

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS SENESCENTES DE *CÚRCUMA LONGA* L.
CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE CURCUMA LONGA L.SENESCENT LEAVES.

TERAMOTO, Juliana Rolim Salomé

Instituto Agronômico do Estado de São Paulo

FACANALI, Roselaine

Instituto Agronômico do Estado de São Paulo

DUARTE, Marta Cristina Teixeira

Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas/
UNICAMP

FABRI, Eliane Gomes

Instituto Agronômico do Estado de São Paulo

AZEVEDO FILHO, Joaquim Adelino

APTA-Pólo Regional de Monte Alegre/ Secretaria de Agricultura e
Abastecimento do estado de São Paulo

SOARES, Daniela Matsumoto

Instituto Agronômico do Estado de São Paulo

MARQUES, Márcia Ortiz M.

Instituto Agronômico do Estado de São Paulo

RESUMO: A folha de *Curcuma longa* L. (açafraão) é um produto residual durante as operações de colheita da raiz. Tradicionalmente, essas folhas, são amplamente utilizadas na culinária, são aromáticas e contêm óleo essencial. A produção brasileira de açafraão está concentrada nos estados de Goiás, Minas Gerais e São Paulo. Este estudo teve como objetivo determinar a composição química das folhas senescentes de um banco de germoplasma contendo 36 acessos em São Paulo, a fim de selecionar as melhores plantas e avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais obtidos a partir de suas folhas senescentes. O teor de óleo essencial variou de 0,27 a 1,01% e foram identificadas por cromatografia gasosa 17 substâncias, que representaram 97% dos compostos identificados. Deste total, os principais compostos encontrados no óleo essencial foram os monoterpenos (91 a 94,5%). O α -felandreno foi o principal composto (variando de 20,7% a 31,1%), seguido do *p*-cimeno (19,2% a 30,8%), do terpinoleno (12,8% a 20,1 %), 1,8-cineol (8,1% e 13,2%), limoneno (4,2% a 5,2%), β -pineno (2,4% e 4,8%), mirceno (2,4% a 3,4%), α -pineno (1,6% a 3,1%) e o δ -3-careno (1,2% a 1,6%). O banco de germoplasma pode ser agrupado em três grupos distintos de acordo com as características químicas dos óleos essenciais das folhas senescentes, sendo cada grupo 1, 2 e 3 representado aleatoriamente pelos respectivos acessos 22, 30 e 10. As propriedades antimicrobianas do óleo essencial testadas para os microorganismos *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

Staphylococcus epidermides, *Salmonella enteritides*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans* apresentaram potencial uso com CIM de 2 mg / mL apenas para *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

PALAVRAS-CHAVES: Açafrão, Óleo essencial, Antimicrobiano

ABSTRACT: Curcuma longa L. (turmeric) leaf is a residual product during root harvesting operations. Traditionally, these leaves, are widely used in cooking, are aromatic and contain essential oil. The Brazilian production of turmeric is concentrated in the states of Goiás, Minas Gerais and São Paulo. The objective of this study was to determine the chemical composition of the senescent leaves of a germplasm bank containing 36 access in São Paulo, in order to select the best plants and to evaluate the antimicrobial activity of the essential oils obtained from their senescent leaves. The essential oil content varied from 0.27 to 1.01% and 17 substances were identified, which represented 97% of the identified compounds. Of this total, the main compounds found in the essential oil were the monoterpenes (91 to 94.5%). The α -felandrene was the major compound (ranging from 20.7% to 31.1%), followed by *p*-cymene (19.2% to 30.8%), terpinolene (12.8% to 20.1%), 1,8-cineole (8.1% and 13.2%), limonene (4.2% to 5.2%), β -pinene (2.4% and 4.8%), myrcene 2.4% to 3.4%), β -pinene (1.6% to 3.1%) and δ -3-carene (1.2% to 1.6%). The germplasm bank can be grouped into three distinct groups according to the chemical characteristics of the senescent leaves, each group 1,2 and 3 being represented randomly by the respective access 22, 30 and 10. The antimicrobial properties of the essential oil showed MIC 2 mg / mL for *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

KEY-WORDS: Turmeric, Essential oil, Antimicrobial

INTRODUÇÃO

A *Curcuma longa* L. (*C. longa*) pertence à família Zingiberaceae, é uma planta herbácea, perene, podendo se comportar como anual (dependendo das condições de clima), robusta, com folhas grandes, verdes e afiladas e com espigas com flores de labelos púrpura (TERAMOTO *et al.*, 2014). Exemplos de países produtores desta cultura são: China, Paquistão, Haiti, Peru, Taiwan, Tailândia, Jamaica e a Índia, sendo este último considerado o maior produtor (800.000 a 1.000.000 de toneladas/ano) e consumidor mundial de cúrcuma. A Índia exporta 80% da produção mundial e é a cúrcuma indiana, considerada a melhor do mundo por conter altas concentrações da curcumina, corante amarelo-alaranjado, obtido dos rizomas (AADITYA, 2010). No Brasil, o município de Mara Rosa, Estado de Goiás, é o município que apresenta o

maior plantio comercial da planta (podemos encontrar produção comercial também nos estados de Minas Gerais e São Paulo), cuja produção se destina em quase sua totalidade às indústrias nacionais de corantes, alimentos e suplementos alimentares (SILVA *et al.*, 2004).

A planta possui variados usos, seu rizoma apresenta uma substância corante, a curcumina, que confere cor e aroma característico aos alimentos. Quando seco e em pó, é utilizado como componente principal do “curry”, na coloração de macarrões, sorvetes, queijos, margarinas e carnes, e quando utilizado como óleo-resina (mistura de ingredientes ativos como materiais resinosos, graxos não voláteis, voláteis), extraído por solventes e técnicas específicas, também pode colorir e condimentar certos tipos de alimentos (HIGUITA, 2013). A curcumina quando utilizada como extrato purificado não apresenta aroma e pode ser usada onde essa característica é indesejável. A curcumina isolada é muito interessante para aplicações em alimentos, principalmente na substituição à Tartrazina, um dos corantes artificiais mais usados no Brasil, cujo uso tem sido questionado pelos problemas de alergia que pode causar aos seus consumidores. Com a proibição do uso de pigmentos sintéticos nos principais países da América do Norte e Europa, recentemente tem sido vislumbrada a participação de *C. Longa* em um atraente e crescente mercado de aditivos naturais de alimentos e textéis (RODRIGUES, 2013; VOLP *et al.*, 2009; RUSIG e MARTINS, 1992).

Além de sua utilização como corante, a *C. longa* contém também óleo essencial, encontrado na parte subterrânea e aérea, possibilitando sua utilização nos mercados de perfumaria, medicinal, alimentício, condimentar entre outros (KALANDAR *et al.* 2018; GUI e BAKHT, 2015; BEZERRA *et al.*, 2013). Os principais compostos encontrados no óleo essencial da raiz de cúrcuma foram turmerona, ar-turmerona, α e β -zingibereno, 1,8-cineol, sabineno e borneol (MATA, 2004; VIASA *et al.*, 1989). No óleo essencial das folhas, os principais constituintes identificados na literatura, foram α -felandreno, 1,8-cineol, C8-aldeído, α -pineno e β -pineno, sendo que os principais constituintes do óleo essencial do rizoma, α -turmerona e ar-turmerona e β -turmerona, não foram encontrados nas folhas (MENG *et al.*, 2018, SINDHU et

al., 2011; OGUNTIMEN *et al.*, 1990; BEHURA *et al.*, 2002; SHARMA *et al.*, 1997). As folhas de cúrcuma são menos exploradas frente à raiz, e trabalhos que verifiquem seu potencial de uso são em menor número. Extrato da folha em pó apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante que a folha fresca (YAN e ASMAH, 2010). Extratos metanólicos e aquosos mostraram inibição do crescimento de linhas celulares tumorais humanas em até 46% (LIU e NAIR, 2011) O óleo essencial de folhas de cúrcuma também corroboram para enfatizar as diversas atividades que a planta tem. O óleo essencial das folhas de cúrcuma foi capaz de inibir a produção de aflatoxina B (1) e G (1) entre 95,3% a 100% a 1% e 1,5% e também foi capaz de inibir o crescimento do fungo, mostrando a possibilidade de utilizar estes componentes fitoquímicos como bio-conservantes para armazenamento de especiarias (SINDHU, *et al.*, 2011). O óleo essencial das folhas de cúrcuma também foi muito útil no controle de pragas inibindo o crescimento de *S. obliqua* e *P.xylostella* (L) a 1,0% de concentração (Govindaraddi, 2005). Testes in vitro mostraram que o óleo essencial das folhas inibiu a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-6, IL-1 β) em lipopolissacarídeos (LPS) e inflamação induzida por 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) na linha celular de queratinócitos humanos (HaCaT), produzindo efeitos anti-inflamatórios (KUMAR, *et al.*, 2018).

A espécie é de cultivo fácil e apresenta a vantagem de não exigir tratamentos culturais especiais, podendo desenvolver-se em condições tropicais, em altitudes que variam do nível do mar a 1500 m, temperaturas entre 20 °C a 30 °C, sob regime pluvial de 150 cm ou mais por ano ou sob irrigação, preferencialmente sob solo argiloso ou aluvial, fértil e rico em matéria orgânica (PEREIRA E MOREIRA, 2009).

Assim são contínuas as descobertas das propriedades e da utilização da *C. longa* nas diversas áreas econômicas. Em algumas regiões do Brasil, a planta tem sido explorada como cultura agrícola, contudo informações técnicas sobre seu melhor aproveitamento e aplicação são importantes. Resíduos de culturas agrícolas podem se tornar fonte secundária de recursos financeiros ao produtor e devem ser melhor exploradas do ponto de vista tecnológico. Na cultura na cúrcuma, trabalhos que visem o aproveitamento de seu subproduto,

folhas senescentes (estas folhas acabam sendo resíduo na produção), são poucos e deveriam fazer parte do planejamento de investimentos/retorno da propriedade rural. Inúmeros outros testes de aplicações poderiam ser realizados com o óleo essencial das folhas senescentes, almejando a busca por atividades na área farmacêutica, perfumaria, alimentícia e agrícola.

O presente estudo buscou: avaliar o banco de germoplasma de *C. longa*, quanto á característica química do óleo essencial das folhas senescentes dos diversos acessos, na fase de colheita dos rizomas e a eficácia destes óleos essenciais na inibição do crescimento de algumas espécies de bactérias e fungos que impactam a saúde humana.

MATERIAIS E MÉTODOS

As folhas de *C. longa* foram obtidas de 36 acessos provenientes do banco de germoplasma do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e cultivados em triplicata em Monte Alegre do Sul, sendo o cultivo conduzido no Pólo Regional Leste Paulista da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios em solo tipo argiloso vermelho-amarelo a uma altitude média de 850 metros e clima Cfa (classificação climática de Köpen), temperatura anual média de 20,8°C e precipitação total de 1.548,8 mm. O solo foi preparado com encanteiradeira e a adubção fosfatada conforme recomendação para a cultura (VAN RAIJ *et al.*, 2008), e adubação orgânica com composto vegetal, na base de 10kg/m². O delineamento experimental consistiu de blocos completos, com três repetições de cada acesso. As parcelas foram representadas por duas linhas de 3 m de comprimento com espaçamento de 0,5 m entre as linhas e 0,2 m entre as plantas, com 30 plantas por parcela. As folhas de tres plantas do mesmo acesso constituíram uma amostra composta que já estavam em período de senescência, uma vez que sinalizavam o período da colheita das raízes com seu amarelecimento e tombamento. Estas foram secas em estufa com circulação de ar à 40°C até peso constante (aproximadamente 36 horas).

Foram realizadas as extrações dos óleos essenciais dos acessos individualmente por meio de equipamento de destilação por arraste a vapor modelo D2 da empresa LINAX, durante 2 horas.

As análises da composição química dos óleos essenciais foram realizadas em cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG/EM - Shimadzu, QP-5000), dotado de coluna capilar de sílica fundida OV - 5 (30m x 0,25mm x 0,25µm Ohio Valley Specialty Chemical, Inc.), operando por impacto de elétrons (70 eV), hélio como gás de arraste (1,0 mL/min.), injetor a 220°C, detector a 230°C, *split* 1/20. O óleo essencial foi solubilizado em acetato de etila (1mg/1mL solvente), grau cromatográfico, e injetado 1µL de solução no seguinte programa de temperatura: 60°C - 240°C, 3°C/min. A quantificação dos óleos essenciais foi efetuada pelo método de normalização de áreas, em triplicata, por cromatografia a gás com detector por ionização em chama (Shimadzu, modelo GC-2010, CG-FID), empregando-se as mesmas condições operacionais das análises por CG-EM. A identificação dos constituintes químicos foi efetuada através da análise comparativa dos espectros de massas das substâncias com o banco de dados do sistema CG/EM (Nist 62.lib), literatura (Mclafferty e Stauffer, 1989) e índices de retenção (Adams, 2007), aplicando-se a equação de Van den Dool e Kratz (Van den Dool&Kratz, 1963). Os resultados da composição química dos óleos essenciais foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software MINITAB™ Statistical Software Release 13.0 Demo. A análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (Cluster) foi realizada utilizando o software XLSTAT – 2016.1 version (Addinsoft, France). Identificados os clusters, foi selecionado aleatoriamente um acesso de cada cluster para avaliação microbiológica.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas senescentes de *C.longa* foi avaliada frente aos microorganismos: *Enterococcus hirae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides*, *Salmonella enteritides*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*. O meio de cultura utilizado foi o Mueller-Hinton para bactéria e meio RPMI-1640 para levedura e a triagem preliminar *in vitro* da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi realizada pelo método da microdiluição para fungos (NCCLS., 2002) e para bactérias (NCCLS., 2003). Para os testes, os óleos essenciais foram solubilizados em solução de Tween 80 em água (0,1 %) e então quantificado o CIM, que é a concentração de antimicrobiano necessária para

inibir o crescimento bacteriano, de forma que quanto menor o CIM, maior a potência e, quanto maior a potência, maior a dificuldade da bactéria em desenvolver resistência. ALIGIANIS, et al. (2001) propuseram uma classificação para materiais vegetais com base nos resultados de CIM, considerando como: forte inibição - CIM até 0,5 mg/mL ; inibição moderada – CIM entre 0,6 e 1,5 mg/mL e como fraca inibição - CIM acima de 1,6 mg/mL 1600 µg/mL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O rendimento dos óleos essenciais das folhas senescentes dos acessos do banco de germoplasma de cúrcuma analisados, variaram de 0,27% a 1,01%. Os 10 melhores acessos apresentaram um rendimento entre 0,80% a 1,01% sendo os acessos em ordem decrescente: 27, 22, 25, 7, 23, 31, 3, 5, 7, 39. Estes valores estão abaixo do encontrado no estudo de BEHURA et al. (2002), cujo rendimento foi da ordem de 1,32%, contudo o método de extração do óleo essencial foi através da hidrodestilação e as folhas eram frescas. Segundo MAIA (1998), as diferentes relações de massa de vapor e massa vegetal, associadas à arquitetura dos equipamentos, fazem com que o óleo essencial obtido pelos métodos de laboratório e industrial sejam diferentes em suas composições, mesmo utilizando a mesma matéria prima. Contudo o método por destilação por arraste a vapor pode ter uma vantagem, quando se necessita destilar uma quantidade maior de material vegetal para obtenção de maior volume de óleo essencial. Mas para fins analíticos ambos os sistemas seriam bons, o que poderia variar seria o custo do equipamento e dependendo da substância e da planta de interesse, o método utilizado também pode ser relevante.

Sob o ponto de vista qualitativo, os 36 acessos de *C. longa* estudados apresentaram mesmo perfil químico, sendo identificadas 17 substâncias, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Principais constituintes identificados em folhas senescentes dos 36 acessos de *C. longa* pertencentes ao banco de germoplasma.

| Tempo de Retenção (min) | Substância | Min (%) | Max (%) | Media (%) |
|-------------------------|------------|---------|---------|-----------|
|-------------------------|------------|---------|---------|-----------|

| | | | | |
|--------|-----------------------------|------|------|------|
| 9,193 | α -pineno | 1,6 | 3,1 | 2,4 |
| 10,485 | sabineno | 0,2 | 0,5 | 0,4 |
| 10,647 | β -pineno | 2,4 | 4,8 | 3,4 |
| 10,99 | mirreno | 2,4 | 3,4 | 3,0 |
| 11,582 | α -felandreno | 20,7 | 31,1 | 25,8 |
| 11,812 | δ -3-careno | 1,2 | 1,6 | 1,4 |
| 12,029 | α -terpineno | 0,7 | 1,1 | 0,9 |
| 12,307 | <i>p</i> -cimeno | 19,2 | 30,8 | 23,9 |
| 12,497 | limoneno | 4,2 | 5,2 | 4,6 |
| 12,600 | 1,8-cineol | 8,1 | 13,2 | 10,7 |
| 13,163 | <i>E</i> - β -ocimeno | 0,2 | 0,3 | 0,2 |
| 13,638 | γ -terpineno | 0,7 | 1,1 | 0,9 |
| 14,837 | terpinoleno | 12,8 | 20,1 | 16,5 |
| 15,184 | linalol | 0,5 | 1,4 | 0,9 |
| | <i>E</i> -epoxi- | | | |
| 17,137 | ocimeno | 0,4 | 1,2 | 0,8 |
| 18,504 | terpinen-4-ol | 0,2 | 0,5 | 0,4 |
| 19,044 | α -terpineol | 0,1 | 0,7 | 0,5 |

Como constituintes mais abundantes no óleo essencial, todos os acessos apresentaram os compostos monoterpênicos, sendo os principais o α -felandreno variando de mínimo (min) 20,7%, acesso 10 e máximo (max) 31,1%, acesso 24; *p*-cimeno (min.: 19,2%, acesso 24; máx.: 30,8%, acesso 29); terpinoleno (min.: 12,8%, acesso 35; máx.: 20,1%, acesso 1), seguido dos monoterpênicos oxigenados 1,8-cineol (min.: 8,1%, acesso 24; máx.: 13,2%, acesso 33), limoneno (min.: 4,2% acesso 12; máx.: 5,2%, acesso 29), o β -pineno (min.: 2,4% acesso 10; máx.: 4,8%, acesso 14), o mirreno (min.: 2,40% acesso 10 ; máx.: 3,4%, acesso 24), o α -pineno (min.: 1,6% acesso 10 ; máx.: 3,1%, acesso 35) e o δ -3-careno (min.: 1,2 % acesso 10; máx.:1,6 %, acesso 24).

Estes principais compostos classificados como monoterpênicos compuseram aproximadamente 94,1% do óleo essencial das folhas senescentes da cúrcuma. Estes resultados diferem parcialmente dos estudos de TRIPATHI et al. (2002) que obtiveram outro composto como majoritário, o mirreno, seguido do *p*-cimeno e 1,8-cineol, tendo sido os monoterpênicos constituintes de 83% das substâncias do óleo essencial de folhas frescas de *C. longa*, contra 16% na raiz.

No trabalho de CHANE-MING et al., (2002), que estudou a *C. longa* de uma ilha da França (Reunion Island), o terpinoleno foi a substância

predominante (77%), seguido de 1,8-cineol, α -terpineno e α -felandreno. Terpinoleno (52.88%) e α -felandreno (21.13%) foram os componentes majoritário encontrados em KUMAR, et al. (2018).

No trabalho de OGUTIMEIN et al. (1990) e BEHURA et al. (2002), registraram a ocorrência do α -felandreno como constituinte majoritário do óleo essencial (47,7%, 38.2%), conforme o obtido neste trabalho, contudo em escalas um pouco maiores. Estes resultados reafirmam que a origem da planta, as condições do meio (abióticas e bióticas), o estado fisiológico em que a planta foi colhida ou mesmo a variedade, podem alterar a constituição química da planta, podendo a mesma ser utilizada para aplicações distintas.

Os monotremos são os constituintes básicos voláteis de óleos essenciais aromáticos e os principais componentes das resinas (goma das árvores) pertencendo a um grupo diverso de compostos químicos, de diversas espécies vegetais e nas mais variadas concentrações (PINTO, et al., 2015). Diversos monoterpênos possuem propriedades de grande interesse médico, dentre elas cardiovasculares, antihelmínticas, antibióticas e anti-inflamatórias, além de atividade antimicrobiana, sedativa, antinoceptiva, antidepressiva, podendo ser ativo também como fumigante, repelente ou inseticida (OBENGFORORI e REICHMUT, 1997; AMARAL et al., 2007; SANTOS, et al., 2011).

Com base nos nove constituintes majoritários identificados nos óleos essenciais das folhas senescentes dos 36 acessos do banco de germoplasma, foi aplicada a análise de componentes principais (ACP) e a análise de agrupamento hierárquico (cluster) conforme Figuras 1 e 2.

A análise de Componentes Principais (ACP) aplicada à composição química do óleo essencial de cúrcuma expressou 69,20% da variância nas duas primeiras componentes principais, sendo a PCA1 (F1) responsável em descrever 46,93% e a PCA2 (F2) 22,27% da variância total (Figura1). As variáveis fornecidas pela ACP permitiram discriminar 4 acessos, sendo eles, o 26, 30, 22 e 10. A amostra 26 se destaca das demais, devido esta apresentar maior produção das substâncias *p*-cimeno (30,84%) e limoneno (5,23%) quando comparado com as demais amostras. A amostra 30 se difere por apresentar como principal composto a substância *p*-cimeno e também por produzir um maior teor da substância 1,8-cineol quando comparada com os

demais. O acesso 22 se destaca por apresentar maior produção do α -felandreno comparada as demais. E o acesso 10 por apresentar menor produção das substâncias α e β -pineno, mirceno, α -felandreno e δ -3-careno quando comparada as demais, além de ter como principal composto o p -cimeno e não o α -felandreno como na maioria dos acessos.

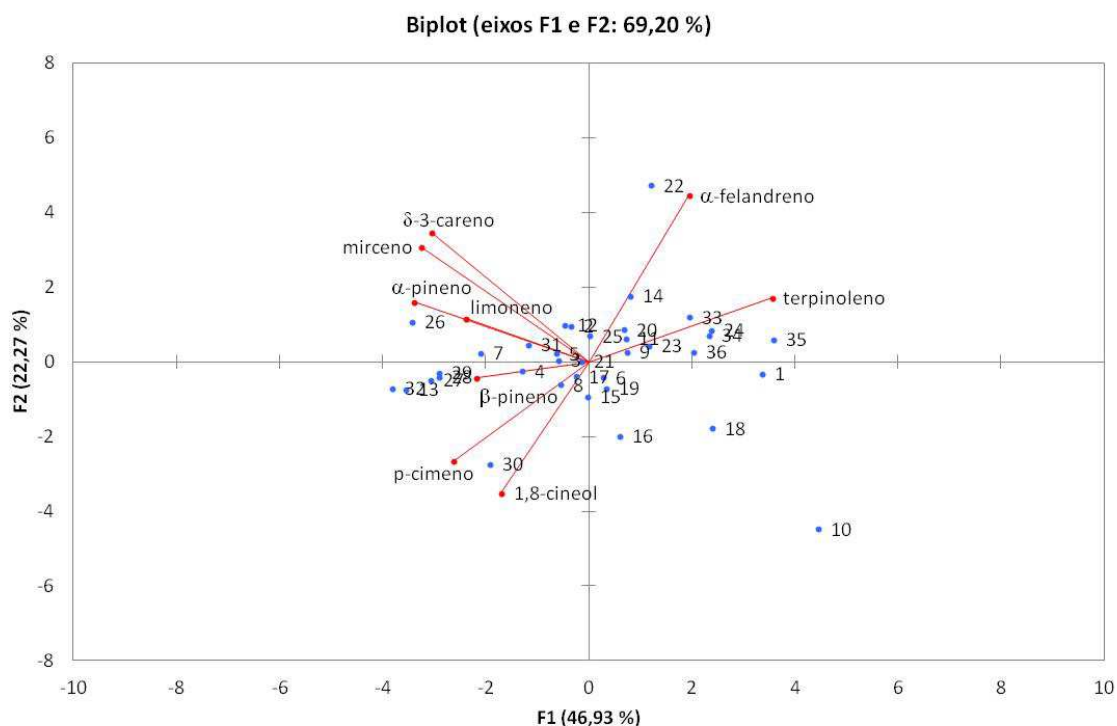


Figura 1. Análise dos componentes principais das folhas senescentes de cúrcuma dos 36 acessos estudados.

A análise de agrupamento hierárquico (Cluster) produziu três agrupamentos principais (Figura 2), sendo que o primeiro (Cluster 1) apresentou uma maior dissimilaridade (diferença) em relação aos Clusters 2 e 3. Uma hipótese para essa diferença pode ser devido as amostras pertencentes ao Cluster 1 apresentarem uma maior produção média das substâncias α -felandreno e terpinoleno, quando comparadas as amostras dos Clusters 2 e 3. As amostras pertencentes ao Cluster 3 caracterizam-se por apresentarem como principal composto o p -cimeno, enquanto as amostras dos Clusters 1 e 2 apresentam como principal composto o α -felandreno.

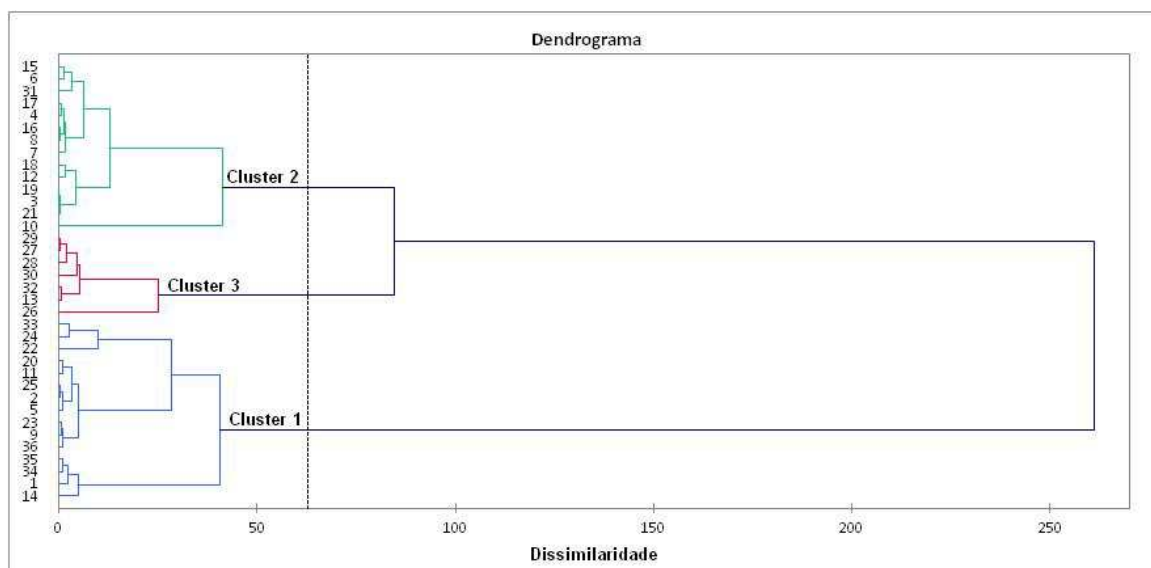


Figura 2. Análise de agrupamento hierárquico dos 36 acessos do banco de cúrcuma, levando-se em consideração a análise dos principais compostos do óleo essencial das folhas senescentes.

Este resultado demonstra que no banco de germoplasma estudado há acessos que se diferenciaram quanto às características do óleo essencial, podendo ser estudados diferentemente dos demais tendo como foco sua aplicação e melhoramento genético. A raiz é o produto principal, porém novas perspectivas de aproveitamento de seus subprodutos podem ser melhores estudadas entre estes materiais.

Atualmente, a avaliação das propriedades antimicrobianas de óleos essenciais abrange uma grande variedade de microrganismos, incluindo deteriorantes de alimentos, produtores de toxinas alimentares, fungos filamentosos (micotoxigênicos), fungos patogênicos, leveduras dimórficas e vírus de plantas e animais (DIAO et al., 2014; SEOW, et al., 2014, SHOHAYEB et al 2014, LIS-BALCHIN e DEANS, 1997).

A partir dos resultados obtidos pela análise química dos óleos essenciais das folhas senescentes e pelas análises de ACP e Clusters dos 36 acessos, para a atividade antimicrobiana foram considerados 3 acessos representantes de cada cluster. Acesso 22 representando o cluster 1, acesso 10 representando o cluster 2, e o acesso 30 representando o cluster 3, suas respectivas composições químicas podem ser observadas na Tabela 2.

Tabela 2. Composição química do óleo essencial das folhas senescente de *C. Longa* dos três acessos selecionados (com três repetições) representativos de cada Cluster.

| Pico | Substância | Tempo retenção | Acesso 22_1 | Acesso 22_2 | Acesso 22_3 | Acesso 10_1 | Acesso 10_2 | Acesso 10_3 | Acesso 30_1 | Acesso 30_2 | Acesso 30_3 |
|------|------------------------|----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1 | α -pineno | 9,193 | 2,72 | 2,73 | 2,74 | 1,01 | 1,03 | 1,02 | 3,08 | 3,13 | 3,13 |
| 2 | sabineno | 10,485 | 0,39 | 0,39 | 0,39 | 0,24 | 0,23 | 0,23 | 0,43 | 0,42 | 0,46 |
| 3 | β -pineno | 10,647 | 3,10 | 3,91 | 3,91 | 2,36 | 2,38 | 2,38 | 3,95 | 3,97 | 4,00 |
| 4 | mirceneno | 10,99 | 3,10 | 3,03 | 3,02 | 2,36 | 2,38 | 2,38 | 3,23 | 3,23 | 3,24 |
| 5 | α -felandreno | 11,582 | 28,10 | 28,24 | 28,24 | 20,59 | 20,68 | 20,68 | 23,62 | 23,60 | 23,67 |
| 6 | δ -3-careno | 11,812 | 1,36 | 1,36 | 1,37 | 1,09 | 1,09 | 1,09 | 1,46 | 1,47 | 1,47 |
| 7 | α -terpineno | 12,029 | 1,05 | 0,96 | 0,95 | 0,73 | 0,73 | 0,73 | 0,78 | 0,79 | 0,79 |
| 8 | p-cimeno | 12,307 | 21,35 | 21,15 | 21,14 | 25,33 | 25,36 | 25,44 | 26,36 | 26,34 | 26,31 |
| 9 | limoneno | 12,497 | 4,52 | 4,43 | 4,39 | 4,48 | 4,51 | 4,38 | 4,74 | 4,76 | 4,74 |
| 10 | 1,8-cineol | 12,6 | 10,67 | 10,59 | 10,61 | 10,57 | 10,54 | 10,68 | 11,55 | 11,55 | 11,56 |
| 11 | E - β -ocimeno | 13,163 | 0,23 | 0,23 | 0,37 | 0,24 | 0,24 | 0,24 | 0,19 | 0,19 | 0,20 |
| 12 | γ -terpineno | 13,638 | 1,05 | 0,96 | 0,95 | 0,90 | 0,90 | 0,90 | 0,74 | 0,74 | 0,74 |
| 13 | terpinoleno | 14,837 | 16,57 | 16,38 | 16,32 | 19,21 | 19,17 | 19,24 | 13,55 | 13,57 | 13,55 |
| 14 | linalol | 15,184 | 0,85 | 0,89 | 0,90 | 1,41 | 1,39 | 1,39 | 0,94 | 0,93 | 0,92 |
| 15 | E -epoxi-ocimeno | 17,137 | 0,08 | 0,74 | 0,74 | 1,20 | 1,19 | 1,19 | 0,94 | 0,92 | 0,92 |
| 16 | terpinen-4-ol | 18,504 | 0,60 | 0,37 | 0,36 | 0,52 | 0,51 | 0,51 | 0,37 | 0,37 | 0,36 |
| 17 | α -terpineol | 19,044 | 0,44 | 0,47 | 0,45 | 0,70 | 0,70 | 0,69 | 0,51 | 0,51 | 0,50 |

Para a atividade antimicrobiana foram considerados o óleo essencial das folhas senescentes destes três acessos selecionados (10, 22 e 30). Os microorganismos testados foram escolhidos por atingir frequentemente a saúde humana, produzindo problemas dos mais simples aos mais graves: *Enterococcus hirae* (patógeno causador de infecções em animais, porém recentemente reportado em infecção do trato urinário em humanos, BOURAFA et al. 2015), *Escherichia coli* (causador de infecções de intestino e urina geralmente em humanos), *Staphylococcus aureus* (causador de infecções desde as mais simples a graves em humanos), *Staphylococcus epidermidis* (responsável por infecções oportunistas em humanos geralmente de origem hospitalar), *Salmonella enteritides* (patógeno entérico de origem alimentar responsável por toxicoinfecções em humanos), *Pseudomonas aeruginosa* (agente de infecções hospitalares) e *Candida albicans* (causa infecção oral e vaginal em seres humanos). Os resultados das avaliações podem ser contemplados na Tabela 3.

Tabela 3. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais das folhas senescentes dos acessos 10, 22 e 30 de cúrcuma considerando CIM- Concentração Mínima Inibitória até 2 mg/mL .

CIM mg/mL

| Acessos | <i>C. albicans</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>E.coli</i> | <i>E. hirae</i> | <i>S. aureus</i> | <i>S. epidermides</i> | <i>S. enteritides</i> |
|---------|--------------------|----------------------|---------------|-----------------|------------------|-----------------------|-----------------------|
| 10 | * | * | 2 | 2 | 2 | * | * |
| 22 | * | * | 2 | 2 | * | * | * |
| 30 | * | * | * | * | * | * | * |

Para os microorganismos *S. epidermides*, *S. enteritides*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* considerando um CIM até 2 mg/mL, no qual a atividade é considerada fraca, os óleos essenciais das folhas dos 3 acessos de cúrcuma não apresentaram atividade.

Em relação à atividade microbiológica da *Escherichia coli*, obtivemos também CIM igual a 2.000 mg/mL para os acessos 10 e 22. A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa causa gastroenterites (infecções no intestino e urina) e sua contaminação se dá por contato com material fecal ou superfícies contaminadas.

Para a *Enterococcus hirae* que é uma bactéria gram-positiva, as CIM foram igual a 2.000 mg/mL também para os mesmos acessos 10 e 22. Esta é uma bactéria gram-positiva, sendo o microbiota, animal e humano, seu habitat natural. Pode causar infecções urinárias entre outras.

Uma CIM igual a 2.000 mg/mL também foi obtida para a *Staphylococcus aureus*, porém apenas para o acesso 10. Esta é uma bactéria gram-positiva sendo as mucosas nasofaríngea (fossas nasais e pele) seu habitat em humanos e animais. É responsável por causar surtos de toxiose, podendo provocar infecções simples à graves.

Os óleos essenciais são compostos hidrofóbicos e podem causar danos à membrana dos microrganismos por serem facilmente difundidos pela parede celular. Apesar de as bactérias gram-negativas serem mais resistentes à difusão dos componentes dos óleos essenciais (NAKATANI, 1994) , podemos notar que não foi o observado para a *E. Coli*, tanto para o acesso de cúrcuma de 10 quanto no 22.

Para os acessos testados, o único a ter atividade, mesmo que fraca para os três microrganismos foi o acesso de cúrcuma 10.

Em relação às particularidades do óleo essencial, algumas pesquisas a respeito de sua composição mostram que mesmo variações genéticas intraespecíficas da espécie vegetal podem alterar o teor do princípio ativo presente. No estudo em questão, os 36 acessos foram separados em três clusters por similaridade, mesmo estando em um mesmo grupo os acessos podem apresentar atividades diferenciadas uma vez que o sinergismo entre as substâncias e a proporção relativa dos compostos podem conferir a uma mesma espécie, produzida nas mesmas condições e local, atividades distintas. Outro fator que pode contribuir nesta diferenciação são os compostos não detectáveis pela instrumentação utilizada, os quais podem ser fundamentais para explicar as distintas atividades.

Porém vale ressaltar que o trabalho levou em consideração as folhas como subproduto da cultura, ou seja, na fase de colheita do rizoma, as quais secam a campo, próximo a maturação do rizoma. Para uma próxima etapa, seria interessante analisar as folhas destes mesmos acessos antes da senescência, o que acontece na bioquímica da planta entre estes dois períodos e estados fisiológicos, a fim de se verificar se há alteração em sua composição em termos qualitativo e quantitativo e também no que tange a sua atividade antimicrobiana.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Aproveitar todo material vegetal de culturas agrícolas é importante, pois é uma forma de não desperdiçar energia embutida no sistema, ser sustentável ao meio ambiente e de se obter recurso financeiro com os subprodutos pouco explorados.

Em um diagnóstico extensivo de plantas utilizadas na medicina tradicional, destaca-se os óleos essenciais com ação antimicrobiana, devido a sua importância no desenvolvimento e produção de produtos veterinários, alimentícios, farmacêuticos e cosméticos. O banco de germoplasma de cúrcuma estudado apresentou variações significativas no que tange ao óleo essencial de suas folhas senescentes. O seu aproveitamento inicialmente teve

como foco a aplicação antimicrobiana e alguns acessos apresentaram uma atividade leve para os fins estudados, mas outras análises poderão ser realizadas no sentido de dar um melhor destino as folhas tidas como resíduo de produção. Como constituintes majoritários foi detectado os monoterpenos, outras aplicações podem ser testadas para a busca de outras utilizações interessantes, como é o caso de se estudar o efeito repelente que estes óleos têm.

Criação, manutenção e amplos estudos dos bancos de germoplasma existentes, são extremamente importantes e relevantes para o conhecimento científico e exploração comercial. Características antigamente buscadas nestes bancos, hoje podem ser irrelevantes e novas buscas podem dar a materiais inexplorados, grandes perspectivas de produção. Assim faz-se a importância dos curadores e instituições para que sejam sempre mantidos fisicamente, valorizados financeiramente e enriquecidos na sua pluralidade, tantos outros bancos germoplasma distribuídos pelo nosso país.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AADITYA. www.turmericworld.com,. **Production turmeric**, 2010. Disponível em: <www.turmericworld.com, >. Acesso em: 13 agosto 2017.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils by gas chromatography/mass spectroscopy**. [S.l.]: Allure, 1995. 469 p.

ALIGIANIS, N. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. **J Agr Food Chem**. 49: 4168-4170, 2001.

AMARAL, J. F. Antinociceptive effect of monoterpene R-1-limonene in mice. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 2007. 1217-1220.

BEHURA, S.; SAHU, S.; SRIVASTAVA, V.K. Major constituents in leaf essential oil of *Curcuma longa* L. and *Curcuma aromatica* Salisb. **Current Science**, 83, 2002.1312-1313.

BEZERRA, P. Q. M. et al. Estudo prospectivo da *Curcuma Longa* L. com ênfase na aplicação como corante de alimentos. **Cadernos de Prospecção**, 6, n. 3, 2013. 366-378.

BOURAFI, N. et al. *Enterococcus hirae*, an unusual pathogen in humans causing urinary tract infection in a patient with benign prostatic hyperplasia: first case report in Algeria. **New Microbes New Infect**, 2015. 7-9.

DIAO, W. R. et al. Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). **Food Control**, 2014. 109-116.

GUL, P.; BAKHT, J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potencial use in food industry. **J Food Sci Technol**, 4, 2015. 2272-2279.

HIGUITA, D. M. C. Microencapsulação de Oleoresina de Cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em Misturas de Goma Arábica, Maltodextrina e Amido Modificado. Dissertação (mestrado), Unesp, São Jose do Rio Preto, 2013. 76 p.

KHALANDAR., D. et al. A Current Review on *Curcuma Longa* L. Plants. **International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences**, India, 2018. 68-73.

KUMAR., A. et al. Essentail oil from waste leaves of *Curcuma Longa* L. alleviates skin inflammation. **Inflammopharmacology**, 2018. 1-11.

LIS-BALCHIN, M.; DEANS, S. G. Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*. **J. Appl Bacteriol**, 82, 1997. 756-762.

LIU., Y.; NAIR, M. G. *Curcuma longa* and *Curcuma mangga* leaves exhibit functional food property. **Food Chemistry**, 2012. 634-640.

MAIA, N.B. BOVI, O.A., MAY, A. Destilador de arraste a vapor para pequenos volumes de óleo essencial e composição do óleo essencial. In: Simpósio Brasileiro de óleos essenciais, 3. Campinas: Instituto Agrônômico, 2005, p.117.

MATA, A. R. et al. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24, 2004. 151-157.

MCLAFFERTY, F. W.; STAUFFER, D. B. **Registry of spectral data**. New York: Willey Interscience Pub, 1989. 1038 p.

MENG., F.-C. et al. **Turmeric**: A Review of Its Chemical Composition, Quality Control, Bioactivity, and Pharmaceutical Application. [S.I.]: Academis Press, 2018. 299-350 p.

MING, J, C. et al. Chemical Composition of Essential ils from Rhizomes, Leaves and Flowers of *Curcuma longa* L. from Reunion Island. **Journal of Essential Oil Research**. 249-251.

NAKATANI, N. Antioxidative and antimicrobial constituents of herbs and spices. **.Devel. Food Sci**, 1994. 251-271.

NCCLS., 2002. Referência para testes de diluição em caldo para a determinação da sensibilidade a terapia antifúngica dos fungos filamentosos, M38A, 22, 16.

- NCCLS., 2003. Metodologia dos testes de sensibilidade a agentes antimicrobianos por diluição para bactéria de crescimento aeróbico - 6ª. edição, M7-A6, 23, 2.
- OBENG-OFORI, D.; REICHMUTH, C. H. Bioactivity of eugenol, a major component of *Ocimum suave* (Wild) against four species of stored product Coleoptera. *Int.J. Pest Manage*, 1997. 89-94.
- OGUNTINMEIN, B.O.; WEYERSTAHL, P.; MARSCHALL-WEYERSTAHL, H. Essential oil of *Curcuma longa* L. leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 1990. 89-90.
- PEREIRA, R. D. C. A.; MOREIRA, M. D. R. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPAT-2010/11840/1/cot-142.pdf>. **Cultivo de Curcuma longa L.**, 2009. Acesso em: setembro 2017.
- PINTO, E. B. . N. C. M. M. . O. F. A. A. P. N. B. Avaliação do potencial tóxico dos monoterpenos carvacrol, linalol e p-cimeno: uma abordagem in situ. **Revista Interdisciplina em Saúde**, 2015. 210-224.
- Raij, B. van. et al. Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo, **Boletim Técnico**, 100. 2.ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1996.
- RODRIGUES, J. A. R. Uso de corantes naturais no tingimento de artigos têxteis de moda. Dissertação (mestrado), USP, 2013. 128 p.
- RUSIG, O.; MARTINS, M. C. Efeito da temperatura, do pH e da luz sobre extratos de oleorresina de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) e curcumina. **Rev. Bras. Cor. Nat**, 1, 1992. 158-164.
- SANTOS, M. R. V. et al. cardiocascular effects of monoterpenes: a review. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, 2011. 764-771.
- SEOW, Y. X. et al. Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. **Food Science and Nutrition**, 54, 2014. 625-644.
- SHARMA, R.K. et al. Essential oils of *Curcuma longa* L. from Bhutan. **Journal Essential Oil Research**, 9, 1997. 589-592.
- SHOHAYEB, M. et al. Antibacterial and antifungal activity of *Rosa damascena* MILL. essential oil, different extracts of rose petals. **Global J Pharma**, 2014. 01-07.
- SILVA, N. F. ; SONNENBERG, P. E. ; BORGES, J. D. Crescimento e produção de cúrcuma (*Curcuma longa* L) em função de adubação mineral e densidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, 22, jan-mar 2004. p.61-65.
- SINDHU, S. et al. Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **Food Chem Toxicol**, 2011. 1188-1192.

TERAMOTO., J. R. S.; MAIA., N. B.; FABRI, E. G. **Boletim 200**: Cúrcuma. Campinas: [s.n.], v. 200, 2014.

TRIPATHI, A. K. et al. Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma Longa* (var.Ch66) on the Three Species of Stored-Product Beetles (Coleoptera). **Journal of Economic Entomology**, 2002. 183-189.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, D. J. A generalization of the retention index system including liner temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J cromatography**, 1963. 463-467.

VAZ, A. P. A.; JORGE, M. H. A. Disponível em: <https://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/busca?b=pc&id=786710&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22A.%22&qFacets=autoria:%22A.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=106>, 2007. Acesso em: 10 out 2017.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos Naturais Bioativos. **Alim. Nutr.**, Araraquara, 20, 2009. 157-166.

YAN, S. W.; ASMAH, R. Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower. **International Food Research Journal**, 2010. 417-423.

SOBRE OS AUTORES:

Juliana Rolim Salomé Teramoto- Possui graduação em Engenharia Agrônoma pela Universidade de São Paulo (Escola Superior de Agricultura “Luiz deQueiroz” ESALQ/ USP), Mestre em Fisiologia e Bioquímica de Plantas pela Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) e doutoranda pela Faculdade de Engenharia de Alimentos (UNICAMP). Atualmente é pesquisadora científica no Instituto Agrônomo (IAC) na área de Fitoquímica. Tem experiências em bioquímica de produtos vegetais atuando principalmente com produtos agrícolas alimentares, nutrientes e compostos ativos.

E-mail: juliana@iac.sp.gov.br.

Roselaine Facanali- Possui graduação em Ciências Biológicas pela Pontifícia Universidade Católica de Campinas (1999), mestrado e doutorado em Agronomia (Horticultura - Fitoquímica de plantas hortícolas) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (2002/2008) e Pós-doutorado pelo Instituto Agrônomo de Campinas (2008-2011) na área de química e genética. Tem experiência na área de Química de Produtos Naturais, atuando principalmente nos seguintes temas: óleos essenciais, isolamento de princípios ativos, composição química, cromatografia gasosa e espectrometria de massas; e na área de Genética, com ênfase em caracterização da diversidade genética de plantas nativas, transcriptoma e metaboloma dirigido.

E-mail: roselainefacanali@gmail.com

Marta Cristina Teixeira Duarte- Possui graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1982), Mestrado e Doutorado em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Atualmente é pesquisadora A da Universidade Estadual de Campinas na Divisão de Microbiologia do CPQBA/UNICAMP, Diretora Associada do CPQBA/UNICAMP e Professora plena dos programas de pós-graduação em Odontologia da FOP/UNICAMP - Piracicaba, de Ciência de Alimentos da FEA/UNICAMP e de Biociências e Tecnologia de Produtos Biotivos do IB/UNICAMP. Tem experiência na área de Microbiologia, com ênfase em Bioquímica de Microrganismos, atuando principalmente nos seguintes temas: Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas, Enzimologia, Fermentações e Microbiologia do Ar.
E-mail: mduarte@cpqba.unicamp.br

Márcia Ortiz M. Marques- Possui graduação em Química pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1981), mestrado em Química Orgânica pela Universidade de São Paulo (1985) e doutorado em Química Orgânica pela Universidade de São Paulo (1990). Possui Pós-Doutorado nas áreas de síntese orgânica (1990-1992, Instituto de Química-Unicamp) e extração supercrítica (1993-1994, Instituto Agrônomo). Atualmente é pesquisador científico do Instituto Agrônomo (IAC) e credenciado nos programas de Pós-Graduação, área de concentração Produção Vegetal-Horticultura da Faculdade de Ciências Agrômicas e Ciências Biológicas (Botânica) do Instituto de Biociências, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Campus de Botucatu. É editor associado da Revista Brasileira de Plantas Medicinais. Tem experiência na área de Química de Produtos Naturais, atuando principalmente nos seguintes temas: composição química, óleo essencial, extração supercrítica e caracterização da diversidade genética de plantas nativas.
E-mail: mortiz@iac.sp.gov.br

Eliane Gomes Fabri- Possui graduação em Licenciatura em Ciências pela Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras "Ministro Tarso Dutra" (1991), graduação em Agronomia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (1996). Possui mestrado e doutorado em Agronomia pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/USP (2009). É revisora ad-hoc da Revista Horticultura Brasileira (0102-0536) e pesquisadora científica da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, atuando junto ao Centro de Horticultura - Plantas Medicinais e Aromáticas do Instituto Agrônomo Campinas-IAC. Tem experiência na área de fitotecnia, ensino e extensão e tem atuado na área da horticultura em diversos setores da produção e diversas culturas, atualmente com destaque para a cultura do urucum e plantas aromáticas e medicinais.
Email:efabri@iac.sp.gov.br

Joaquim Adelino de Azevedo Filho- Possui graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras (1989), mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas pela Universidade Federal de Lavras (1992) e

doutorado em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela Universidade de São Paulo (1997). Atualmente é pesquisador científico nível VI da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, no Pólo Regional Leste Paulista. Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em Melhoramento Vegetal, atuando principalmente nos seguintes temas: horticultura, recursos genéticos, produção orgânica, solanum tuberosum L., acrocomia aculeata e agricultura familiar.
Email: joaquimadelino66@gmail.com