



## DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) MODIFICADO SONOELETROQUIMICAMENTE

Joana L. B. Sitônio<sup>1</sup>; Raquel E. L. Assunção<sup>1</sup>; Letícia C. Santos<sup>1</sup>; Thiago F. L. Loeser<sup>2</sup>; Elton L. Borges<sup>2</sup>; Márcio Vilar<sup>1</sup>; Sofia S. F. B. Rodrigues<sup>1</sup>; Francisco B. P. Júnior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Federal de Pernambuco - Campus Recife (IFPE)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

**Palavras-Chave:** Hidrogenação sonoeletrocatalítica, Borneol, *Fusarium* sp.

### Introdução

Os óleos essenciais, produtos vegetais extraídos de diversas partes das plantas por processos específicos, são comumente separáveis por arraste de vapor d'água. Constituem um dos mais importantes grupos de matérias primas para várias indústrias, especialmente as de perfumaria, alimentos e farmacêuticas. A partir destas questões e com o aumento do consumismo verde, verifica-se a necessidade de pesquisas voltadas para a busca de compostos naturais que substituam substâncias sintéticas e/ou convencionais com a finalidade de diminuir as suas quantidades nos diferentes tipos de produtos. Assim sendo, utilizar o processo de modificação molecular dos componentes químicos dos óleos essenciais pode ser uma alternativa tecnológica, pois traz a possibilidade não só de alterar como também potencializar a atividade biológica atribuída àquele componente, isoladamente ou em sua ação sinérgica, quando presente em um óleo essencial (ARAÚJO et al., 2016).

Por meio da determinação de atividade biológica do óleo essencial, como a atividade antimicrobiana e antifúngica, é possível avaliar como a alteração na composição química do óleo pode levar a respostas diferentes, dependendo do(s) constituinte(s) químico(s) que sofra(m) alteração em sua estrutura e/ou em seus teores (SILVA et al., 2010), podendo esta atividade ser potencializada ou minimizada (WINSKA et al., 2019). Dentre várias plantas medicinais que apresentam estes compostos na composição química de seus óleos essenciais, está o alecrim. A espécie *Rosmarinus officinalis* é uma planta da família Labiatae (Lamiaceae) da região mediterrânea da Europa. É também popularmente conhecido como alecrim, “alecrim-de-jardim” e “alecrim-rosmarino” (MATOS, 2002). Os terpenos: cânfora, 1,8-cineol,  $\alpha$ -pineno, verbenona, borneol e piperitona apresentam-se como os principais componentes do óleo, sendo reconhecidos pelas suas atividades inseticidas, antioxidantes e antimicrobianas (CLEFF et al., 2012).

A modificação molecular de seus componentes pode trazer, não só uma maior estabilidade às formulações, como potencializar atividades biológicas atribuídas originalmente a um determinado óleo essencial. Neste sentido, por meio da hidrogenação catalítica (HC), que é um processo sustentável aplicado à hidrogenação de substâncias com diferentes graus de insaturação (derivadas da biomassa, hidrocarbonetos, óleos, etc), pode-se obter formulações com excelentes rendimentos (VILAR; NAVARRO, 2010; VILAR; NAVARRO, 2012). Contudo, são necessárias condições extremas (alta pressão e temperatura)

para acelerar o processo de HC, levando a subprodutos e a um aumento significativo dos custos operacionais.

A atividade antifúngica será avaliada frente a fitopatógenos, entre eles o fungo *Fusarium* sp. A escolha por este fungo é decorrente da limitação que ele provoca na vida pós-colheita, ocasionando podridões (MENGZE et al., 2021; ZHANG et al., 2014; VASCONCELOS, SILVA & CARVALHO, 2014).

Nesse sentido, a proposição de novos produtos naturais que promovam o controle de importantes doenças em frutos, como as causadas por fungo, poderá auxiliar em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), contribuindo para redução de defensivos agrícolas, minimização de problemas ambientais decorrentes do uso desses produtos e prolongamento do período de conservação dos frutos.

Diante do exposto, a presente pesquisa tem como objetivo avaliar a atividade antifúngica da biomassa obtida como produto da modificação eletroquímica de componentes do óleo essencial de *R. officinalis* mediada por ultrassom.

### Material e Métodos

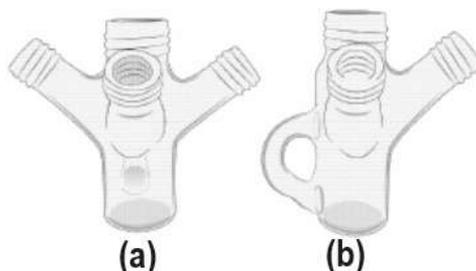
As partes aéreas do alecrim foram adquiridas diretamente do produtor e colocadas para secar. Foram pesadas 207 gramas de folhas sem os caules e adicionadas a 3 litros de água em um balão de fundo redondo de 5 litros. A extração do óleo essencial de alecrim foi feita utilizando um sistema (adaptação do Clevenger) com manta aquecedora, balão de fundo redondo, separador de óleo e condensador. O vapor gerado durante o aquecimento foi condensado em hidrolato e óleo essencial.

Os procedimentos de hidrogenação sonoeletrocatalítica foram realizados usando um potenciostato Autolab PGSTAT101 e um homogenizador ultrassônico Bandelin Sonopuls HD 2070 com uma ponteira de titânio (aplicação de ultrassom) (Figura 1). O reator aletado de 50 mL com três vias (Figura 2): retirada de alíquotas, eletrodo de trabalho e ânodo de sacrifício, ambos de níquel, separados por 2 cm. O reator foi preenchido com 30 mL de água do mar e 0,5 mmol de óleo essencial de alecrim. O probe foi imerso 3 cm na solução, com reações ocorrendo sob corrente de 350 mA dm<sup>2</sup> e 28 W de ultrassom por 60 minutos.

Figura 1 - Reator de ultrassom.



**Figura 2** - Reatores sonoeletriquímicos. (a) Visão frontal do reator aletado (BR 30 2017 003822 0) e (b) visão lateral do reator aletado (BR 30 2017 003822 0).



Para a análise cromatográfica, o óleo essencial e seu produto reacional foram submetidos ao GC e GC-MS para identificação dos compostos químicos. Foi utilizado um cromatógrafo a gás GC: HP5890 Series II com detector de ionização de chamas e coluna capilar Ultra 1. As análises foram realizadas nas seguintes condições: 0min a 60oC, aumentando 10oC/min até 280oC, mantendo 35 min nessa temperatura. O hidrogênio foi utilizado como gás de arraste. O GC-MS (Finnigan GCQ Mat) foi operado com uma coluna capilar DB5 utilizando hélio como gás de arraste. A identificação dos compostos foi realizada comparando os espectros de massa com o banco de dados Wiley/NBS e dados da literatura.

Os fungos foram isolados a partir de fragmentos da casca do abacaxi com partes doentes (lesões escuras). Foram cultivados em placas de Petri com meio de cultura Agar Batata Dextrose e cloranfenicol, sendo depois repicados em outras placas e tubos de ensaio. A identificação do *Fusarium* sp. em um dos isolados foi analisada em comparação com a literatura (SINGH et al, 1991; SAMSON et al, 1996, entre outras) pela macromorfologia dos fungos, seguida pela micromorfologia com a técnica do microcultivo, seguindo a metodologia de Riddell (1950). Os ensaios de atividade antifúngica foram feitos tanto do óleo essencial (óleo padrão) quanto da biomassa obtida no processo de hidrogenação sonoeletrocatalítica (óleo modificado). As concentrações (0; 0,23; 0,46; 0,69; 0,92  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) e suas respectivas proporções de água e óleo estão descritas na tabela 1. Em uma cabine biológica, as emulsões de água e óleo foram preparadas e adicionadas para seu respectivo frasco com meio, que foram misturados e distribuídos para placas em quintuplicata. As placas de atividade antifúngica foram incubadas com discos contendo *Fusarium* sp. por 7 dias, medidas diariamente.

**Tabela 1** - Proporções do volume de água e óleo em diferentes concentrações.

Concentração de óleo em meio ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Volume do óleo (padrão e modificado) em $\mu\text{L}$	Volume de água purificada estéril ( $\mu\text{L}$ )	Volume final da emulsão ( $\mu\text{L}$ )
0	0	3100	3100
0,23	25	3075	3100
0,46	50	3050	3100
0,69	75	3025	3100

0,92	100	3000	3100
------	-----	------	------

## Resultados e Discussão

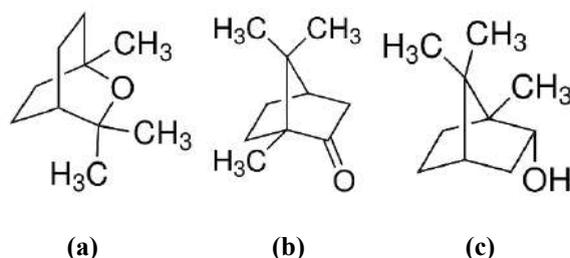
A massa do óleo extraído foi 3,44 gramas. Logo, o teor de óleo em rendimento massa do óleo/massa da planta foi aproximadamente 1,66%. O resultado está conforme Porte & Godoy (2001), os quais descreveram rendimento de 0,5 a 2,5% do óleo.

A hidrogenação de compostos insaturados, como é o exemplo dos constituintes do óleo essencial de alecrim, consiste em um processo no qual as ligações olefínica ou carbonílicas são reduzidas a um álcool.

De acordo com Angioni et al. (2004), existem vários quimiotipos referentes a composição do óleo essencial de alecrim, são eles: 1,8 cineol,  $\alpha$ -pineno, cânfora, verbenona, dentre outros.

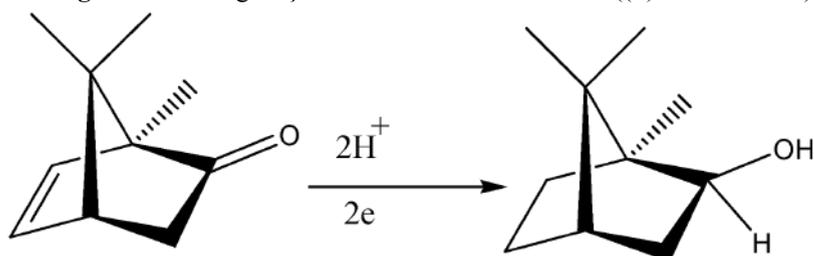
Neste sentido, o óleo essencial comercial de alecrim utilizado nos experimentos, precisou ser analisado cromatograficamente com objetivo de identificar seus principais constituintes. De acordo com a análise cromatográfica (Tabela 2), o óleo apresentou diferentes constituintes, tais como: (+)-4-Carene (0,63%), Eucalyptol (39%), beta-Ocimene (0,06%),  $\gamma$ -Terpinene (0,98%), Linalool (0,97%), Fenchol (0,038%), (+)-2-Bornanone (11%), L-Menthona (0,067%), borneol (4,15%), dentre outros, corroborando assim os dados descritos na literatura.

**Figura 3** - (a) Eucaliptol (1,8-coneol), (b) Cânfora ((+)-2-Bornanona) e (c) Borneol ou isoborneol.



Todavia, o eucaliptol (Figura 3a) não é passível de hidrogenação por não possuir duplas ligações insaturadas em sua estrutura, mas a (+)-2-Bornanone (Figura 3b), um composto químico pertencente à classe dos monoterpênicos, pode ser hidrogenada ao seu álcool correspondente, o Borneol (Figura 3c e Figura 4).

**Figura 4** - Hidrogenação eletrocatalítica da cânfora ((+)-2-Bornanone).



Portanto, para melhor analisar a proporção dos constituintes no blend do óleo essencial de alecrim, tomamos por base apenas a relação entre (+)-2-Bornanone e Borneol, conforme dados de área absoluta descritos na Tabela 2.

**Tabela 2** - Componentes, Match Factor, Área e Área Absoluta e Tempo de Retenção do cromatograma obtido do Óleo Essencial Comercial de Alecrim (doTerra).

Componente	Match Factor (%)	Área (%)	Área Absoluta	Tempo de retenção
3-Carene	95,5	0,386	6847900,4	5,2482
(+)-4-Carene	97,1	0,633	11236493,4	5,3690
Benzene, 1-methyl-3 (1-methylethyl)-	98,5	2,034	36087528,3	5,5502
Eucalyptol	97,7	39,078	693443549,0	5,7315
.beta.-Ocimene	90,0	0,065	1161297,6	6,0537
.gamma.-Terpinene	99,0	0,983	17439381,6	6,3154
5-Isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hexan-2-ol	97,3	0,188	3337344,6	6,5168
(+)-4-Carene	97,7	0,492	8722673,8	7,0202
Linalool	98,7	0,972	17253107,2	7,2820
Fenchol	90,1	0,038	677987,4	7,6444
2-Cyclohexen-1-ol, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-, trans-	89,7	0,031	555723,5	7,8458
Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)]	85,4	0,045	802113,5	8,2888
<b>(+)-2-Bornanone</b>	<b>98,7</b>	<b>11,035</b>	<b>195814420,4</b>	<b>8,4297</b>
L-Menthone	89,6	0,067	1194654,8	8,6713
<b>Borneol</b>	<b>98,9</b>	<b>4,152</b>	<b>73680350,2</b>	<b>8,9533</b>
3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	99,0	1,203	21347441,5	9,2553



L-.alpha.-Terpineol	98,7	2,279	40438251,0	9,5976
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7- trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	99,2	1,759	31222535,4	12,0743
.alpha.-Cubebene	94,0	0,075	1339540,1	13,7054
Ylangene	94,6	0,093	1643565,7	14,2692
Copaene	97,4	0,359	6363391,6	14,3699
Bicyclo[5.2.0]nonane, 2- methylene-4,8,8-trimethyl- 4- vinyl-	86,1	0,026	453534,4	15,1552
Caryophyllene	98,9	5,728	101651547,4	15,4774
(1R,2S,6S,7S,8S)-8-Isopropyl-1- methyl-3-methylenetricyclo[4.4.0.0 2,7]deca ne-rel-	94,3	0,105	1860268,9	15,6988
1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9- tetramethyl-, Z,Z,Z-	98,4	0,668	11848937,5	16,3029
.gamma.-Muurolene	96,4	0,314	5565158,4	16,8667
1H-Cyclopropa[a]naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro- 1,1,7,7a-tetramethyl-, [1aR- (1a.alpha.,7.alpha.,7a.alpha.,7b.a lpha.)]-	92,3	0,122	2173462,0	17,3097
.alpha.-Muurolene	93,3	0,119	2110090,1	17,4306
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a- octahydro-7-methyl-4-methylen e- 1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	95,0	0,170	3009236,4	17,7729
Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a- hexahydro-4,7-dimethyl-1- (1- methylethyl)-, (1S-cis)-	97,1	0,416	7374146,3	17,9944
Caryophyllene oxide	97,0	0,283	5015109,3	19,3838
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	90,8	11,186	198492238,0	25,5051
n-Hexadecanoic acid	93,7	0,546	9697453,1	27,3174



1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(3-methylbutyl) ester	95,7	1,027	18221158,6	29,3310
Hexadecanoic acid, 2-methylpropyl ester	82,4	0,129	2297843,9	30,6600
Octadecanoic acid	89,1	0,246	4359551,5	31,0023
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	97,1	6,393	113439797,3	37,2646

Considerando apenas as áreas absolutas da (+)-2-Bornanona e do Borneol (195814420,4 e 73680350,2, respectivamente, observa-se a existência prévia de Borneol (molécula alvo), com um percentual relativo de 27,34% em relação a (+)-2-Bornanona, cujo área percentual foi de 72,66%. O “Match Factor” ou, em tradução livre, índice de similaridade, é parâmetro usado para avaliar a similaridade entre um padrão de referência e um componente analisado em uma cromatografia gasosa. Neste sentido, no óleo comercial de alecrim, este índice alcançou 98,7% e 98,9 de similaridade na identificação da (+)-2-Bornanona e do Borneol, respectivamente.

De acordo com a literatura (MASON, 2002), a aplicação de US em processos eletroquímicos possui benefícios bem conhecidos, tais como: 1) a melhoria do transporte de massa de/para o catalisador e a solução, que afeta fenômenos dependentes da concentração; 2) a diminuição da camada de difusão, que afeta a transferência de elétrons no processo de hidrogenação eletroquímica e 3) a modificação dos fenômenos de superfície do catalisador (adsorção/dessorção), a diminuição da incrustação do catalisador e a remoção de impurezas do eletrodo. Dentre esses benefícios, o mais marcante para o processo estudado é o aumento de solubilidade (emulsificação) do óleo essencial no sistema reacional que utiliza apenas água do mar como solvente. De fato, esta hipótese comprova-se caso haja, após a reação sonoeletroquímica, uma redução percentual da cânfora (ou (+)-2-Bornanona) e um aumento gradual da área para o Borneol.

Neste sentido, analisando os dados da cromatografia gasosa com espectrometria de massas do óleo essencial comercial submetido à hidrogenação sonoeletroquímica (Tabela 3), verifica-se a presença de (+)-2-Bornanona e do Borneol, ambos com índice de similaridade de 98,9% e 97,9%, respectivamente. No que concerne aos tempos de retenção, nota-se que tanto o óleo essencial comercial quanto o óleo modificado, não tiveram dispersão em suas corridas, evidenciando a repetibilidade da análise cromatográfica e auxiliando, portanto, na análise comparativa das amostras.

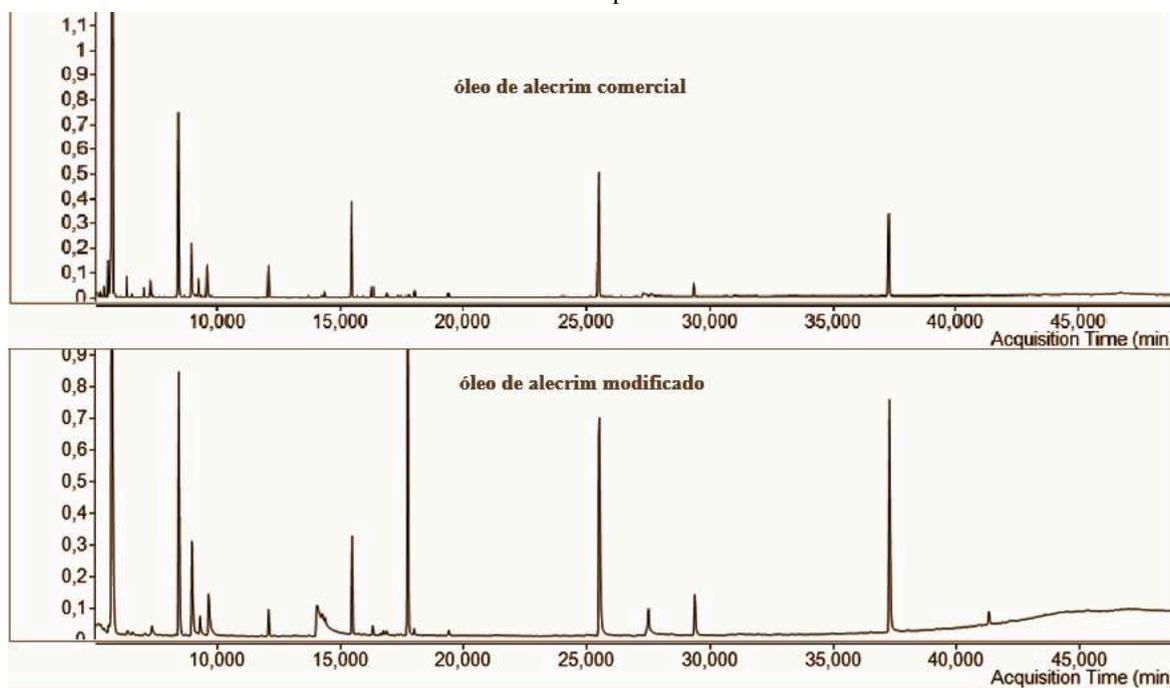
**Tabela 3** - Componentes, Match Factor, Área e Área Absoluta e Tempo de Retenção do cromatograma obtido do Óleo Essencial de Alecrim (doTerra) modificado sonoeletroquimicamente.

Componente	Match Factor (%)	Area (%)	Area Absoluta	Tempo de retenção
------------	------------------	----------	---------------	-------------------



Eucalyptol	98,6	26,098	68093245, 0	5,7315
Linalool	89,9	0,557	1453616,6	7,3625
<b>(+)-2-Bornanone</b>	<b>98,7</b>	<b>9,876</b>	<b>25767393, 2</b>	<b>8,4499</b>
<b>Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-</b>	<b>97,9</b>	<b>4,697</b>	<b>12253699, 7</b>	<b>8,9734</b>
Terpinen-4-ol	94,8	1,104	2879542,1	9,3157
L-.alpha.-Terpineol	97,5	2,800	7306212,4	9,6580
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	96,4	0,898	2342286,1	12,0945
3-Allyl-6-methoxyphenol	97,2	3,102	8094327,9	14,0477
Caryophyllene	98,4	3,062	7988216,1	15,4774
1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	88,9	0,299	779159,4	16,3231
2,6-Di-tert-butyl-4-hydroxy-4-methylcyclohexa-2,5-dien-1-one	81,8	0,166	433669,0	16,7460
Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)-	80,8	0,187	486633,0	16,8869
Butylated Hydroxytoluene	97,8	12,401	32355399, 7	17,7326
Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-	87,2	0,270	705296,4	17,9944
Caryophyllene oxide	85,5	0,219	572216,9	19,4039
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	97,0	11,653	30402645, 8	25,5052
Phthalic acid, butyl 3-methylbutyl ester	81,6	2,061	5376287,5	27,4986
1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(3-methylbutyl) ester	93,5	1,987	5185274,2	29,3713
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	97,2	10,319	26924009, 2	37,2647

**Figura 5** - Cromatogramas obtido para o Óleo Essencial comercial de Alecrim (Terra Flor) e do óleo essencial modificado sonoquimicamente.



Considerando apenas as áreas absolutas da (+)-2-Bornanona e do Borneol (25767393,2 e 12253699,7, Tabela 3), verifica-se que a proporção relativa dos compostos é de 67,77% e 32,23%, respectivamente. Neste sentido, comparando os resultados descritos nas Tabelas 2 e 3 e Figura 9, observamos uma redução da área percentual relativa de (+)-2-Bornanona (72,66% para 67,77%) e um aumento da área percentual relativa do Borneol (27,34% para 32,23%), indicando que houve a modificação sonoeletroquímica do constituinte do óleo essencial de alecrim comercial.

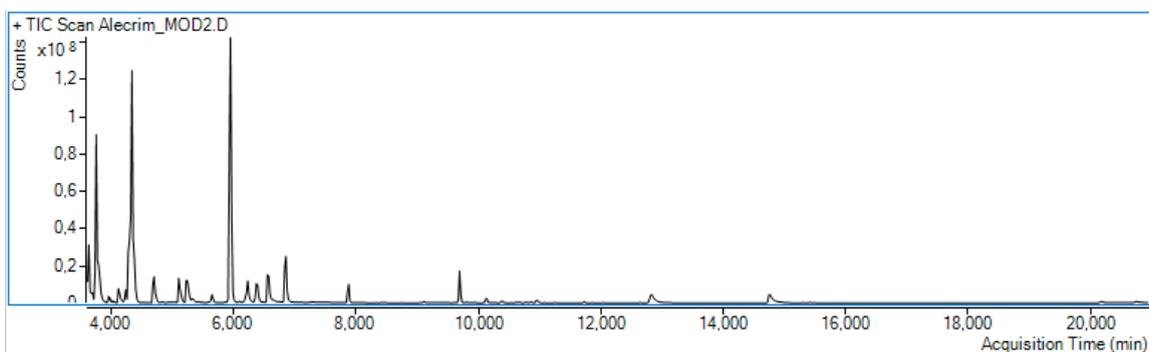
Todavia, observa-se que o percentual de (+)-2-Bornanona no blend do óleo comercial é muito baixo (11%, Tabela 2). Portanto, a utilização de um óleo essencial com maior teor de (+)-2-Bornanona levaria a produção de um blend de óleo com maior teor de Borneol. Portanto, o óleo essencial in natura, obtido pela técnica de hidrodestilação, revelou teores mais elevados de (+)-2-Bornanona (Tabela 4, Figura 6).

**Tabela 4** - Cromatograma obtido para o óleo essencial de alecrim extraído por hidrodestilação.

Tempo de retenção	Composto	Match Factor (%)	Area (%)	Area absoluta
3,7484	.beta.-Pinene	96,3	14,743	201660815,5
3,9497	.alpha.-Phellandrene	96,4	0,412	5637439,4
4,1108	(+)-4-Carene	98,2	0,939	12841667,6
4,3323	Eucalyptol	98,4	26,189	358221519,2

4,6948	.gamma.-Terpinene	98,5	2,220	30366396,2
5,0975	(+)-4-Carene	98,4	1,624	22211159,5
5,2183	Linalool	99,1	2,788	38131712,8
5,6411	Bicyclo[3.1.1]hept-2-en-6-one, 2,7,7-trimethyl-	97,4	0,574	7845711,9
<b>5,9432</b>	<b>(+)-2-Bornanone</b>	<b>96,3</b>	<b>23,774</b>	<b>325198328,6</b>
6,0841	(1R,2R,5S)-5-Methyl-2-(prop-1-en-2-yl)cyclohexanol	95,0	0,032	434984,5
<b>6,2251</b>	<b>Isoborneol</b>	<b>95,9</b>	<b>2,234</b>	<b>30554793,4</b>
6,3660	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	97,0	2,176	29767763,3
6,5473	L-.alpha.-Terpineol	98,9	3,501	47893137,4
6,8493	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-	98,6	4,578	62615222,3
7,8763	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, (1S-endo)-	98,7	1,492	20408388,7
9,1046	Copaene	93,2	0,216	2961149,9
9,6885	Caryophyllene	98,9	2,098	28693795,5
10,1315	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-	97,1	0,485	6633220,2
10,3731	.gamma.-Muurolene	95,6	0,213	2920022,1
10,6752	.alpha.-Muurolene	93,2	0,125	1708503,5
10,8564	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-	94,3	0,175	2390296,4

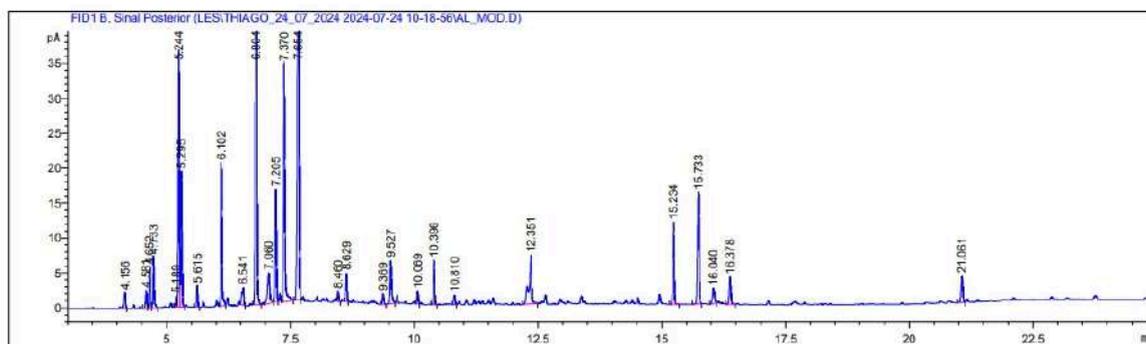
Figura 6 - Cromatograma do espectro de massas obtido para o óleo essencial de alecrim extraído.



Considerando as áreas absolutas da (+)-2-Bornanona e do Borneol (325198328,6 e 30554793,4; Tabela 4), a proporção relativa dos compostos é de 91,11% e 8,59%, respectivamente. Desta feita, o óleo essencial in natura, extraído através de hidrodestilação, revela um teor mais elevado da (+)-2-Bornanona (23,77% no blend e 91,11% em relação ao Borneol, Tabela 4) quando comparado ao teor obtido no óleo essencial comercial de alecrim (11,03% no blend e 72,66% em relação ao Borneol; Tabela 2). Portanto, o óleo essencial in natura de alecrim foi escolhido para ser modificado sonoeletrocataliticamente.

No transcurso dos experimentos, o óleo essencial in natura modificado foi submetido a análise de cromatografia gasosa (Figura 7). Todavia, problemas técnicos com o espectrômetro de massas impossibilitaram a caracterização deste óleo essencial. Porém, mesmo sem os dados da composição relativa de (+)-2-Bornanona e Borneol no óleo modificado, e com base nos resultados descritos para o óleo essencial comercial de alecrim, acredita-se na eficiência da modificação eletroquímica do óleo extraído, ou seja, no aumento da área percentual do Borneol em relação à (+)-2-Bornanona. Neste sentido, e sem prejuízo de maior valor aos resultados aqui descritos, este óleo modificado foi submetido a testes antifúngicos, conforme descrito na sessão seguinte.

**Figura 7** - Cromatografia gasosa obtida para o óleo essencial in natura modificado.



Para determinar a atividade antifúngica, ou melhor, o percentual de inibição do óleo essencial de alecrim (padrão e modificado) frente ao fungo fitopatogênico *Fusarium* sp., as médias do crescimento micelial de cada concentração, após 7 dias de incubação, encontram-se expostas na Tabela 5.

**Tabela 5** - Efeito do óleo essencial de alecrim (padrão e modificado), em diferentes concentrações, no crescimento micelial (cm) de *Fusarium* sp. após 7 dias de incubação.

Concentração de óleo em meio ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )	Crescimento micelial (cm)	
	Óleo padrão	Óleo modificado
0	6,64	6,4
0,23	7,98	6,7
0,46	7,64	6,6
0,69	7,54	7,175

Assim, para calcular o Percentual de Inibição do Crescimento micelial (PIC), foi utilizada a seguinte fórmula:

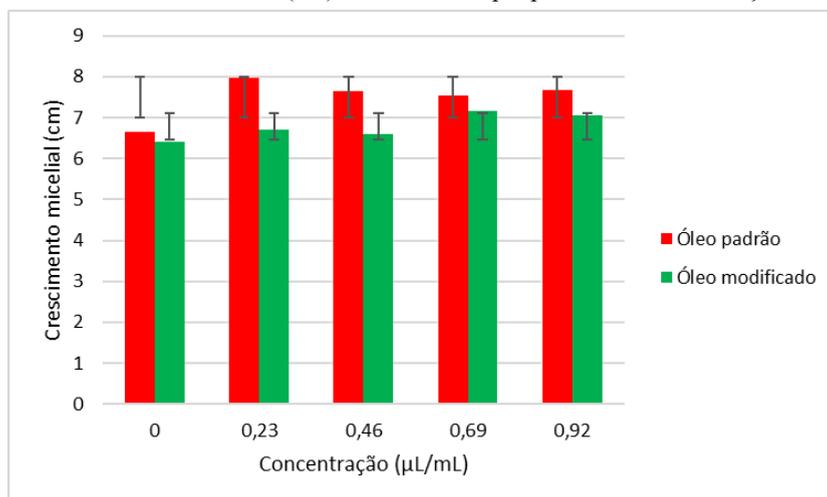
$$\text{PIC} = \frac{\text{crescimentodatestemunha} - \text{crescimentodotratamento} \times 100}{\text{crescimentodatestemunha}}$$

Ao relacionar os resultados apresentados na Tabela 5 com o PIC, observa-se que, na maior concentração (0,92  $\mu\text{L/mL}$ ), o óleo modificado atingiu um PIC de -10,16%, enquanto o óleo padrão apresentou um valor de -15,36%.

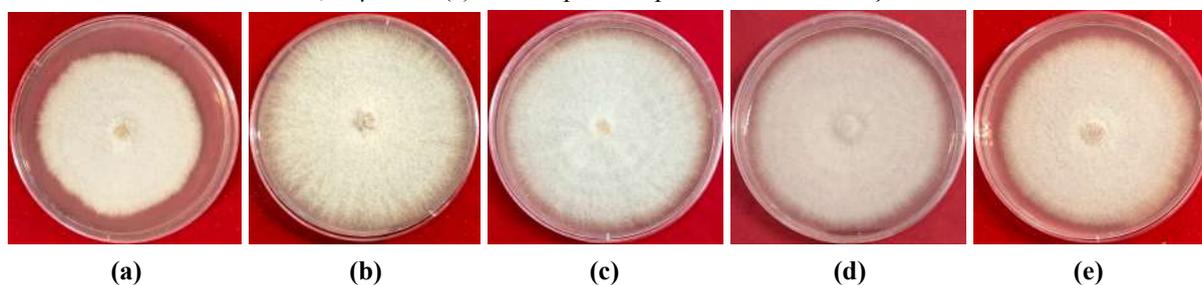
Nem o óleo padrão, nem o modificado apresentam inibição no crescimento micelial de *Fusarium sp.* nas concentrações testadas, tendo em vista que o crescimento foi superior ao da testemunha conforme mostrada no Gráfico 1 e Figuras 5 e 6. Em contrapartida, ambos apresentaram efeito indutivo, conforme também descrito por Angioni et al. (2004) com  $\alpha$ -pineno, (-) canfeno, verbenona, bornil-acetato, cânfora e borneol como compostos principais.

Além disso, o que pode ter contribuído para a ausência de inibição do crescimento fúngico seria a concentração. Pereira et al. (2007) constataram que o crescimento micelial de *Fusarium sp.* foi afetado a partir de concentrações de 1500 e 2000 mg/ml, respectivamente, ou seja, superiores às empregadas na presente pesquisa.

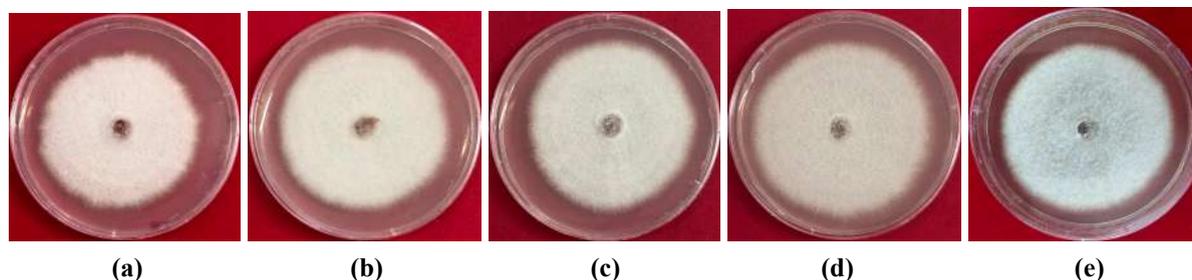
**Gráfico 1** - Efeito do óleo essencial de alecrim (padrão e modificado), em diferentes concentrações, no crescimento micelial (cm) de *Fusarium sp.* após 7 dias de incubação.



**Figura 8** - Placas com concentração 0  $\mu\text{L/mL}$  (a); 0,23  $\mu\text{L/mL}$  (b); 0,46  $\mu\text{L/mL}$  (c); 0,69  $\mu\text{L/mL}$  (d); 0,92  $\mu\text{L/mL}$  (e) de óleo padrão após 7 dias de incubação.



**Figura 9** - Placas com concentração 0  $\mu\text{L/mL}$  (a); 0,23  $\mu\text{L/mL}$  (b); 0,46  $\mu\text{L/mL}$  (c); 0,69  $\mu\text{L/mL}$  (d); 0,92  $\mu\text{L/mL}$  (e) de óleo modificado após 7 dias de incubação.



## Conclusões

Apesar de o eucaliptol ser o componente majoritário do óleo essencial de alecrim estudado, a bornanona destacou-se como um dos principais compostos, o que possibilitou uma hidrogenação sonoeletrouquímica efetiva para a produção de borneol. Assim, com o aumento do teor de borneol na composição do óleo modificado, o percentual de inibição no crescimento micelial apresentou um aumento significativo em relação ao padrão, mas ainda no campo negativo, ou seja, estimulou o crescimento micelial de *Fusarium sp.*, causador de doença pós-colheita no abacaxi. Portanto, serão necessários mais estudos com maiores concentrações de óleo essencial de alecrim com alto teor de borneol em sua composição.

## Agradecimentos

Ao IFPE pela bolsa PIBIC TÉCNICO.

## Referências

- ANGIONI, A.; BARRA, A.; CERETI, E.; BARILE, D.; COÏSSON, J.D.; Arlorio, M.; SANDRO, Dessi.; CORONEO, V.; CABRAS, P. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3530-3535, 2004.
- ARAÚJO, L. X.; NOVATO, T. P. L.; ZERINGOTA, V.; MATURANO, R.; MELO, D.; DA SILVA, B. C.; DAEMON, E.; DE CARVALHO, M. G.; MONTEIRO, C. M. O. Synergism of thymol, carvacrol and eugenol in larvae of the cattle tick, *Rhipicephalus microplus*, and brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Medical & Veterinary Entomology**, v.30, n.4, p.377-382, 2016.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.
- BATIHA, G.E.; ALKAZMI, L.M.; WASEF, L.G.; BESHBIHY, A.M.; NADWA, E.H.; RASHWAN, E.K. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, **Pharmacological and Toxicological Activities**. *Biomolecules*, v. 10, p. 202, 2020.
- CLEFF, M. B.; MEINERZ, A.R.M.; MADRID, I.; FONSECA, A.O.; ALVES, G.H.; MEIRELES, M.C.A.; RODRIGUES, M.R.A. Perfil de suscetibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de animais ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, p. 43–49, 2012.
- MASON, T.J. JÚNIOR; LORIMER, J.P. *Applied Sonochemistry: The uses of power ultrasound in chemistry and processing*, WileyVHC, Weinheim, 2002, p. 7–8.
- MATOS, F. J. A. **Plantas mediciniais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2002.



MELO, S. C. G. de et al. Ultrasound as a tool for reducing energy consumption in electrocatalytic hydrogenation of aromatic ketones using graphite as catalyst support. **International Journal Of Hydrogen Energy**, [S.L.], v. 45, n. 43, p. 22855-22872, set. 2020.

MENGZE, G. et al. Molecular and physiological characterization of Arabidopsis–Colletotrichum gloeosporioides pathosystem. **Plant Pathology**, v. 70, n. 5, p 1168–1179, 2021.

PAZ, Josinete Angela da; SALES, Ayrlane; SILVA, Larissa Dias da; SILVA, Émerson Felipe Mendonça da; COSTA, José Angelo Peixoto da; NAVARRO, Marcelo; MENEZES, Frederico Duarte de; VILAR, Márcio. Ultrasound-assisted electrocatalytic hydrogenation in water. **Applied Catalysis A: General**, [S.L.], v. 550, p. 245-255, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcata.2017.11.013>.

PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S.; SILVA, R.F.; FERNANDES, A.F.; FONSECA, E.W.N.; PICCOLI, R.H. Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, p. 731-738, 2006.

PORTE, A.; GODOY, R.L.O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): propriedades antimicrobianas e químicas do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.19, n.2, p.193-210, 2001.

SAMPAIO, Mariana Braga. Otimização da extração do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) por hidrodestilação. 2023. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2023.

SAMSON, R.A. et al. **Introduction to food-borne fungi**. 5. ed. The Neverlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 1996, 322 p.

SINGH, K. et al. An illustrated manual on identification of some seed-borne Aspergilli, Fusaria, Penicillia and their Mycotoxins. Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Ryvangs Alle 78 DK-2990 Hellerup: Denmark; 1991.

VASCONCELOS, C. V.; SILVA, D. C.; CARVALHO, D. D. G. Ocorrência de *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. em tubérculos de batata, no Brasil. **Pesq. Agropec. Trop.**, v. 44, n. 2, p. 219- 222, abr./jun. 2014.

VILAR, M.; OLIVEIRA, J.L.; NAVARRO, M. Investigation of the hydrogenation reactivity of some organic substrates using an electrocatalytic method. **Applied Catalysis A: General**, [S.L.], v. 372, n. 1, p. 1-7, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcata.2009.09.041>.

VILAR, M.; NAVARRO, M.  $\beta$ -cyclodextrin as inverse phase transfer catalyst on the electrocatalytic hydrogenation of organic compounds in water. **Electrochimica Acta**, [S.L.], v. 59, p. 270-278, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2011.10.094>.

WINSKA, K.; WANDA MACZKA, W.; ŁYCZKO, J.; GRABARCZYK, M.; CZUBASZEK, A.; SZUMNY, A. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? **Molecules**, v. 24, 2130, 2019.

ZHANG, Z. et al. Compositions and antifungal activities of essential oils from agarwood of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg induced by *Lasioidiplodia theobromae* (Pat.) Griffon. & Maubl. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.25 n.1, p.20-26, 2014.