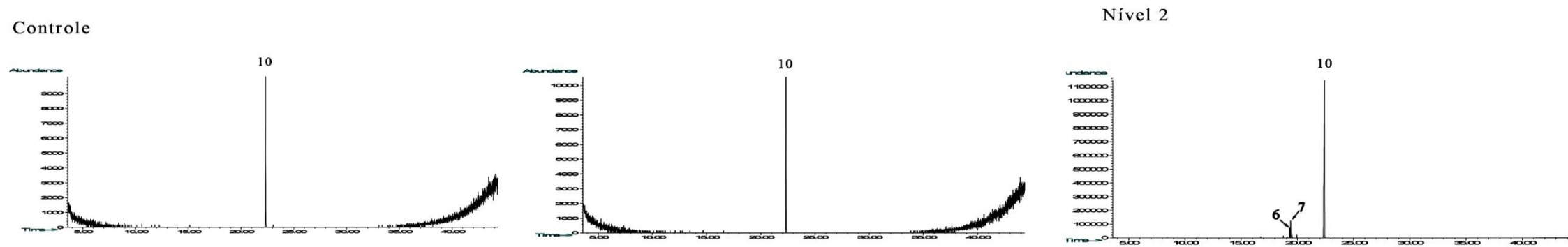


Figura 2: Cromatogramas obtido por CG do óleo essencial de *P. crispum* extraído das partes aéreas e raiz submetido a diferentes níveis de déficit hídrico. Controle ,nível 1 e nível 2

RAIZ



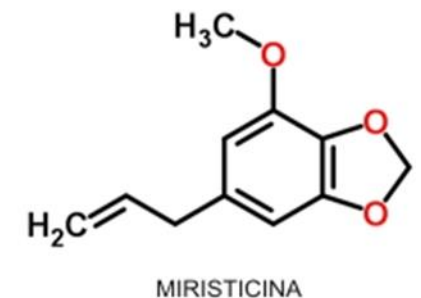
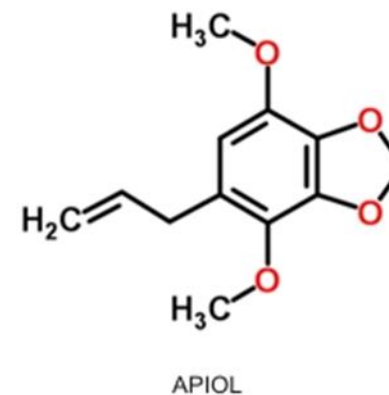
PARTE AÉREA



6 = Miristicina; 7 = β -Sesquifelandreno; 9 = Elemicina; 10 = Apiol

Apiol e miristicina

Estudos realizados com OE de *P. crispum* revelam que os fenilpropanóides apiol e miristicina apresentam propriedades antioxidantes podendo a miristicina ser usada como um quimiopreventivo e o apiol utilizado em diversas atividades biológicas principalmente antifúngicas (Reyeset al,2012).



Índices físico-químicos.



Tabela 4. Influência dos níveis de déficit hídrico controle, nível 1 e nível 2 nos índices físico-químicos do óleo essencial de *P. crispum*

Óleo essencial	Índices físico químicos	
	Índice de Refração	Densidade relativa
	n_D^{20}	d_{20}^{20}
Parte Aérea		
Controle	1,5305 ± 0,00 a	1,27 ± 0,35 a
Nível 1	1,5310 ± 0,00 a	1,65 ± 0,01 a
Nível 2	1,5312 ± 0,00 a	1,45 ± 0,42 a
Raiz		
Controle	1,5285 ± 0,00 a	1,15 ± 0,01 a
Nível 1	1,5250 ± 0,00 b	1,27 ± 0,00 a
Nível 2	1,5245 ± 0,00 c	1,27 ± 0,00 a
Níveis de déficit hídrico da capacidade de campo		

Não se observou correlação entre a densidade e o índice de refração.

- ✓ Encontrados por Stankovic et al.(2005)
- ✓ Densidade de 1,039g mL⁻¹ a 1,061 g mL⁻¹
- ✓ Índice de refração 1,52214 a 1,5273.

Composição química



- ✓ As diferenças apresentadas nos resultados entre o presente experimento e de Petropoulos et al. (2008), podem ter ocorrido devido ao cultivar, solo utilizado, localização geográfica, clima, visto que são fatores que interferem na composição química do OE.



Experimento casa de vegetação Unipar.

Conclusão

- Plantas que receberam menos água obtiveram menor desenvolvimento das partes aéreas, mas não das raízes.
- O estresse moderado nível 1 apresentou maior rendimento do óleo essencial nas raízes, sem alterar o rendimento das partes aéreas.



Conclusão

- Na composição química do óleo, o composto majoritário foi o apiol em todos os níveis de déficit hídrico. Sendo 100% nos níveis 1 e controle.
- Esses resultados são promissores para obtenção de compostos isolados utilizados em atividades biológicas, na indústria alimentícia, e farmacêutica.



Agradecimentos



✓ Os autores agradecem:

- ✓ A CAPES,
- ✓ A Universidade Paranaense (UNIPAR),
- ✓ Ao Instituto de química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (IQ-UFRJ)
- ✓ Ao Centro Universitário Maringá (CESUMAR) pelo apoio.



Obrigada!