

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS – UFPEL
Centro de Engenharias
Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Mestrado em Ciências Ambientais



**Compostos bioativos e atividade antifúngica de óleos fixos de Macrófitas
presentes no resíduo do tratamento de esgoto em Lagoa de Estabilização no
município de Pelotas – RS**

Lucas Reinaldo Wachholz Romano

Pelotas, 2022

Lucas Reinaldo Wachholz Romano

**Compostos bioativos e atividade antifúngica de óleos fixos de
Macrófitas presentes no resíduo do tratamento de esgoto em Lagoa de
Estabilização no município de Pelotas – RS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Ambientais, do Centro de
Engenharias da Universidade
Federal de Pelotas – UFPEL, como
requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Ciências
Ambientais.

Orientador: Prof.^o Dr.^o Darci Alberto Gatto
Coorientador (a): Dr.^a Ivandra Ignês de Santi
Coorientador (a): Dr.^a Silvia Helena Fuentes da Silva

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

R759c Romano, Lucas Reinaldo Wachholz

Compostos bioativos e atividade antifúngica de óleos fixos de macrófitas presentes no resíduo do tratamento de esgoto em lagoa de estabilização no município de Pelotas – RS / Lucas Reinaldo Wachholz Romano ; Darci Alberto Gatto, orientador ; Ivandra Ignês de Santi, Silvia Helena Fuentes da Silva, coorientadoras. — Pelotas, 2022.

100 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1 . Macrófitas. 2. Compostos bioativos. 3. Lagoas de estabilização. 4. Óleos fixos. I. Gatto, Darci Alberto, orient. II. Santi, Ivandra Ignês de, coorient. III. Silva, Silvia Helena Fuentes da, coorient. IV. Título.

CDD : 363.7

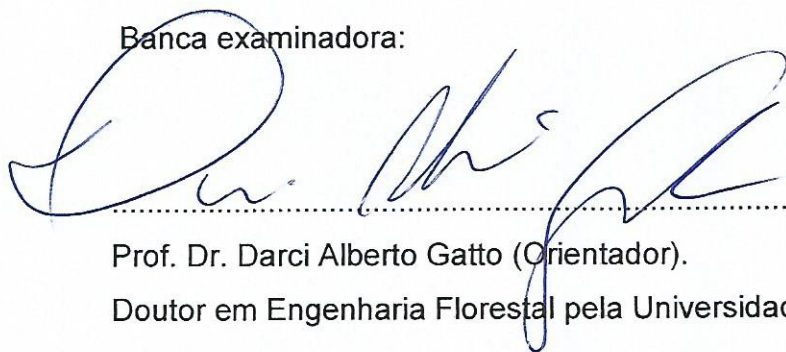
Lucas Reinaldo Wachholz Romano

Compostos bioativos e atividade antifúngica de óleos fixos de Macrófitas
presentes no resíduo do tratamento de esgoto em Lagoa de Estabilização no
município de Pelotas – RS

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de
Mestre em Ciências Ambientais, Programa de Pós-Graduação em Ciências
Ambientais, Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 24 de Fevereiro de 2022.

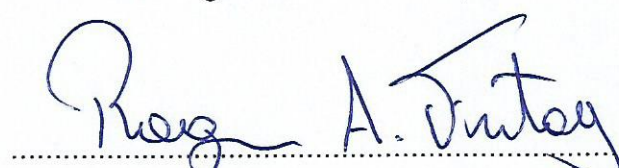
Banca examinadora:



Prof. Dr. Darci Alberto Gatto (Orientador).
Doutor em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Santa Maria.



Prof. Dr. André Luiz Missio.
Doutor em Engenharia Florestal pela Universidade Federal de Santa Maria.



Prof. Dr. Rogério Antonio Freitag.
Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria.

Agradecimentos

Primeiramente, sou grato a Deus por tudo que tem realizado em minha vida e a minha família, por toda alegria e companheirismo.

Agradeço ao meu orientador Prof.^o Dr.^o Darci Alberto Gatto e as minhas coorientadoras, Dr.^a Ivandra Ignês de Santi e Dr.^a Silvia Helena Fuentes da Silva, pela oportunidade concedida e por todo o caminho acadêmico trilhado que me permitiu chegar a concretização do mestrado.

Meu muito obrigado a todos os meus amigos e colegas, por me escutarem, pelas palavras de apoio e por toda ajuda. Não posso deixar de dizer muito obrigado para a Nidria, por todo conhecimento compartilhado durante o mestrado, e a Yasmin e a Sthéfani, por todo incentivo, amizade e por sempre se importarem e me ouvirem.

Agradeço a todos os professores pela receptividade, pela disponibilidade dos laboratórios para desenvolvimento desse projeto e por todos ensinamentos e conhecimentos compartilhados.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Pelotas, ao Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, por me possibilitarem mais esta conquista.

Resumo

ROMANO, Lucas Reinaldo Wachholz. **Compostos bioativos e atividade antifúngica de óleos fixos de Macrófitas presentes no resíduo do tratamento de esgoto em Lagoa de Estabilização no município de Pelotas – RS.** 2022. 100f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Ambientais) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Centro de Engenharias, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

A crescente demanda por novas tecnologias que possibilitem o desenvolvimento econômico e a preservação do meio ambiente tem alterado o comportamento da sociedade na busca de novas formas eficientes de aproveitamento dos resíduos gerados pelas atividades antrópicas, com baixo custo e menor agressividade aos sistemas naturais. Como fonte de matéria-prima tem-se utilizado diversas plantas e seus produtos, dos quais já foram isolados inúmeros compostos. Sendo assim, este estudo teve como objetivo avaliar a possibilidade de aproveitamento de espécies de macrófitas que compõem o resíduo gerado pela Estação de Tratamento de Esgoto Lagoa de Estabilização, no município de Pelotas – RS, quanto a obtenção de óleos fixos e suas possíveis aplicações. Para tal, primeiramente foi feito a identificação das espécies de plantas, seguido da extração dos óleos com solvente hexano, usando o aparelho Soxhlet. Os mesmos foram testados quanto a sua atividade antioxidante, pela captura do radical DPPH, teor de compostos fenólicos, pelo método Folin-Ciocalteu, e atividade antifúngica frente a cepa LPF-108 do fungo *Trametes versicolor*. Os resultados indicaram a presença de seis espécies diferentes, pertencentes a seis gêneros e cinco famílias botânicas. O rendimento dos óleos variou de 2,7 a 5,6 %, de acordo com a espécie, e a atividade antioxidante, expressa de duas formas diferentes, registrou valores entre 1,95 a 17,33 g(amostra)/gDPPH e de 70 a 91 de % inibição do radical. Também foram observadas variações quanto aos resultados obtidos de compostos fenólicos, ficando entre 28,71 a 38,07 mg de EAG/g de óleo, e a atividade antifúngica dos óleos, que oscilou entre 28 a 93 %, conforme a espécie. Por fim, conclui-se que as espécies avaliadas têm um grande potencial quanto aos seus compostos bioativos, podendo variar de uma para outra. Além disso, o estudo oferece uma alternativa para o aproveitamento da biomassa que compõe parte do resíduo gerado nas lagoas de estabilização.

Palavras-chave: macrófitas; lagoas de estabilização; óleos fixos; compostos bioativos.

Abstract

ROMANO, Lucas Reinaldo Wachholz. **Bioactive compounds and antifungal activity of fixed oils of Macrophytes present in sewage treatment residue in Lagoa de Stabilization in the city of Pelotas - RS.** 2022. 100f. Dissertation (Academic Master in Environmental Sciences) - Postgraduate Program in Environmental Sciences, Center for Engineering, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2022.

The growing demand for new technologies that enable economic development and the preservation of the environment has changed the behavior of society in the search for new efficient ways of using waste generated by human activities, with low cost and less aggressiveness to natural systems. As a source of raw material, several plants and their products have been used, from which numerous compounds have already been isolated. Therefore, this study aimed to evaluate the possibility of using macrophyte species that make up the waste generated by the Lagoa de Stabilization Sewage Treatment Station, in the municipality of Pelotas - RS, in terms of obtaining fixed oils and their possible applications. To this end, the identification of plant species was first carried out, followed by the extraction of the oils with hexane solvent, using the Soxhlet apparatus. They were tested for their antioxidant activity, by capturing the DPPH radical, content of phenolic compounds, by the Folin-Ciocalteau method, and antifungal activity against the LPF-108 strain of the fungus *Trametes versicolor*. The results indicated the presence of six different species, belonging to six genera and five botanical families. The oil yield varied from 2.7 to 5.6 %, according to the species, and the antioxidant activity, expressed in two different ways, recorded values between 1.95 and 17.33 g(sample)/gDPPH and of 70 to 91 % radical inhibition. Variations were also observed in the results obtained for phenolic compounds, ranging from 28.71 to 38.07 mg of EAG/g of oil, and the antifungal activity of the oils, which ranged from 28 to 93%, depending on the species. Finally, it is concluded that the evaluated species have great potential in terms of their bioactive compounds, which may vary from one to another. In addition, the study offers an alternative for the use of the biomass that makes up part of the waste generated in the stabilization ponds.

Key-words: macrophytes; stabilization ponds; fixed oils; bioactive compounds.

Lista de Tabelas

Tabela 1	Espécies de macrófitas aquáticas encontradas e identificadas na Lagoa de Estabilização do município de Pelotas, RS.....	41
Tabela 2	Rendimento das massas dos óleos fixos obtidos para cada uma das espécies avaliadas, após tratamento inicial do material vegetal.....	50
Tabela 3	Preparo das soluções para curva do DPPH.....	56
Tabela 4	Resultados para (g)amostra/(g)DPPH e porcentagens de inibição (%) do radical livre DPPH encontradas para os óleos fixos de cada uma das seis espécies avaliadas, em diferentes concentrações.....	60
Tabela 5	Diluições dos óleos fixos usadas para determinar o teor de compostos fenólicos de acordo com cada espécie estudadas...	67
Tabela 6	Teor de compostos fenólicos totais (TCF) em óleos fixos de seis diferentes espécies de macrófitas aquáticas.....	68
Tabela 7	% de inibição do crescimento de <i>T. versicolor</i> testado com cada um dos óleos obtidos das espécies <i>E. anagallis</i> , <i>A. philoxeroides</i> , <i>M. maximus</i> , <i>T. domingensis</i> , <i>H. reniformis</i> e <i>E. crassipes</i>	74

Sumário

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Objetivo geral	13
1.2 Objetivos específicos	13
1.3 Hipóteses	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Lagoas de estabilização	15
2.1.1 Resíduo gerado em lagoas de estabilização	17
2.2 Macrófitas	19
2.3 Biomassa de macrófitas em lagoas de estabilização	22
2.4 Estudo do aproveitamento de macrófitas	24
2.5 Óleos fixos	28
2.6 Atividade antioxidante	30
2.7 Compostos fenólicos	33
2.8 Atividade antifúngica	36
CAPITULO 1 – Extração de óleos fixos de seis espécies de macrófitas aquáticas encontradas na Lagoa de Estabilização do município de Pelotas, RS	38
1 Introdução	38
2 Materiais e métodos	39
2.1 Coleta das macrófitas	39
2.2 Preparo das amostras	40
2.3 Extração do óleo fixo	40
2.4 Análise estatística	40
3 Resultados e discussão	41
3.1 Identificação das espécies	41

3.2 Descrição das espécies.....	41
3.2.1 <i>Enydra anagallis</i> Gardner.....	42
3.2.2 <i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.....	43
3.2.3 <i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs	44
3.2.4 <i>Typha domingensis</i> Pers.	45
3.2.5 <i>Heteranthera reniformis</i> Ruiz & Pav.	47
3.2.6 <i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms.....	49
3.2 Extração dos óleos fixos.....	51
4 Conclusão	53
CAPÍTULO 2 – Determinação do potencial antioxidante de óleos fixos extraídos de diferentes espécies de macrófitas aquáticas.....	
1 Introdução	54
2 Materiais e métodos	55
2.1 Preparo das amostras	55
2.2 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH	56
2.3 Determinação da curva do DPPH	56
2.4 Preparo dos óleos	57
2.5 Determinação da atividade antioxidante total (AAT)	57
2.6 Análise estatística	59
3 Resultados e discussão.....	59
4 Conclusões.....	62
CAPÍTULO 3 – Quantificação dos compostos fenólicos totais em óleos fixos de diferentes espécies de macrófitas aquáticas.....	
1 Introdução	64
2 Materiais e métodos	65
2.1 Preparo das amostras	65
2.2 Extração de compostos fenólicos.....	66

2.3 Quantificação de fenólicos totais	66
2.4 Construção da curva padrão de ácido gálico	66
2.5 Determinação de fenólicos totais nos extratos	66
2.6 Análise estatística	67
3 Resultados e discussão.....	68
4 Conclusões.....	70
CAPÍTULO 4 – Determinação da atividade antifúngica de óleos fixos de diferentes espécies de macrófitas aquáticas no crescimento micelial de <i>Trametes versicolor</i> (cepa LPF-108)	
1 Introdução	71
2 Materiais e métodos	72
2.1 Preparo das amostras	72
2.2 Atividade antifúngica contra xilófagos	73
2.3 Análise estatística	73
3 Resultados e discussão.....	73
4 Conclusões.....	77
3 Considerações finais	79
Referências	80
Anexos	99

1 INTRODUÇÃO

Conseguir conciliar o desenvolvimento econômico com a preservação do meio ambiente nunca foi tão imperativo para o futuro do planeta e das sociedades humanas. O convívio rotineiro com as diversas problemáticas ambientais, desde o descarte do lixo domiciliar, ao despejo de efluentes em rios, lagos e oceanos, são reflexos do crescimento acelerado da população e do setor industrial e estão entre as principais causas da degradação ambiental.

A busca crescente por soluções de saneamento ambiental e tecnologias de tratamento de esgotos é parte fundamental do processo de recuperação e manutenção da qualidade de vida da população e do meio ambiente (OLIVEIRA, 2019; SCOTTÁ, 2015). Apesar do avanço do Brasil nos últimos anos, ainda há sérios problemas com relação a deficiência do serviço de saneamento básico (OLIVEIRA et al., 2015), principalmente no que tange à coleta e tratamento de esgoto (GARCIA; FERREIRA, 2017). De acordo com o Sistema de Informações sobre Saneamento - SNIS (2016), apenas 44,9% dos esgotos gerados no país são tratados e, ao analisar a situação da região sul, por exemplo, vemos que o índice do tratamento dos esgotos gerados é de 46,9%, sendo o estado do Rio Grande do Sul, responsável por 30,22% dos municípios com coleta de esgotos e destes apenas 25,22% tratam seus esgotos.

Situação similar à do estado do Rio Grande do Sul, o município de Pelotas apresenta 59,03% da população atendida com rede coletora de esgoto, porém apenas 19,20% do esgoto é tratado no município (SNIS, 2016).

Dentre as diversas alternativas para o tratamento do esgoto, que se tem conhecimento atualmente, o sistema mais usual no Brasil são as lagoas de estabilização devido às altas temperaturas, grandes áreas disponíveis e baixo custo de manutenção (FUJIOKA et al., 2020). Esse é um sistema simples para o tratamento de efluentes, que pode estar associado ao uso de espécies vegetais como etapa complementar ao tratamento, visando reduzir as concentrações de macronutrientes como o fósforo e o nitrogênio, um exemplo, são as macrófitas aquáticas.

As macrófitas aquáticas são organismos capazes de tolerar níveis elevados de matéria orgânica e outros compostos. Estudos com essas plantas

apontaram uma remoção de quase 90% e 94% para os parâmetros nitrogênio total e fósforo total, respectivamente, os quais não se encontram no foco do tratamento convencional de efluentes de esgoto e são essências para desenvolvimento dessas plantas (SOARES, 2018).

A partir disto, se justifica este trabalho, pois temos por lado um ambiente rico em matéria orgânica e macronutrientes, que precisam ter sua carga reduzida para que o tratamento do efluente seja efetivo, e de outro, plantas que apresentam um grande potencial de absorção de poluentes, além de se desenvolverem rapidamente nestes ambientes (lagoas de estabilização), produzindo grande quantidade de biomassa, sendo, por vezes, necessário que haja a remoção mecânica desse material do ambiente, visto que, em grandes quantidades, podem prejudicar o tratamento (ALI; KHAN; SAJAD, 2013; FAVAS et al., 2014; PINTO et al., 2021).

Neste sentido, tem-se uma fonte de biomassa gerada nas lagoas de estabilização, que acaba se tornando um resíduo do processo de tratamento pelo fato de que, na maior parte das vezes, esse material acaba sendo depositado em um aterro ou pior, no próprio ambiente. Nesse contexto, alternativas de aproveitamento podem ser implementadas, como na produção de papel e biogás, na produção de adobe (BEZERRA; SILVA; LOPES, 2007), adubos orgânicos, na fertilização de solos (SAMPAIO; OLIVEIRA, 2005), na alimentação animal (PIETERSE; MURPHY, 1990; EL-SAYED, 1999) e na compostagem (MEES, 2006).

Seguindo nessa ideia de aproveitamento da biomassa de macrófitas, outra alternativa é a extração dos óleos fixos, provenientes do metabolismo celular das plantas. Esses óleos são compostos químicos cuja principal função é armazenar nutrientes (energia), sendo uma matéria-prima interessante do ponto de vista farmacológico, industrial e nutricional.

Outros estudos apontam o potencial bioquímico e farmacológico destas plantas, como ensaios biológicos realizados com os extratos brutos de duas espécies de macrófitas, pertencentes ao gênero *Echinodorus* (*E. macrophyllus* e *E. grandiflorus*), que apresentaram efeitos imunossupressores e anti-hipertensivos, respectivamente (PINTO et al., 2007; LESSA et al., 2008). São apenas dois exemplos, mas que dão um vislumbre do potencial latente encontrado nessas plantas.

No entanto, o potencial destas espécies como fonte de substâncias bioativas ainda é muito pouco explorado e carece de mais atenção dos pesquisadores. Um estudo realizado com as fases orgânicas da espécie *H. leucocephala* revelou potencial diante da avaliação da atividade antirradicalar frente o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). A fase em butanol, foi a mais ativa evidenciado pela comparação com a substância controle quercetina e pela possível presença de substâncias fenólicas que apresentam reconhecida atividade antirradicalar (MORAIS et al., 2018).

Desse modo, a biodiversidade vegetal brasileira oferece uma enorme gama de espécies com potencial para aproveitamento no contexto de biorrefinarias. Os investimentos em ciência, tecnologia e inovação resultam em soluções criativas que podem ser escalonadas, criando novas oportunidades ao se manter a continuidade nos esforços em bioprospecção e investigação de novas espécies, possibilitando encontrar um leque de novos recursos, para as mais diversas aplicações biotecnológicas (COSTA et al., 2015; STRAZZERA et al., 2018).

1.1 Objetivo geral

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a possibilidade de aproveitamento de espécies de macrófitas que compõem o resíduo gerado pela Estação de Tratamento de Esgoto Lagoa de Estabilização, no município de Pelotas – RS, quanto a obtenção de óleos fixos e suas possíveis aplicações.

1.2 Objetivos específicos

Quanto aos objetivos específicos, foi considerado:

- a) fazer um levantamento prévio das espécies de macrófitas presentes na área de estudo;
- b) avaliar a extração de óleos fixos das espécies estudadas;
- c) conhecer o comportamento das variáveis existentes quanto ao rendimento destes óleos;

- d) determinar a atividade antioxidante e o teor de compostos fenólicos dos óleos extraídos de cada espécie;
- e) testar a atividade antifúngica para cada um dos óleos extraídos;
- f) destacar o potencial de cada uma das espécies estudadas.

1.3 Hipóteses

Para este estudo foram consideradas as seguintes hipóteses:

- a) as espécies analisadas têm potencial para extração de óleos fixos;
- b) os óleos extraídos apresentem teor de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antifúngica significativos;
- c) os óleos extraídos podem ser promissores para aplicação biotecnológica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Lagoas de estabilização

Nos últimos anos a preocupação com as questões ambientais vem sendo bastante discutida, uma vez que o desequilíbrio gerado de uma forma global encaminha-se ao surgimento de grandes impactos ambientais negativos na sociedade. Uma dessas problemáticas são resultantes do descarte indevido de esgoto doméstico no meio ambiente (PALMEIRA, 2014).

Segundo Felizatto et al. (2013) a taxa de contaminação dos recursos hídricos é muito mais elevada na América Latina que em outras regiões do mundo. Se analisarmos o potencial de degradação hídrica, ao fazer um cálculo *per capita*, nota-se que a América do Sul contamina quase 11 vezes mais a água doce que a Europa.

Como forma de preservação do recurso água, o esgoto doméstico coletado deve ser destinado às estações de tratamento de esgoto (ETE), para posterior disposição final. Existem inúmeras formas de disposição do esgoto, sendo a diluição em córregos, rios e lagos, uma das mais frequentes no Brasil (PIVELI, 2010).

Para fazer frente ao desafio de garantir a preservação das fontes de água para assegurar o abastecimento à sociedade e permitir a manutenção das necessidades hídricas para o setor agrícola e industrial, novas tecnologias denominadas de Sistemas Alternativos de Tratamento de Esgoto (SATE) vem sendo estudados. O SATE é formado por vários tipos de sistemas, tais como: *wetlands*, filtração lenta, tanque séptico modificado, reator aeróbico e anaeróbico, valas de infiltração e lagoas facultativas ou também conhecidas por lagoas de estabilização (ALBANO, 2014).

Um dos sistemas mais antigos de tratamento registrado na literatura, as lagoas de estabilização, tiveram seu primeiro registro nos Estados Unidos, no final do século XIX, embora alguns autores relatem que a existência perdura há mais de um século (KELLENER; PIRES, 1998; JORDÃO & PESSOA, 2005). No entanto, foi somente a partir da II Guerra Mundial que o funcionamento das lagoas passou a ter algum controle, o que possibilitou estabelecer alguns

parâmetros para a qualidade do efluente final (TALBOYS, 1971; FORERO, 1985).

As lagoas de estabilização têm sido a técnica de tratamento de esgotos domésticos mais utilizada nos países em desenvolvimento, por ser um processo natural de tratamento de esgotos, apresentar baixo custo de manutenção e instalação. Além disso, pode atingir excelentes eficiências de remoção de matéria orgânica, nutrientes e patógenos (CAMPOS, 2014).

De acordo com Andrade Neto (1997), no Brasil, o estado de São Paulo foi o primeiro a construir, em 1960, a primeira lagoa projetada especificadamente para receber e depurar esgoto bruto, de acordo com o sistema chamado “Australiano”. Desde então as lagoas de estabilização têm sido largamente utilizadas e somente no Brasil, elas estão presentes em mais de 350 localidades (PERÍGOLO, 2004).

Segundo Silva Filho (2007), as lagoas de estabilização são basicamente biorreatores, relativamente rasos, de águas lânticas, construídos para armazenar resíduos específicos, como domésticos e industriais, resultando na estabilização da matéria orgânica através de processos biológicos que envolvem algas e bactérias.

Esse método de tratamento visa principalmente a remoção de matéria orgânica, restando no ambiente basicamente macronutrientes, como o nitrogênio (N) e o fósforo (P). O termo “estabilização” refere-se a uma mistura de condições aeróbias e anaeróbias, ou seja, na camada de cima do volume interno da lagoa, está o meio aeróbico, e na camada de baixo, o anaeróbio. A maior parte do oxigênio requerido para manter a camada superior em condições aeróbias é originada da atividade fotossintética das algas e a outra parte, considerada desprezível, procede da reaeração resultante do contato com o ar e vento na superfície da lagoa (NUVOLARI, 2011; VON SPERLING, 2005).

De acordo com Von Sperling (2013), os três principais tipos de lagoas de estabilização são: anaeróbia, facultativa e lagoas de maturação. Sendo, as lagoas anaeróbias e as facultativas designadas para remoção de DBO e as lagoas de maturação designadas para remoção de bactérias.

Segundo Perígolo (2004) os fatores que interferem no processo de tratamento das lagoas de estabilização podem ser divididos em externos

(radiação solar, temperatura local e vento) e internos (fotossíntese e carga orgânica aplicada).

O crescimento de algas e outras plantas aquáticas nas lagoas é favorecido pelo ambiente rico em nutrientes e pela exposição à luz solar, principais fatores de seu metabolismo. Em virtude da grande concentração de algas, normalmente as lagoas de estabilização apresentam cor esverdeada (JUNIOR et al., 2019).

2.1.1 Resíduo gerado em lagoas de estabilização

Como já foi mencionado, o sistema de tratamento de esgoto por lagoas de estabilização é antigo e amplamente difundido. Entretanto, importância secundária tem sido tradicionalmente atribuída aos resíduos produzidos em lagoas de estabilização, como o lodo e a biomassa excessiva de plantas que se desenvolvem nesse sistema.

Sistemas como lagoas de estabilização constitui-se em corpos d'água artificialmente eutrofizados, com elevada concentração de nutrientes (N e P), promovendo condições suscetíveis à proliferação de algas e outras espécies de plantas aquáticas, como as macrófitas (CRUZ et al., 2005).

A diversidade de algas e macrófitas em lagoas de estabilização é influenciada pela matéria orgânica, temperatura, intensidade luminosa, temperatura, vazão e tamanho da lagoa, sendo que os gêneros mais frequentes variam com as condições climáticas locais, a qualidade do esgoto, presença de micro-organismos e relações de parasitismo e herbivoria (PALMER, 1969; REYNOLDS, 1987).

Todavia, o crescimento excessivo de macrófitas em lagoas de estabilização pode limitar o uso múltiplo da água, além de contribuir para a eutrofização e prejudicar o tratamento do esgoto. Corpos d'água, que apresentam longo tempo de residência, constância do nível e localização em regiões protegidas da ação dos ventos, as quais tendem a ser mais eutróficas, são mais propícios ao crescimento de macrófitas aquáticas.

Estes organismos são importantes componentes nos corpos d'água, mas as mesmas podem se proliferar rapidamente, causando prejuízos pela infestação e dificultando a dinâmica da biota no ambiente aquático. Ao formar

um “tapete verde” na superfície das lagoas, a passagem de luz solar pela coluna d’água é comprometida, afetando, conseqüentemente, o processo fotossintético ao inibir o desenvolvimento fitoplânctônico, e, ocasionando, juntamente com a proliferação de bactérias aeróbicas, a redução da concentração de oxigênio dissolvido nas partes mais profundas do corpo d’água, culminando, dessa forma, na morte de muitos organismos aquáticos.

A destinação desse material representou principal problema a ser resolvido, tendo em vista sua quantidade e as exigências dos órgãos fiscalizadores por padrões de tratamento aceitáveis, aliados ao fato de que na maior parte das lagoas em operação no Brasil não é feita a remoção adequada desse material e, quando removido, o mesmo é disposto no solo ou em córregos próximos, em áreas adjacentes. A disposição deste material no solo sem higienização prévia possibilita a exposição do homem e dos animais a bactérias, vírus, fungos e outros parasitas patogênicos.

Nesse sentido, para a retomada da eficiência plena do sistema de tratamento, torna-se urgente a retirada das macrófitas da superfície das lagoas, de forma manual ou mecanizada, de maneira que também não ocasione um impacto ambiental. Então, a questão é descobrir uma utilização sustentável para esse rejeito, sendo a caracterização química do mesmo, indispensável, para fins de conhecimento do seu potencial e direcionamento para os mais diversos usos (BRASIL, 2018; LINS, 2017; PANDOLFI, 2017; MITO et al, 2018).

Dentre as possíveis alternativas para disposição final desse resíduo que já se tem conhecimento, destacam-se os aterros sanitários, disposição de superfície, disposição oceânica, lagoas de armazenamento, produção de biodiesel, bioenergia, processo de fixação de CO₂, incineração e reciclagem agrícola. Essa última inclusive, apresenta-se como uma alternativa promissora, tanto do ponto de vista ambiental como econômico, uma vez que os teores de nitrogênio e fósforo permitem uma diminuição significativa da necessidade de fertilizantes nitrogenados e fosfatados, enquanto que matéria orgânica contribui para a resistência do solo à erosão (AHMAD et al., 2011; TABATABAEI et al., 2011; LEE et al., 2010).

2.2 Macrófitas

As macrófitas são plantas aquáticas (*macro*=grande, *fita*=planta). Elas são, em sua grande maioria, vegetais terrestres que ao longo de seu processo evolutivo, se adaptaram ao ambiente aquático, por isso apresentam algumas características de vegetais terrestres e uma grande capacidade de adaptação a diferentes tipos de ambientes (o que torna sua ocorrência muito ampla). Por apresentarem uma grande plasticidade ecológica, podem ser encontradas nos mais diversos habitats, como brejos, lagos, rios, cachoeiras e ambientes salobros (POMPÊO, 2008).

Segundo Probio (2018), devido ao fato das macrófitas aquáticas constituírem um grupo muito grande, elas são geralmente classificadas em grupos ecológicos, de acordo com o seu biótopo de ocorrência, ou seja, seu modo de vida no ambiente aquático (Figura 1).

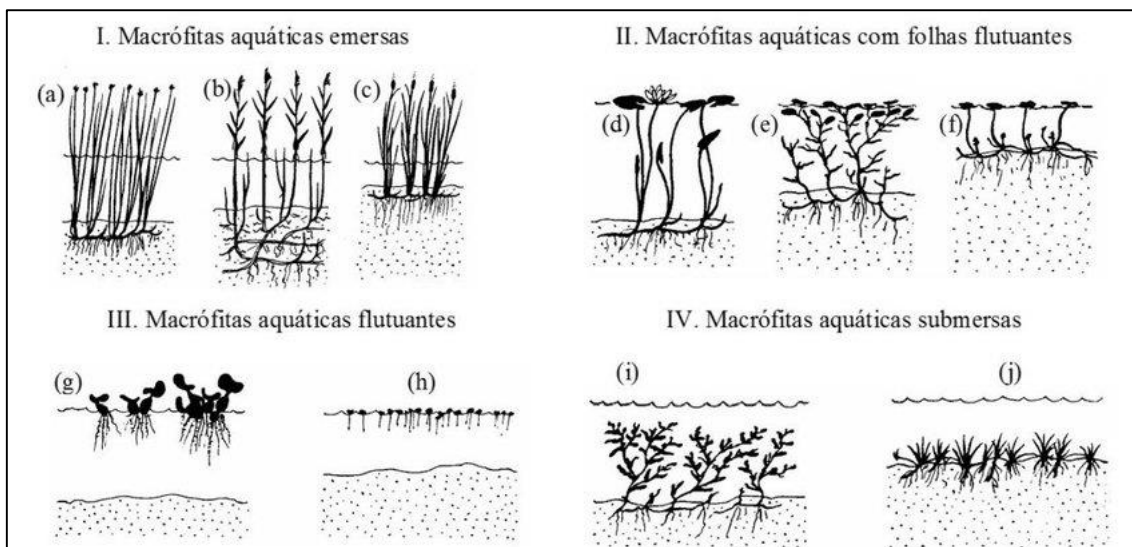


Figura 1 - Formas biológicas de macrófitas aquáticas.

Fonte: Brix & Schierup (1989).

Sendo eles:

- a) macrófitas aquáticas emersas: enraizadas no sedimento, porém as folhas crescem para fora da água. Ex: junco, taboa;

- b) macrófitas aquáticas com folhas flutuantes: enraizadas no sedimento e com folhas flutuando na superfície da água. Ex: lírio-d'água, vitória-régia;
- c) macrófitas aquáticas flutuantes: Flutuam livremente na superfície da água. Ex: alface-d'água, aguapé, orelha-de-rato;
- d) macrófitas aquáticas submersas: crescem totalmente debaixo d'água. Podem estar fixas no sedimento (enraizadas). Ex: elódea, cabomba; ou flutuando na coluna d'água (livres), se prendendo ou não a pecíolos e caules de outras macrófitas. Ex: utriculária.

Uma das primeiras menções ao termo macrófitas aquáticas foi proposta por Weaner e Clements (1938), que as definiram como plantas herbáceas que crescem na água, em solos cobertos por água ou em solos saturados com água. Apesar de existirem outras terminologias para descrever o conjunto de vegetais adaptados ao ambiente aquático, como hidrófitas, helófitas, euhidrófitas e limnófitos, no Brasil o termo macrófitas aquática é de uso corrente (POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2003).

Ao longo do seu processo evolutivo, as macrófitas aquáticas desenvolveram diferentes adaptações ao ambiente aquático. Com mais de 450 gêneros e aproximadamente 2600 espécies, espalhadas ao redor do mundo, estas plantas estão divididas em sete grandes grupos: cianobactérias, clorófitas, rodófitas, xantófitas, briófitas, pteridófitas e espermatófitas (CHAMBERS et al., 2008).

Segundo Pompêo (2008), entende-se que estas plantas são visíveis a olho nu, com partes fotossinteticamente ativas, presentes permanentemente no ambiente ou por alguns meses em cada ano. A comunidade de macrófitas constitui um importante componente dos corpos d'água, contribuindo em transformações físicas, químicas e nos processos microbiológicos de remoção dos nutrientes no meio onde estão inseridas, proporcionando locais de reprodução e refúgio para diversos organismos, interferindo na ciclagem de nutrientes e na base das teias alimentares, como importante produtora dentro do ecossistema aquático (SIPAÚBA-TAVARES; BARROS; BRAGA, 2003).

Por serem muito sensíveis aos diferentes tipos de alteração do meio, são vários os fatores que podem afetar a distribuição e estruturação das comunidades de macrófitas aquáticas, seja em escala local ou regional, dentre

esses fatores podem ser citados os abióticos, como profundidade, temperatura, pH, entre outros, e os fatores bióticos, como competição, facilitação, potencial de dispersão e de colonização. Esses fatores atuam em conjunto tornando o corpo d'água propício ou não a colonização e desenvolvimento dessas comunidades. Em condições favoráveis, as populações de plantas aquáticas são rapidamente disseminadas, colonizando extensas superfícies de água em um curto espaço de tempo (POMPÊO, 2008).

Essas plantas podem ser utilizadas também em programas de biomonitoramento de ambientes lóticos e lênticos, atuando como indicadores ecológicos da qualidade da água. Sua capacidade de reter diferentes tipos de contaminantes, possibilita a utilização da biomassa de macrófitas como indicadoras de descargas intermitentes, além de contribuir para a redução da turbulência, na reciclagem de nutrientes, na produção de matéria orgânica e desempenhar um importante papel no controle de vetores de doenças de veiculação hídrica (COOK, 1996; PEDRALLI, 1990; RUSANOWSHI, 1984).

A utilização de macrófitas aquáticas como agente purificador se deve a sua intensa absorção de nutrientes e poluentes, como, por exemplo, os metais pesados (GLASS, 1998). Várias espécies têm sido estudadas e sugeridas como alternativas para solução de problemas de contaminação ambiental, para avaliar a qualidade da água, monitorar metais pesados e outras aplicações (DEMBITSKY; REZANKA, 2003).

Contudo, a ampla distribuição e a capacidade de colonizar novos ambientes, associados ao crescimento acelerado e à elevada capacidade de armazenarem nutrientes, tornam as macrófitas aquáticas potencialmente atrativas do ponto de vista econômico. Segundo Henry-Silva (2002), essas plantas vêm sendo utilizadas com êxito no tratamento de efluentes urbanos e de aquicultura, embora, ainda haja um pouco de aproveitamento da biomassa vegetal formada nesses sistemas, uma vez que é necessária a remoção periódica dessas plantas, para garantir a eficácia no processo de tratamento.

2.3 Biomassa de macrófitas em lagoas de estabilização

De acordo com Strazzera et al., (2018), a biodiversidade vegetal brasileira oferece uma enorme gama de espécies com potencial de aproveitamento para os mais diversos fins.

A biomassa é considerada como um dos produtos mais importantes para a produção de energia a partir de recursos renováveis, podendo ser definida como todo o material orgânico sobre a terra, que se caracteriza por armazenar energia solar por meio das suas ligações químicas, sendo os seus constituintes principais, a celulose, hemicelulose e lignina, presentes em componentes como carboidratos e outros elementos produzidos pela fotossíntese (CAPOTE, 2012).

A biomassa de macrófitas que se desenvolve em lagoas de tratamento de esgotos sanitários é abundante e deve ser removida periodicamente para evitar a superpopulação e, conseqüente, competição por recursos, e assim garantir a propagação das plantas remanescentes. Segundo Cancian (2007), algumas espécies de macrófitas aquáticas são frequentemente encontradas em ambientes eutrofizados e, nessas condições, se desenvolvem rapidamente, alcançando valores elevados de biomassa e cobrindo grandes áreas, como por exemplo, a espécie *Pistia stratiotes* encontrada em abundância na extensão do lago de Itaipu, situado na cidade de São Miguel do Iguaçu, no Paraná.

Esta biomassa recolhida pode ser utilizada para diversos fins, como adubo orgânico, biocombustíveis, alimentação de peixes e aves (em estado fresco, incorporada a ração ou em forma peletizada), entre outras. Entretanto, ressalva-se que não é apropriado a utilização da biomassa produzida em lagoas de estabilização para alimentação humana (MOHEDANO, 2004).

Em estudo realizado por Mohedano (2010), foi avaliada a biomassa de macrófitas lemnáceas da espécie *Landoltia punctata* no tratamento do efluente de suinocultura. Após o tratamento em um biodigestor, verificou-se, uma produtividade de biomassa de 180 g/m².dia de matéria fresca (68 t/ha.ano), com um teor de proteína de 35%. As lagoas de lemnas apresentaram excelentes resultados no polimento do efluente, para os parâmetros avaliados, com as seguintes eficiências de remoção: NTK= 98%, N-NH₃= 99%, PT= 94%, DQO= 96%, DBO₅= 95%, ST = 92%, *E. coli* = 2 log.

Segundo Valentim (1999), as vantagens das plantas aquáticas no tratamento de efluentes, em comparação a um filtro convencional (de solo ou de pedras), são: a estética e o apelo ecológico; o controle de mau odor, agindo como um biofiltro, possibilitando instalação próxima à comunidade; o tratamento aeróbio e anaeróbio do efluente, retirando sólidos suspensos e microrganismos patogênicos, devido à ausência da contribuição de algas para a elevação desse parâmetro; e o controle de insetos, por ação de plantas superficiais (MOHEDANO, 2010; POTT; POTT, 2002). Porém o maior destaque, quando comparado a outros sistemas de tratamento é a produção de uma biomassa de excelente qualidade (MOHEDANO, 2004).

A alta produção de biomassa de macrófitas flutuantes em águas com elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo tem despertado o interesse em utilizá-las em sistemas de tratamento de efluentes enriquecidos em nutrientes. Nestes sistemas, as macrófitas removem nutrientes da água e os estocam em sua biomassa (TILLEY et al., 2002). Além disso, servem de substrato para microrganismos que mineralizam e removem nutrientes efluentes (BIUDES; CAMARGO, 2008).

Como já foi mencionado, as lagoas de estabilização são ambientes ricos em matéria orgânica e macronutrientes, essenciais para o desenvolvimento de algumas espécies de plantas. No Brasil há condições favoráveis para a instalação deste tipo de tratamento, pois existe disponibilidade de terras com baixo valor por hectare e condições ambientais adequadas. Além disso, há a possibilidade de aproveitamento da biomassa de macrófitas produzida para gerar outros produtos (NASCIMENTO, 2001).

Muitos estudos desenvolvidos pela Petrobrás e universidades já abordaram possibilidade de gerar biocombustível a partir de macrófitas. Elas apresentam a vantagem de necessitar uma área menor de cultivo se comparada com outras culturas, como milho e cana de açúcar, além de não competirem com o uso do solo para a alimentação humana.

Contudo, existem lacunas de informações a respeito do funcionamento desses sistemas em larga escala (PITTMAN; DEAN; OSUNDEKO, 2011; PARK; CRAGGS; SHILTON, 2011). Ainda segundo esses mesmos pesquisadores, há a necessidade de se entender melhor o que controla a manutenção de espécies dominantes e a interação dos organismos nesses ambientes artificiais. Os

principais estudos de produção de biomassa a partir de esgotos sanitários devem focar tanto na avaliação da remoção de matéria orgânica, nitrogênio, fósforo e outros poluentes, como também o controle das variáveis que otimizem a produção de biomassa (PITTMAN; DEAN; OSUNDEKO, 2011).

De acordo com Strazzera et al., (2018), questões de logística e desenvolvimento tecnológico, visando alcançar a maximização do respectivo aproveitamento da biomassa, atualmente, restringem, sobremaneira, a gama de espécies que apresentam de fato este perfil. É importante salientar que já há alguma estruturação ou estão sendo pensadas alternativas para o desenvolvimento pleno da cadeia produtiva básica, para que então, a partir daí, sejam estabelecidas plataformas com processos e possíveis produtos.

As tecnologias para desconstrução e conversão da biomassa ainda são incipientes ou não estão otimizadas. E não existem políticas públicas fomentadoras de investimentos privados necessários para alavancar o setor. A biorrefinaria representa uma abordagem inovadora na gestão ambiental, os resíduos que muitas vezes são descartados tornam-se recursos valiosos usados na produção de bioprodutos de alto valor agregado e biocombustíveis (STRAZZERA et al., 2018).

A composição química da biomassa é formada por elementos como o nitrogênio, oxigênio, carbono e hidrogênio, e também agrega valores menores de enxofre e de espécies inorgânicas. No entanto, os componentes químicos agregam valor às cadeias produtivas de biomassa, que são planejadas estrategicamente para minimizar a utilização de insumos na elaboração de produtos essenciais, como é o caso dos biocombustíveis, dos medicamentos, dos cosméticos, dos produtos usados construção civil e no agronegócio, entre outros (BORGES, 2014; OLIVEIRA, 2011).

Ao serem conhecidas às propriedades químicas e físicas da biomassa, podemos fazer uso desta matéria-prima para conversão em energia e produção de bioprodutos para os mais variados fins (EPE, 2011).

2.4 Estudo do aproveitamento de macrófitas

Vasto é o potencial que podemos encontrar nas macrófitas aquáticas e apesar da riqueza de espécies existente, há um déficit de estudos com relação

a composição química ou propriedades biológicas destas plantas. No Brasil muitas espécies vêm sendo estudadas e as relações entre os vegetais e outros elementos da natureza contribuem para esclarecer a importância das plantas no desenvolvimento produtos de interesse social, ambiental e econômico. Neste aspecto, as macrófitas vem sendo campo de estudos a fim de definir a sua importância ecológica na preservação dos recursos naturais (THOMAZ; BINI, 2003).

Atualmente, o uso indiscriminado destes recursos vem causando prejuízos cada vez maiores ao planeta e, por sua essencialidade a vida, a água é um dos elementos naturais mais agredidos. Os níveis elevados de poluição nos reservatórios de água fez com que muitas empresas comesçassem a se preocupar em tratar seus rejeitos e, uma das alternativas encontradas para esse tratamento é o aproveitamento de macrófitas (OLIVEIRA, 2010).

O aproveitamento das macrófitas no tratamento de efluentes, de acordo com Oliveira (2010), é um dos tipos de cuidado que se deve ter para manter o ambiente aquático livre da poluição, pois esse tipo de planta contribui com a manutenção da água.

Algumas espécies de macrófitas flutuantes tem demonstrado eficiência no tratamento de efluentes, respondendo de forma mais eficaz na remoção de nutrientes se comparada às enraizadas, pois estas atuam no sedimento ao passo que as flutuantes retiram nutrientes diretamente da coluna d'água (SHIMODA, 1984; MOHEDANO, 2004).

Segundo Schneider e Rubio (2003) as macrófitas se apresentam como absorventes naturais e contribuem para o controle da poluição da água. A biomassa produzida nas lagoas de estabilização podem servir como fonte para extração de lipídios, para a geração de biodiesel, obtenção de bioetanol por fermentação e produção de biogás a partir da sua digestão, entre outros. Além das diferentes formas de se obter energia, também pode-se recuperar essa matéria-prima para gerar fertilizantes/adubos e também servir de alimentos para animais, sendo consumida diretamente ou incorporada nas rações (CRAGGS et al.; OLIVEIRA, 2011).

O processamento e manejo das macrófitas em biodigestores, segundo Silva (2005), colaboram na produção de gases. Mishima et al. (2007), em seus estudos, comprovaram que estas plantas podem ser utilizadas na produção de

etanol. Bergier (2008) comprovou a possibilidade de se produzir biofertilizantes, papel, bio-óleo e energia térmica a partir da utilização desta matéria-prima. Os estudos realizados por Tavares e Santos (2013) conduziram para a comprovação da produção de biocombustíveis sólidos.

As justificativas para a necessidade atual do aumento do número de estudos podem ser resumidas considerando-se que existe uma grande quantidade de ecossistemas que abrigam várias espécies de macrófitas aquáticas, que estas desempenham diferentes funções ecológicas, que se constituem em um grupo de organismos especialmente adequados, devido à alta biodiversidade e ao rápido crescimento, para o teste de hipóteses ecológicas e para estudos experimentais (BERGIER, 2008).

A modelagem do crescimento do aguapé (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) e remoção de nutrientes em associação com a criação de peixes, por exemplo, permite a identificação do nível sustentável de colheita da biomassa excedente de macrófitas, podendo ser uma fonte de matéria prima (BERGIER, 2012).

Outro estudo, desenvolvido por Henry-Silva e Camargo (2006), visou avaliar o valor nutritivo das macrófitas aquáticas flutuantes *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae), *Pistia stratiotes* (L.) (Araceae) e *Salvinia molesta* (Mitchell) (Salviniaceae) em um sistema de tratamento de efluentes de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e inferir sobre o potencial de aproveitamento da biomassa dessas espécies.

Em amostras de biomassa vegetal foram determinados os teores de fração de parede celular, carboidratos solúveis, polifenóis, lipídios, proteína bruta e fósforo total. O maior valor nutritivo foi observado na parte aérea de *E. crassipes* e *S. molesta* e na biomassa total de *P. stratiotes* devido aos menores valores médios de fração de parede celular (60,7; 64,2 e 56,9 % PS, respectivamente) e aos teores mais elevados de proteína bruta (10,1; 9,1 e 8,8% PS, respectivamente), carboidratos solúveis (26,16; 18,7 e 12,4 mg.g⁻¹ PS, respectivamente) e lipídios (7,6; 4,5 e 4,4 % PS, respectivamente). O estudo concluiu que a biomassa total de *P. stratiotes* e a biomassa aérea de *E. crassipes* e *S. molesta* têm valor nutritivo, com potencial para uso na alimentação de ruminantes ou na formulação de rações (HENRY-SILVA & CAMARGO, 2006).

Neste sentido, outro estudo aponta para o potencial da espécie *Alternanthera philoxeroides* (Bredo-d'água) como fonte de proteína vegetal negligenciada, magnésio, manganês, zinco, enxofre e boro. Serve de forrageira para o gado e outros animais, as folhas podem ser usadas no preparo de ração e, dependendo do ambiente onde forem cultivadas, podem ser consumidas como verdura ou preparo de bolos, pães, suflês etc. (LIBERATO; LIMA; SILVA, 2019).

Outro exemplo, temos a espécie *Pistia stratiotes* que é utilizada na medicina popular como antisséptico e antituberculosa. O extrato é usado com o um anódino para lavagem dos olhos e para aliviar as dores de ouvido. Suas cinzas são aplicadas no couro cabeludo para tratamento e cura de micose; já extrato da folha é usado em eczemas, lepras, úlceras e sífilis, como também o cozimento das folhas com óleo de coco é aplicado à pele para o tratamento da dermatite crônica (KIRTIKAR; BASU, 2001). A mistura das folhas é utilizada para aliviar distúrbios nervosos, febre e infecções bacterianas intestinais e no tratamento da perturbação do estômago, garganta e inflamação da boca (MUKHTAR & TUKUR, 2000).

Dentre outros usos para macrófitas, podem ser citados: a utilização como organismo bioindicador de poluição por cromo, bioindicadora em estudos ecotoxicológicos dos herbicidas à base de *Glyphosate* e *Oxyfluorfen* e uso da biomassa seca como absorvente natural para o controle da poluição da água (HENRY-SILVA; CAMARGO, 2008; PEREIRA et al., 2012; SILVA et al., 2012).

Esses estudos evidenciam que há um grande potencial no uso das macrófitas como fonte para obter-se produtos que venham beneficiar a sociedade de alguma forma e combater os danos ambientais que podem ser desenvolvidos, o que torna o assunto um promissor meio de pesquisas químicas e biológicas, ainda mais se considerarmos o fato de que apesar de haver um grande número de espécies de macrófitas aquáticas, muitos gêneros não apresentam qualquer descrição da composição química ou propriedades biológicas de seus compostos (MORAES, 2018).

2.5 Óleos fixos

Nas últimas décadas, as pesquisas relativas a substâncias bioativas, têm aumentado consideravelmente. O Brasil, em toda a sua extensão, apresenta uma flora bastante diversificada, com vegetações de diferentes características e muitos princípios ativos ainda desconhecidos (COSTA et al., 2015; GADELHA et al., 2013; SILVA et al., 2017).

Muitas plantas produzem metabólitos secundários, como os óleos fixos, por exemplo, que podem apresentar as mais variadas funções, tais como, atividade antibacteriana, antifúngica, antioxidante, dentre outras, estas atribuídas principalmente aos ácidos graxos, que são seus constituintes principais (DE SOUZA, 2017).

Segundo Costa et al. (2015), os óleos fixos podem ser encontrados nos seres vivos, desde plantas a animais, servindo como fonte de energia ao acumularem nutrientes. Por essa e outras razões, essas substâncias são consideradas produtos importantes, apresentando grande potencial para fins farmacológicos, industriais e nutricionais.

Os óleos fixos são misturas de substâncias lipídicas, geralmente proveniente de sementes, pouco estáveis na presença de luz, calor e ar, além de pouco solúveis em água e sendo substâncias não voláteis. Para alguns autores, esses óleos podem ser entendidos como sendo uma mistura de substâncias lipídicas, composta, predominantemente, por triacilgliceróis, que contêm ácidos graxos monocarboxílicos ou dicarboxílicos, de cadeia alifática e esterificados nas três posições hidroxila da molécula de glicerol (COSTA et al., 2015; SOUZA; MELLO; LOPES, 2011).

Segundo Robbers (1997), os ácidos graxos podem ser liberados por meio da hidrólise de gorduras e óleos naturais, apresentando uma cadeia de carbono não ramificada de número par e podendo ser classificados como saturados (geralmente sólidos à temperatura ambiente), a exemplo do ácido láurico e do ácido esteárico, ou insaturados (líquidos à temperatura ambiente), como os ácidos oleico, linoleico e linolênico. Juntos, eles totalizam quase toda a quantidade de óleos fixos e gorduras existentes no comércio.

Os ácidos graxos insaturados, por sua vez, são classificados como monoinsaturados a exemplo do ácido oleico (ômega 9) e os poli-insaturados,

como os ácidos linoleico (ômega 6) e linolênico (ômega 3) (FERREIRA et al., 2012). A presença destes compostos em óleos fixos constituintes de preparações farmacêuticas, destinadas ao uso tópico para tratamento de feridas, é fundamental não somente do ponto de vista terapêutico, como também farmacotécnico (MANHEZI; BACHION; PEREIRA, 2008).

O ácido linoleico acelera o processo de cicatrização, enquanto que o ácido linolênico age como modulador da membrana celular protegendo a lesão e agindo como imunógeno local e também como um importante agente restaurador tecidual, por promover quimiotaxia e angiogênese (FERREIRA, et al., 2012)

No caso das plantas, em particular, essas substâncias lipídicas são normalmente obtidas a partir de sementes, como é o caso do óleo de soja, por exemplo, ou da polpa dos frutos, como o azeite de oliva, sendo que os métodos de extração desses óleos variam, podendo se dar por prensagem forte e a frio ou por meio de extração com solvente (COSTA et al., 2015).

A exemplo de óleos fixos cita-se o óleo de girassol, produzido industrialmente a partir das sementes da espécie *Helianthus annus* L., rico em ácido linoleico e tocoferol (vitamina E), possuindo propriedades antioxidantes e protegendo a membrana celular do ataque dos radicais livres (TOPAN, 2012). O azeite de oliva, obtido do fruto da oliveira (*Olea europaea* L.), rico em ácido oleico, apresentando efeitos moduladores em muitas funções fisiológicas, ao passo que alguns estudos sugerem também um efeito benéfico sobre doenças autoimunes e inflamatórias, além da sua capacidade para facilitar a cicatrização de feridas (SALES et al., 2013). E o óleo de soja, obtido por prensagem mecânica e/ou extração por solvente dos grãos de soja (*Glycine max.* L) sendo este excelente fonte de ácido linoleico (45 a 60%), ácido linolênico (3,5 a 8%) e ácido oleico (19 a 30%) (AMARAL; JAIGOBIND; JAIGOBIND, 2006).

Por fim, vale salientar que existem alguns índices e reações características, que ajudam a identificar e avaliar a maioria dos óleos e gorduras, como por exemplo, o índice de acidez, que revela o estado de conservação do óleo (MACHADO et al., 2006), o teor de água, que está relacionado com a durabilidade do material (VIEIRA, 1994), o índice de saponificação, que demonstra a proporção de ácidos graxos de baixo peso molecular (MORETTO et al., 1998) e o índice de refração, que é um parâmetro importante na

comparação da massa molar média entre diferentes óleos (MENDES et al., 1999).

No entanto, pouco conhecimento se tem à respeito da aplicação de óleos fixos oriundos de vegetais e suas possíveis aplicações, havendo a necessidade de maiores estudos, quanto à sua composição química, toxicidade e utilização (BETTIOL; MORANDI, 2009; DIAS, 2019).

2.6 Atividade antioxidante

A oxidação é parte fundamental do nosso metabolismo. A atividade metabólica envolve diversas reações oxidativas responsáveis, em parte, pela formação de espécies reativas, como os radicais livres, que tiveram um importante papel na origem da vida e para a evolução biológica, podendo estar envolvidas na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas importantes (BARREIROS & DAVID, 2006).

No entanto, estas moléculas também podem ser responsáveis por causar danos nos tecidos e promover o processo de envelhecimento, além disso, contribuem para o aparecimento de diversas doenças inflamatórias e cardiovasculares, além de vários tipos de cancro (VALKO et al., 2007; SINGH, 2008; ULLAH, 2016).

O princípio da teoria dos radicais livres nos sistemas biológicos ocorreu no ano de 1956, sendo proposto que estes compostos desempenhavam um papel importante no processo de envelhecimento. Porém, em 1954, já se havia mencionado a toxicidade das formas de oxigênio parcialmente reduzidas (GERSHMAN et al., 1954; HARMAN, 1956; VALKO et al., 2007).

Estas moléculas, coletivamente conhecidas como espécies reativas de oxigênio, caracterizam-se pela sua reatividade e por serem capazes de receber ou doar elétrons, pois têm um elétron de valência desemparelhado. Desta forma, reagem com moléculas estáveis, retirando elétrons e iniciando reações em cadeia (SHALABY, 2013; TANGVARASITTICHA, 2015).

Continuamente, os radicais livres são formados a partir de reações de oxido-redução, majoritariamente na respiração aeróbia, mas também em algumas reações inflamatórias e imunes mediadas por células. A exemplo,

podemos citar os radicais livres ânion superóxido (O_2^-), radicais hidroxilo ($OH\cdot$) e espécies não radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio singlete (1O_2) (UTTARA et al., 2009; TOHMA, 2010).

Tratam-se de espécies que, em baixas a moderadas concentrações, desempenham importantes funções biológicas, como o relaxamento do músculo liso, metabolismo de xenobióticos e na resposta imune. No entanto, em elevadas concentrações, são também capazes de induzir reações em cadeia a nível celular, acarretando em alterações na estrutura de biomoléculas importantes, como os hidratos de carbono, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos (BASHAN, 2009; UTTARA et al., 2009; TOHMA, 2010; PERRONE et al., 2018).

Altas concentrações de radicais livres podem ultrapassar as defesas antioxidantes das células, produzindo uma situação denominada de “*stress oxidativo*”, que é caracterizado por uma série de reações metabólicas envolvendo o oxigênio, que promove um desequilíbrio celular *redox* entre pro-oxidantes/antioxidantes e está envolvido, direta ou indiretamente, no desenvolvimento e progressão de diversas doenças crônicas e degenerativas de causas multifatoriais, como a aterosclerose, diabetes, doença de Alzheimer, enfarte agudo do miocárdio, choque séptico e doenças inflamatórias, seja por mutações nos ácidos nucleicos, oxidação proteica ou peroxidação lipídica (TOHMA, 2010; VALKO et al., 2007).

No entanto a progressão dessas doenças pode ser retardada pela minimização deste desequilíbrio responsável pela produção destas espécies. É neste sentido que os antioxidantes têm um relevante papel, pois mantêm os níveis de radicais livres baixos evitando que ocorra este desequilíbrio dinâmico (SINGH, 2008).

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos levou ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir ou amenizar a indução de danos. Os antioxidantes são os agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células (BOOTS, 2008).

Estes compostos atuam através de três possíveis mecanismos, sendo eles:

- a) captura direta de espécies reativas, via captura de elétrons e transferência do radical hidrogênio;

- b) neutralização através de reações *redox*;
- c) através da oxidação de substratos (ISLAM et al., 2018).

De acordo com a definição de Halliwell & Gutteridge (1989), os "antioxidantes são substâncias que, mesmo presentes em baixas concentrações, relativamente a um substrato oxidável, inibem ou previnem significativamente a oxidação desse mesmo substrato".

Neste sentido, o organismo dispõe de um sistema antioxidante integrado que engloba componentes de várias naturezas, obtendo outros compostos através da dieta. Estes compostos complementam-se sinergicamente na sua função, podendo dividir-se em dois grandes grupos em função da natureza química: enzimáticos e não enzimáticos (ou de baixo peso molecular). Os primeiros incluem proteínas como a catalase, a glutathione peroxidase e o superóxido dismutase, que reagem com as espécies reativas, sendo recicladas em seguida, ou seja, são enzimas que removem/inativam os radicais livres. Já os não enzimáticos incluem grandes moléculas, minerais, moléculas hidrossolúveis, moléculas lipossolúveis e compostos fenólicos (SHALABY, 2013).

Os antioxidantes também podem ser classificados em função da sua origem como endógenos ou exógenos (naturais ou sintéticos). Os antioxidantes enzimáticos são os principais com origem endógena, responsáveis por metabolizar e eliminar intermediários tóxicos. Já os de origem exógena são maioritariamente obtidos da dieta e incluem as vitaminas C e E, carotenoides e os compostos fenólicos. Adicionalmente, em função do seu mecanismo de ação, classificam-se ainda em primários, se são capazes de doar átomos de hidrogênio ao radical tornando-o estável, secundários, se reagem com os radicais iniciadores da reação, e co-antioxidantes, se atuam em sinergismo (SHALABY, 2013; UTTARA et al., 2009).

Estes compostos eliminam os radicais livres através de diversos mecanismos e a vários níveis, seja por atuarem como substrato para oxidação (finalizando assim as reações oxidativas em cadeia, ao converter estas espécies em substâncias mais estáveis e, em princípio, inofensivas ao organismo), promoverem a captura dos radicais livres ou formarem quelatos com os metais. Além disso, demonstram em maior ou menor extensão atividades anti-

inflamatórias, antiateroscleróticas, antitumorais, antibacterianas e antivirais (TERPINC et al., 2012).

Cada tipo de antioxidante tem a sua atividade própria, num dado compartimento celular e produtos específicos, daí a necessidade da enorme variedade de antioxidantes. A potência antioxidante depende da estrutura da molécula, tamanho dos grupos funcionais presentes e sua localização (LORDÊLO et al., 2010).

O uso de antioxidantes de origem natural vem desde a antiguidade, ainda que de forma empírica, no entanto atualmente têm aumentado o interesse pela descoberta de novos antioxidantes desta origem, nomeadamente pelos que são isolados de plantas, com o intuito de sintetizar novos compostos mais seguros ou aperfeiçoar os já existentes (BOOTS, 2008; DJERIDANE et al., 2006; GHAREEB et al., 2014; TOHMA, 2010).

Além disso têm sido apresentadas evidências científicas que comprovam os benefícios dos antioxidantes para a saúde, especialmente na prevenção de várias doenças humanas, onde está implicado o *stress* oxidativo (GHAREEB et al., 2014; TERPINC et al., 2012).

2.7 Compostos fenólicos

Entre os grupos de metabólitos secundários, os compostos fenólicos constituem o mais numeroso e amplamente distribuído deles, sendo os compostos naturais mais presentes nas plantas, com mais de 8000 identificações diferentes (DAI; MUMPER, 2010).

Os compostos fenólicos apresentam uma gama de efeitos biológicos, podendo atuar como pigmentos, substâncias sinalizadoras, constituintes da parede celular, antimicrobianos, protetores contra radiação ultravioleta, além de apresentarem efeitos alelopáticos, influenciarem no transporte de auxinas e modularem os níveis de espécies reativas de oxigênio (FRANCO et al., 2016).

Estes compostos podem atuar como inibidores em vários processos do desenvolvimento. Em nível celular, influenciam o metabolismo de lipídios e o mecanismo bioquímico da respiração, inibindo o transporte de glicose e a síntese de celulose. No organismo humano desempenham uma série de atividades biológicas, como anti-alérgicas, anti-aterogénicas, anti-inflamatórias,

antimicrobianas, antitrombóticas, vasodilatadoras e cardioprotetoras. Todas estas atividades retardam o envelhecimento celular (DEWICK, 2009; LORDÊLO et al., 2010).

Estes fitoquímicos englobam uma categoria diversificada de compostos que incluem uma grande diversidade de estruturas derivadas da fenilalanina e da tirosina e caracterizadas pelo seu anel aromático, com um ou mais substituintes hidroxilos, incluindo os seus grupos funcionais. Estes compostos bioativos, de origem vegetal, atuam como doadores de átomos de hidrogênio, dado as suas capacidades redutoras, quelantes de metais ou de captura de radicais, sendo estas atividades que caracterizam estes compostos. Podem dividir-se em duas grandes classes: flavonoides (antocianinas, flavonóis e isoflavonas, entre outros) e não flavonoides (ácidos fenólicos e derivados) (BOOTS, 2008; DEWICK, 2009).

O termo “fenólicos” engloba um grupo superabundante e diversificado de compostos químicos, que são subdivididos de acordo com o número de subunidades de fenol presentes na molécula, classificados entre polifenóis e fenóis simples (ácidos fenólicos) (GIADA, 2013).

Os flavonoides são compostos polifenólicos, solúveis em água, de baixo peso molecular e estão entre as moléculas antioxidantes mais eficientes e mais abundantes nas plantas, sendo potenciais compostos para serem usados na terapia antioxidante, além de estarem também presentes em alguns suplementos alimentares e medicamentos à base de plantas (BOOTS, 2008; DEWICK, 2009).

Já os ácidos fenólicos (não flavonoides) estão reunidos em dois grupos, a saber: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzoico. Estes ácidos existem nas plantas, usualmente na forma de ésteres e atuam induzindo o aumento da atividade de enzimas oxidativas, causando assim, a modificação na permeabilidade da membrana por despolarização, alterando o fluxo e a retenção de íons, além de promover a formação de lignina, contribuindo para a redução do crescimento radicular, sendo que, a ação conjunta de vários ácidos fenólicos podem causar grandes danos a planta, potencializando o efeito alelopático (BUBNA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2011; ROLIM et al., 2013).

Os taninos, flavonoides e ácidos fenólicos são os compostos com atividade alelopática mais encontrados em extratos de espécies vegetais (SEKOWSKI et al., 2014). Os taninos formam complexos irreversíveis com proteínas, podendo inibir processos enzimáticos. Estudos demonstram que estas substâncias interagem com sistemas biológicos como vírus e bactérias e participam de reações enzimáticas, além de serem antioxidantes, podendo estar relacionadas com o processo de inibição de germinação e crescimento de plantas (DANTAS et al., 2008).

Sabe-se que, o fenômeno da alelopatia está envolvido em várias interações bioquímicas entre as plantas. Estas interações das plantas com seu ambiente são em grande parte influenciadas pelos compostos fenólicos, os quais são os principais compostos alelopáticos que inibem a germinação de sementes, o crescimento de plantas e outros processos fisiológicos (FUJII; HIRADATE, 2007).

No entanto, os compostos de natureza fenólica têm se destacado por duas razões: sua abundante distribuição nas plantas e suas propriedades biológicas, como a elevada capacidade de capturar e reduzir radicais livres (GHAREEB et al., 2014; LIZCANO et al., 2009).

Dentre as várias funções fisiológicas que os compostos fenólicos exercem nas células vegetais, a mais significativa é a ação antioxidante, seja pela supressão do oxigênio singlete, de radicais livres nas células ou ativação de enzimas antioxidantes. Esta ação se deve, principalmente, às suas propriedades de oxido-redução, doando hidrogênios dos grupos hidroxila posicionados ao longo do anel benzênico e desempenhando um papel significativo na absorção e neutralização de radicais livres, a fim de impedir a oxidação de lipídeos e outras biomoléculas (SHETTY; WAHLQVIST, 2004; TSAO, 2010).

A comunidade científica tem se concentrado na extração de compostos fenólicos principalmente de folhas de diversas fontes vegetais (SANTOS-GOMES et al, 2003; ALARA et al, 2018; SUMERE et al, 2018; IRAKLI et al, 2018) Entretanto, outros estudos concentram-se em estudar as propriedades bioativas dos extratos, como atividade antioxidante (RADOJKOVIĆ et al, 2016; SÁNCHEZ-SALCEDO et al, 2015), atividade antimicrobiana (HUSSAIN et al, 2010; KOZŁOWSKA et al, 2015; ONITSUKA et al, 2019) e ação citotóxica (KOCKA et al, 2018; FIGUEREDO et al, 2018).

Os compostos bioativos de natureza fenólica têm sido o ponto central de pesquisas acerca de novos compostos e bioprodutos para retardar ou impedir a oxidação de substratos intracelulares (ESCOTÉ et al, 2012; LEÓN-GONZÁLEZ et al, 2014).

Estes fatos corroboram para a valorização do material vegetal, uma vez que indicam expressamente a bioatividade intrínseca, reforçando o desenvolvimento de produtos oriundos dessa matéria prima como chás, bebidas fortificadas e fitoquímicos (NAM; JANG; SHIBAMOTO, 2012).

2.8 Atividade antifúngica

A busca por novas estratégias de controle de doenças de plantas que sejam ambientalmente e socialmente corretas, principalmente no contexto agroecológico, tem impulsionado estudos a procura de métodos alternativos eficientes para o controle de fitopatógenos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2017).

A utilização de extratos de plantas tem sido bastante estudada como método alternativo, proporcionando avanços significativos, na agricultura sustentável, por exemplo. Compostos secundários presentes em plantas podem desempenhar funções importantes em interações planta/patógeno, através da ação antimicrobiana direta ou ativando mecanismos de defesa de outras plantas que venham a ser tratadas com esses compostos (FREITAS, 2008; SCHWAN-ESTRADA, 2003).

Produtos obtidos através de extrato de plantas, são relativamente simples de serem preparados e podem constituir em mais uma opção para controle de vários agentes indesejáveis. Trabalhos desenvolvidos com extratos obtidos a partir de plantas são indicados no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de mecanismos de defesa da planta, fazendo com que ela apresente autodefesa (CATI-D, 2015; ROMEIRO, 2008; SCHWAN-ESTRADA et al., 2005).

Atualmente, a crescente exigência por produtos vegetais de qualidade, livres de resíduos químicos acima do exigido nas leis de diversos países, incentiva a busca por substâncias alternativas, de baixa toxicidade ao ser humano e também de baixo impacto ambiental. Nesse sentido, o uso de extratos

de plantas apresenta potencial de controle de fitopatógenos (CARVALHO et al., 2008).

Fungicidas químicos têm sido largamente empregados como forma principal de controle das doenças pós-colheita provocadas por fungos, como, por exemplo, a antracnose causada por fungos do gênero *Colletotrichum* sp. em várias plantas (AGROFIT, 2020).

O uso desses fungicidas em frutos colhidos tem sido amplamente contestado por conta dos problemas relacionados à forte toxicidade residual, que acaba causando danos ao ambiente e ao desenvolvimento de pragas resistentes, além de causarem danos sérios a saúde humana pela exposição direta e prolongada aos compostos (LUNDSTRÖM et al., 2017).

Estudos demonstram, inclusive, que alguns desses compostos, como os carbamatos, são capazes de causar danos no sistema nervoso de organismos aquáticos por afetar a atividade de enzimas necessárias ao metabolismo. Esses compostos, apesar de serem utilizados em lavouras no controle de pragas, apresentam alto risco ecológico, pois podem levar a contaminação do ambiente aquático (MAPA, 2020; WANG et al., 2015).

Os efeitos indesejáveis provocados pelos fungicidas químicos tornam imperativo a busca por novas alternativas para o combate de doenças, visando reduzir perdas, e, ao mesmo tempo, promover segurança ao ambiente e a saúde humana (AHMADU et al., 2020).

Extratos vegetais aparecem, então, como uma alternativa promissora para o controle de patógenos, minimizando os impactos ambientais e demais danos à saúde (MOHAMED; EL-HADIDY, 2008; MARTINS; SIQUEIRA-JUNIOR, 2017).

Várias espécies de plantas vêm sendo descritas por apresentarem potencial antimicrobiano, e essa propriedade se deve ao fato de as plantas produzirem substâncias naturais que são tóxicas a alguns micro-organismos, como fungos causadores de doenças em plantas (ADEME et al., 2013; NAZ; BANO, 2013; ROSADO-ÁLVAREZ et al., 2014; AHMADU et al., 2020).

CAPITULO 1 – Extração de óleos fixos de seis espécies de macrófitas aquáticas encontradas na Lagoa de Estabilização do município de Pelotas, RS

1 Introdução

As macrófitas aquáticas são plantas superiores de tamanho macroscópico presentes em ambientes aquáticos e de grande importância por sua contribuição no funcionamento de um ecossistema. Essas plantas são largamente utilizadas como bioindicadoras da qualidade da água de ambientes lênticos e lóticos e desempenham um papel muito importante na acumulação de elementos metálicos (SÃO PAULO, 2011).

Os nutrientes mais importantes para as macrófitas são o nitrogênio e o fósforo, sendo estes encontrados em grandes quantidades em esgotos domésticos. Desta forma, ambientes aquáticos que tiverem a presença destes nutrientes e de luz solar, se tornam um local de fácil proliferação para estas plantas, uma vez que se caracteriza um ambiente propício para sua reprodução (SANTOS et al., 2020).

As Lagoas de estabilização, por sua vez, são bons exemplos de ambientes propícios para o desenvolvimento de macrofitas, sendo o sistema mais usual de tratamento de águas residuárias no Brasil, já que este se configura um país com elevadas temperaturas e grandes áreas disponíveis. Além deste sistema apresentar um baixo custo de manutenção, é projetado principalmente para remoção de matéria orgânica, sendo que, o processo de tratamento consiste na retenção do esgoto por um longo período, tempo este suficiente para que os processos naturais de estabilização da matéria orgânica se desenvolvam (VON SPERLING, 1996).

Os óleos fixos e as gorduras, por sua vez, podem ser obtidos de plantas ou de animais. Sua principal função é armazenar nutrientes (energia). Os óleos fixos e as gorduras são produtos importantes, usados com fins farmacológicos, industriais e nutricionais. Os óleos fixos e as gorduras diferem apenas no ponto de fusão; aqueles que em temperatura ambiente, são líquidos

recebem o nome de óleos fixos. Quimicamente os óleos fixos são compostos predominantemente por triacilgliceróis, que têm ácidos graxos diferentes ou idênticos, esterificados nas três posições hidroxila da molécula de glicerol (ROBBERS et al., 1997).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi determinar o percentual de óleo fixo encontrado a partir da matéria-prima (biomassa seca) de seis espécies de macrófitas encontradas na Lagoa de Estabilização no município de Pelotas/RS.

2 Materiais e métodos

2.1 Coleta das macrófitas

A biomassa utilizada foi proveniente da Estação de Tratamento de Esgoto Lagoa de Estabilização (Lat.: 31°45'5.50"S; Long.:52°21'39.18"O), que integra parte do sistema de tratamento de esgoto do município de Pelotas – RS (Figura 2).



Figura 2 - Foto da Lagoa de Estabilização localizada no município de Pelotas, RS.

A linha branca demarca a área total da lagoa (4 hectares) e os marcadores amarelos indicam os locais de entrada e saída do efluente.

Fonte: Google Earth Pro (2022).

As macrófitas foram coletadas diretamente da lagoa de estabilização, em sacos plásticos, lavadas e transportadas em bandejas para secagem em estufa no laboratório.

2.2 Preparo das amostras

Foram feitas exsiccatas das espécies coletadas para identificação, de acordo com a literatura específica. As mesmas serão depositadas na coleção do Herbário PEL, com código de registro.

A biomassa foi mantida em estufa com circulação e renovação de ar, a 35°C por 24 horas ou mais, até umidade constante e, após a secagem, as exsiccatas foram acomodadas em local seco e arejado e o material destinado à extração dos óleos foi triturado em moinho de facas e armazenado em local refrigerado.

2.3 Extração do óleo fixo

O material vegetal foi extraído com 300 mL do solvente hexano usando o aparelho Soxhlet por um período de 6 horas, a uma temperatura não excedendo o ponto de ebulição do solvente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010) com modificação no tempo da extração. O solvente foi evaporado em aparelho Rotaevaporador (*Laborata 4002- Control*) e, posteriormente, os óleos fixos foram armazenados em frascos hermeticamente fechados e conservados a -4°C até posteriores análises.

2.4 Análise estatística

Para determinar se existe diferença significativa entre os dados encontrados para os rendimentos dos óleos, foi realizada a análise da variância (ANOVA), por meio do teste-F de comparação de médias e teste de Tukey, quanto a existência ou não de diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios. As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando probabilidade de erro de 5% com auxílio do software Statistica 7.0.

3 Resultados e discussão

3.1 Identificação das espécies

Conforme mostra a Tabela 1, a análise das amostras coletadas *in natura*, na área de estudo, resultou em seis (06) identificações botânicas, correspondendo a seis (06) espécies, pertencentes a seis (06) gêneros de cinco (05) famílias. O material foi revisado por um profissional especializado em botânica e o documento confirmando as espécies pode ser visto no Anexo A.

Tabela 1 – Espécies de macrófitas aquáticas encontradas e identificadas na Lagoa de Estabilização do município de Pelotas, RS.

Espécie	Família
<i>Enydra anagallis</i> Gardner	Asteraceae
<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	Amaranthaceae
<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs	Poaceae
<i>Typha domingensis</i> Pers.	Thyphaceae
<i>Heteranthera reniformis</i> Ruiz & Pav.	Pontederiaceae
<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	Pontederiaceae

Fonte: Autor (2021).

3.2 Descrição das espécies

A descrição das espécies avaliadas neste estudo conta com uma breve revisão bibliográfica, enaltecendo alguns aspectos mais relevantes de cada uma, como nomes populares, local de origem, características morfológicas, entre outros.

3.2.1 *Enydra anagallis* Gardner.

Conhecida popularmente como enidra (Figura 3), é uma planta anfíbia, emergente, flutuante fixa ou submersa, nativa do sul do Brasil, sendo que a sua distribuição se estende a outros países da América do Sul, como Argentina e Paraguai (MODIN, 2013).



Figura 3 - Foto da espécie *Enydra anagallis* Gardner.

Fonte: Autor (2022).

É uma espécie herbácea, perene, infestante de áreas inundadas, sendo uma espécie forrageira, podendo formar densa cobertura sobre a superfície da água, servindo de abrigo para outros organismos aquáticos. A floração e frutificação ocorrem no verão (TRINDADE, 2010).

Algumas características da espécie incluem caule rastejante prostrado, fistulosos, como ramos de superfície cerosa, hidrofóbicos. Folhas simples, opostas cruzadas e sésseis. Lâmina foliar com 2-3,5x0,5-1 cm, cartácea e glabra, com ápice arredondado, base truncada e margem denteada, principalmente no ápice. Capítulos sésseis, axilares, com dois pares cruzados de brácteas, ovais com cloração verde-clara, com flósculos brancos e aquênios sem papilho (RODRIGUES, 2011).

3.2.2 *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.

Planta perene, submersa, emergente e/ou anfíbia, cujos nomes populares variam, podendo ser conhecida como perna-de-saracura, erva-de-jacaré, bredod'água entre outros (Figura 4). Originária da América do Sul é uma espécie aquática emersa enraizada, seletiva higrófita e heliófita, podendo ser encontrada em diferentes ecossistemas, desde locais mais secos, como dunas, a ambientes semiaquáticos e aquáticos, sendo infestantes de várzeas úmidas, áreas alagadas e tolerando águas salobras. Cresce inicialmente a partir das margens, podendo, parte do vegetal, desprender-se e flutuar (GAO et al., 2007).



Figura 4 - Foto da espécie *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.

Fonte: Autor (2022).

Espécie muitas vezes provida de caule roxo, oco, alcançando comumente 1 m de altura. Sua floração ocorre de dezembro até abril. As folhas são verde-escuras, elípticas, glabras, com filotaxia oposta e lâmina foliar de 3,5-7,1x0,5-2 cm. As inflorescências são brancas, terminais e axilares de 1,4-1,7 cm de diâmetro (ANDERSON et al., 2016).

Produz grande quantidade de biomassa, chegando a comprometer o fluxo de água em canais. As folhas e caules são alimento para pequenos herbívoros, sendo utilizada como forrageira para o gado. Esta espécie é considerada uma

erva daninha agressiva, em muitas partes do mundo, devido a sua habilidade de competir com outras plantas nativas e tem se tornado uma ameaça séria para ecossistemas aquáticos (POMELLA, 2007).

3.2.3 *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs

Conhecida popularmente como capim-colonião ou capim-mombaca, é uma gramínea exótica invasora no Brasil, originária da África, onde ocupa ambientes com solos recém desmatados e pastagens (Figura 5). Apresenta tolerância ao sombreamento, elevada capacidade competitiva, alta produtividade e grande capacidade reprodutiva, associada a grande longevidade das sementes (CASTRO et al., 2001).



Figura 5 - Foto da espécie *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B. K. Simon & S. W. L. Jacobs.

Fonte: Autor (2022).

É uma espécie herbácea, perene, podendo atingir de 1,5-3 m de altura. Apresenta folhas que oscilam entre glabras a pilosas, como lâmina foliar variando entre 30-60 cm de comprimento. Panícula laxa, entre 25-70 cm comprimento, ramos inferiores verticilados e espiguetas variando entre 3-4 mm de comprimento (ROCHA, 2012).

Chegou ao Brasil no período da escravidão por volta de 1820, trazida em navios negreiros com a utilidade de acomodar os escravos durante a viagem de travessia do Oceano Atlântico. Mais tarde, foi disseminada e aproveitada com o intuito de servir de alimento para os animais, ocupando o segundo lugar em área de pastagens cultivadas no país, ficando atrás apenas das gramíneas do gênero *Brachiaria* (NASCIMENTO, 2014).

Contudo, a espécie se tornou um importante infestante do território brasileiro, sendo considerada em muitos casos como planta invasora, formando densas populações que dificultam o recrutamento e estabelecimento de outras espécies (FERREIRA; MAIA-BARBOSA, 2014).

3.2.4 *Typha domingensis* Pers.

No Brasil, é popularmente conhecida como taboa e exibe diversos sinônimos como erva-de-esteira, paude-lagoa, paineira-do-brejo e paina-de-flecha. Nativa da América do Sul, cresce em climas frios, temperados e tropicais (Figura 6). Os rizomas da espécie apresentam potencial nutricional semelhante ao do milho e da batata, em função disso, é utilizada no forrageio animal. Outras utilizações incluem o seu uso como fonte de matéria prima para a obtenção de celulose, uso no artesanato, além de servir de abrigo e alimento para roedores e ambiente de ninho para aves aquáticas (JAHAN et al., 2007).



Figura 6 - Foto da espécie *Typha domingensis* Pers.

Fonte: Autor (2022).

É uma planta aquática, perene, de hábito herbáceo, que pode atingir até 3 m de altura. Seu caule apresenta uma porção rizomatosa rastejante e grossa e outras eretas, altas e com folhas longas, anfiestomáticas, inseridas próximas à base, com nervação paralela, epiderme delgada unisseriada, com três camadas de parênquima paliçádico e câmaras de aerênquima que ocupam a maior parte do mesofilo. Os feixes vasculares são colaterais fechados com xilema e floema localizados entre o parênquima paliçádico das faces abaxial e adaxial. As células epidérmicas do rizoma são estreitas e com cutícula delgada, logo abaixo ocorrem poucas camadas de parênquima e há presença de um aerênquima radiado bem desenvolvido com câmaras irregulares ocupando maior parte do córtex, a região central do rizoma apresenta feixes colaterais e parênquima interfascicular, enquanto a endoderme é formada por células arredondas ou achatadas com presença de estrias de Caspary (BARROS, 2005; SANTOS et al., 2015).

Propaga-se por sementes e vegetativamente formando densos agrupamentos monoespecíficos (estandes). O período reprodutivo compreende as estações da primavera e verão. Apresenta flores estaminadas e flores pistiladas sob a forma de uma inflorescência cilíndrica que pode apresentar-se

em espiga contínua ou interrompida, sendo a parte superior da espiga composta de flores masculinas, que caem ao longo do ciclo, enquanto a inferior, mais engrossada e cor de chocolate, têm flores femininas, que dão origem ao fruto, que apresenta plumas (CORDAZZO; SEELIGER, 1988).

Forma agrupamentos densos nas margens de lagos, reservatórios, canais de drenagem e várzeas, onde conferem abrigo para organismos diversos. As espécies do gênero são dominantes na maioria dos ambientes aquáticos onde o nível da água costuma flutuar, apresentando características que denotam tolerância a ambientes impactados, como a alelopatia e o crescimento vegetativo acelerado, principalmente em ambientes com alta concentração de fósforo, o que proporciona uma alta produção de biomassa, além disso a espécie é capaz de modificar sua anatomia e desenvolver adaptações morfológicas e fisiológicas a uma variedade de perturbações ambientais, sendo considerada bioindicadora, colonizando áreas contaminadas por diversos tipos de resíduos industriais e atuando na remoção de diversos poluentes, incluindo metais pesados, sendo comumente utilizada com esta finalidade (CHEN; VAUGHAN, 2014; SANTOS et al., 2015).

3.2.5 *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav.

Espécie neotropical, ocorrendo no Brasil nos estados da Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, muito comum e facilmente distinguível por suas folhas reniformes e brilhantes (FARIA, 2005), conforme mostra a Figura 7.



Figura 7 - Foto da espécie *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav.

Fonte: Autor (2022).

As alcunhas populares incluem agrião-do-brejo, aguapé-do-arroz e aguapé-mirim, apresenta caules emersos ou flutuantes a fixos, ramificados, com folhas emersas ou flutuantes. Pecíolo variando entre 1,5-17cm e lâmina foliar entre 10-35x20-40mm, de formato reniforme ou levemente cordada, com ápice obtuso, raramente agudo e com base cordada (FARIA, 2005; KISSMANN; GROTH, 1997).

Apresenta inflorescências variando entre 8-25mm, com (2)3-8 flores e pedúnculo entre 1-3cm. As flores apresentam coloração alva, com a base da tépala mediana superior com guia de néctar amarelo-ouro e margem arroxeadada. O fruto varia entre 2,5-3,5mm e as sementes, 1mm, de cor castanho-claro, conspicuamente rostradas (FARIA, 2005).

No Brasil tem ampla distribuição, sendo uma planta perene e herbácea, com cerca de 20-50 cm de altura e adaptada tanto à água quanto a solos úmidos. É uma planta resistente na retirada de elementos do meio aquático, por usar recursos para a alocação de biomassa radicular mesmo em ambientes pobres em fósforo, bem como de biomassa de caules, que se constitui em um órgão alternativo na absorção de radiação solar. Essa espécie é considerada planta daninha em áreas de arroz irrigado e canais de irrigação pelo seu elevado

potencial de infestação e é citada em trabalhos de *wetlands* artificiais (SIPAÚBA-TAVARES; BRAGA, 2008).

3.2.6 *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.

Popularmente conhecida como água-pé, aguapé ou purú-a, é uma planta perene, aquática, flutuante livre ou fixa (Figura 8). Serve de alimento para roedores e habitat para pequenos invertebrados aquáticos e peixes. Em suas densas raízes forma local propício para a desova de algumas espécies de peixes. É empregada na depuração de corpos de água poluídos, bem como na produção de biogás (TRINDADE et al., 2010).



Figura 8 - Foto da espécie *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.

Fonte: Autor (2022).

É uma espécie herbácea, estolonífera, geralmente flutuante-livre e raramente enraizada. Pode atingir até 1 metro de altura, com sistemas de raízes fibrosas e com grande quantidade de pelos. Apresenta folhas emersas, dispostas em rosetas, espongiiformes, com bainha, limbo e pecíolos que apresentando grande quantidade de aerênquima, sendo os últimos, comumente inflados, para flutuação, podendo atingir até 7-11,5cm ou apresentarem forma delgada. A lâmina foliar varia entre 8-10×7-9cm, com formato arredondado a

elíptico, base truncada a cordada e ápice truncado a ligeiramente obtuso. Os caules aquáticos são o tenros, com aerênquima bem desenvolvido, e clorofilados e, assim sendo, realizam fotossíntese. Por fim, as inflorescências tem a forma de espiga e podem atingir até 12cm, com flores lilases, com guia de néctar na tépala mediana superior e margens das tépalas internas inteiras (FARIA, 2005).

O aguapé pode se reproduzir tanto por propagação vegetativa, como sexuadamente, sendo a primeira, adotada pela espécie em climas mais quentes, ocorre mais rapidamente, com a formação de um estolão na base do pecíolo, de onde surge uma nova planta, que após algum tempo se desprende da mãe. Já a reprodução sexuada ocorre, sobretudo onde a espécie é nativa. No Brasil, a floração ocorre no verão e as flores permanecem abertas por um ou dois dias. Quando todas as flores murcham, a haste floral se inclina para dentro d'água e as sementes são liberadas em direção ao fundo, permanecendo vivas por até 15 anos (FRANÇA et al. 2012).

Sendo uma espécie nativa da região Amazônica e Pantanal, foi introduzida em muitas regiões devido à beleza de suas flores, tendo se espalhado pelas áreas tropicais e temperadas de todo o mundo. Ocorre, lagos, lagoas, rios e riachos. Utilizada para ornamentação, despoluição de águas, como ração animal, adubo orgânico e na produção de biogás (PEREIRA et al., 2011).

Apresenta grande plasticidade fenotípica, dependendo da posição da planta em relação as outras na população e da disponibilidade de luz e água. Em geral, plantas flutuantes-livres apresentam pecíolos inflados e, quando enraizadas, os pecíolos são delgados e não inflados (FARIA, 2005).

No entanto, devido à alta capacidade de multiplicação e sucesso na competição com outras espécies, o aguapé vem tomando caráter invasor, causando sérios danos ecológicos e econômicos, sendo capaz de aumentar sua massa verde em 15% ao dia acumulando 800 kg por hectare, dobrando-a a cada seis ou sete dias e em condições ótimas pode produzir até 480 toneladas de massa verde por hectare/ano (TÉLLEZ et al., 2008).

3.2 Extração dos óleos fixos

Os resultados para as extrações de óleos fixos estão apresentados na Tabela 2, sendo realizados três ensaios e constatados rendimentos que variam entre 2,7 a 5,6 % de acordo com a espécie.

Tabela 2 – Rendimento das massas dos óleos fixos obtidos para cada uma das espécies avaliadas, após tratamento inicial do material vegetal.

Espécie/amostra	Média (g)	Desvio Padrão (g)	Rendimento (%)
<i>Enydra anagallis</i>	0,54	±0,13	3,6 %
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	0,45	±0,06	3 %
<i>Megathyrsus maximus</i>	0,57	±0,08	3,8 %
<i>Typha domingensis</i>	0,56	±0,02	5,6 %
<i>Heteranthera reniformis</i>	0,32	±0,10	3,2 %
<i>Eichhornia crassipes</i>	0,27	±0,08	2,7 %

Os resultados são médias $\pm$ desvios padrões dos ensaios realizados em triplicata. Fonte: Autor (2022).

Utilizando-se o teste F (ANOVA) observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios. Devido as diferenças entre o peso de massa seca de cada espécie e o volume ocupado, foram usadas 15 g de amostra de planta moída para *Enydra anagallis*, *Alternanthera philoxeroides* e *Megathyrsus maximus* e 10 g para *Typha domingensis*, *Heteranthera reniformis* e *Eichhornia crassipes*.

Os rendimentos em óleos fixos variaram de acordo com a espécie em questão. Segundo Medeiros (2015), possivelmente devido às espécies possuírem características físicas diferentes, como consistência, cor e tamanho, o que reflete no teor e natureza dos ácidos graxos presentes nos óleos fixos obtidos. A sazonalidade, região geográfica e o solvente utilizado também podem ter interferido na quantidade de óleo obtido para cada espécie.

Como não há muitos estudos referentes a extração de óleos fixos em macrófitas aquáticas, torna-se um pouco mais complicado comparar os dados com outros trabalhos, que, em sua maioria, usam espécies oleaginosas neste

tipo de pesquisa, o que não é o caso neste estudo. Todavia, é interessante compararmos os resultados afim de estabelecer uma ligação com na literatura disponível sobre o assunto.

Sendo assim, em um estudo realizado por Sousa et al. (2006) foram comparados dois métodos de extração de óleos fixos para a espécie *Croton cajucara* Benth: via percolação e por fluido supercrítico. O estudo revelou que houve um maior rendimento de óleo fixo obtido no processo convencional (via percolação), tendo sido obtido 13 g (3,14%) de óleo fixo (partindo-se de 413 g de cascas), versus 1,2% de óleo fixo extraído no processo via fluido supercrítico (1,34 g; partindo-se de 109 g de cascas). A pesquisa reforça a ideia de que estes dados poderiam estar correlacionados com questões sazonais (variações que dependem da época e horário de coleta, dentre outros fatores) (MACIEL et al., 2002).

Segundo Agra (2019), a extração realizada para *Allagoptera caudescens* (Mart.) Kuntze, utilizando 20 g do endosperma (semente) e 200 mL do solvente hexano, obteve rendimento de 23,5% de óleo fixo (extraiu-se 4,7 g do óleo fixo). Na extração utilizando 50 g do endosperma e 150 mL do solvente etanol, apresentou rendimento de 11,46% (extraiu-se 5,73 g). A extração utilizando 30 g da ráquis e 120 mL de etanol resultou num rendimento de 8,97% (extraiu-se 2,69 g). Outro estudo obteve resultado considerado satisfatório para o processo de extração de óleo fixo de *Jatropha mollissima* Muell. Arg., com rendimento de 25,2% (TARGINO, 2013).

Oliveira (2020) avaliou a espécie *Cinnamomum verum* (J. Presl.). O processo de extração das folhas, utilizando solventes a partir de 20 g de folhas e 200 mL de etanol, extraiu 6,52 g de óleo fixo, com rendimento de 32,6%. Ao utilizar o solvente hexano, foi extraído 0,72 g de óleo fixo, com um rendimento de 3,6%. A extração a partir das cascas, utilizando 20 g de amostra para 200 mL de solvente, extraiu 5,12 g de óleo, apresentando um rendimento de 25,6%, como etanol, e 0,29 g de óleo, com um rendimento de 1,45% com hexano.

Vale salientar que os óleos fixos são encontrados em quantidades mais elevadas nas sementes. De acordo com Pereira (2009), os óleos e gorduras vegetais podem aparecer em diversas partes da planta, de modo especial nas sementes, onde se acumulam em maior quantidade. Sendo assim, para este estudo, mesmo tendo sido usado toda a planta como matéria prima para

extração dos óleos, durante as coletas, nenhuma das seis espécies avaliadas encontrava-se em estado fértil, portanto, não havia a presença de flores, frutos e/ou sementes.

4 Conclusão

As espécies avaliadas neste estudo são diversas em termos taxonômicos, compreendendo gêneros e famílias botânicas diversas. As extrações dos óleos fixos, quando comparadas com outros procedimentos de extração de óleos fixos citados na literatura, foram positivas no sentido de que foram obtidos óleos a partir de todas as espécies.

Temos que destacar que nenhuma das seis espécies de macrófitas consideradas neste estudo são plantas oleaginosas e que não foram incluídos na biomassa as partes reprodutivas das plantas, como frutos e sementes, que geralmente concentram maior teor de óleo em seus tecidos.

Mais estudos devem ser realizados com estas espécies, sendo a caracterização destes óleos o próximo passo a ser seguido, visando conhecer a respeito da composição química desses compostos e as suas possíveis aplicações.

CAPÍTULO 2 – Determinação do potencial antioxidante de óleos fixos extraídos de diferentes espécies de macrófitas aquáticas

1 Introdução

As substâncias com ação antioxidante (antirradicalar) são responsáveis por prevenir ou retardar a oxidação ao inativar os radicais gerados pela doação de elétrons ou átomos de hidrogênio e, com isto, formar espécies químicas estáveis. Em outras palavras, estão associadas ao processo de retardamento das reações de degradação oxidativa, processo este, que está intimamente ligado a formação de radicais livres e é espontâneo, ocorrendo nos sistemas biológicos com a formação de espécies reativas como radicais hidroxila, peróxido, alcóxido, entre outros (OLIVEIRA et al., 2014).

A alta produção de radicais livres pode ocasionar o processo de estresse oxidativo, que é um desequilíbrio entre a formação de espécies reativas e compostos que agem na inibição de tais espécies reativas. Como consequência, podem ocorrer o envelhecimento precoce e doenças associadas a formação destes radicais livres (NIMSE, 2015).

As plantas são uma importante fonte de moléculas e substâncias diversas, como os óleos fixos, cujos principais componentes são derivados de ácidos graxos. As substâncias já isoladas, de origem vegetal, e caracterizadas apresentaram grande diversidade estrutural, que está relacionada as rotas biossintéticas altamente especializadas e enzimas com alta especificidade. Aliado a esta grande diversidade estrutural, muitas destas substâncias apresentam um papel central no tratamento ou prevenção de várias doenças tais como diabetes, câncer e desordens inflamatórias crônicas (CRAGG; NEWMAN, 2013).

As macrófitas aquáticas são conhecidas popularmente como plantas aquáticas. Ao longo de seu processo evolutivo adaptaram-se ao ambiente aquático de forma muito eficiente. Apresentam uma grande diversidade biológica, com aproximadamente 2600 espécies espalhadas por mais de 450 gêneros (CHAMBERS et al., 2008).

Apesar do grande número de espécies de macrófitas aquáticas, muitos gêneros não apresentam qualquer descrição da composição química ou propriedades biológicas de seus compostos. A medicina popular faz grande uso das espécies do gênero *Hydrocotyle*, por exemplo, no tratamento de úlceras de pele, dermatites, reumatismo, tuberculose e eczema (FLORENTINO et al., 2013).

Uma grande diversidade de compostos químicos foram isolados a partir de espécies de *Hydrocotyle*, como por exemplo, do extrato metanólico de *H. ranunculoides* foram isolados triterpenos polioxigenados e glicosilados. Outros estudos realizados com *H. sibthorpioides* e *H. bonariensis* revelaram a presença de saponinas glicosiladas. Porém, no que diz respeito à atividade biológica destes compostos, ainda há carência de estudos mais aprofundados (GRECA et al., 1993; MATSUSHITA et al., 2004; HUANG et al., 2008; TABOPDA et al., 2012).

Outro exemplo, a espécie *Hydrocotyle leucocephala*, nativa do Brasil, que é empregada como planta ornamental para aquários, na Colômbia, é utilizada pela medicina popular por suas propriedades diuréticas e no combate de diarreias (RAMOS et al., 2006).

Devido a significativa quantidade de espécies de macrófitas aquáticas e o pouco conhecimento sobre o potencial destas espécies, este estudo buscou avaliar o potencial dos óleos fixos extraídos de seis espécies de macrófitas como fonte de substâncias antirradicais frente ao radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).

2 Materiais e métodos

2.1 Preparo das amostras

Os procedimentos adotados aqui foram os mesmos descritos nos itens 2.1 a 2.3 do capítulo anterior, sendo utilizados os mesmos óleos obtidos das espécies *Enydra anagallis* Gardner, *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb.,

Megathyrsus maximus (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs, *Typha domingensis* Pers., *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav. e *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.

2.2 Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre DPPH

O método DPPH foi proposto por BRAND-WILLIAMS et al., 1995 e é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm. Esse método foi posteriormente modificado por SÁNCHEZ-MORENO et al. (1998) para medir os parâmetros cinéticos.

2.3 Determinação da curva do DPPH

A partir da solução inicial de DPPH (60 μ M), foram preparadas em balões volumétricos de 10 mL, soluções variando a concentração de 10 μ M a 50 μ M conforme a Tabela 3.

Tabela 3 - Preparo das soluções para curva do DPPH.

Solução de DPPH (mL)	Álcool metílico (mL)	Concentração final de DPPH (μ M)
0	10	0
1,7	8,3	10
3,3	6,7	20
5,0	5,0	30
6,7	3,3	40
8,3	1,7	50
10	0	60

Fonte: Rufino et al. (2007).

Em ambiente escuro, foi transferida uma alíquota de, aproximadamente, 4 mL de cada solução de DPPH (10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M e 60 μ M) para cubetas de vidro e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Foi

utilizado álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. E por fim, foi plotado o gráfico (Figura 9) com as concentrações de DPPH (μM), no eixo X, e as respectivas absorbâncias, no eixo Y, e calculada a equação da reta.

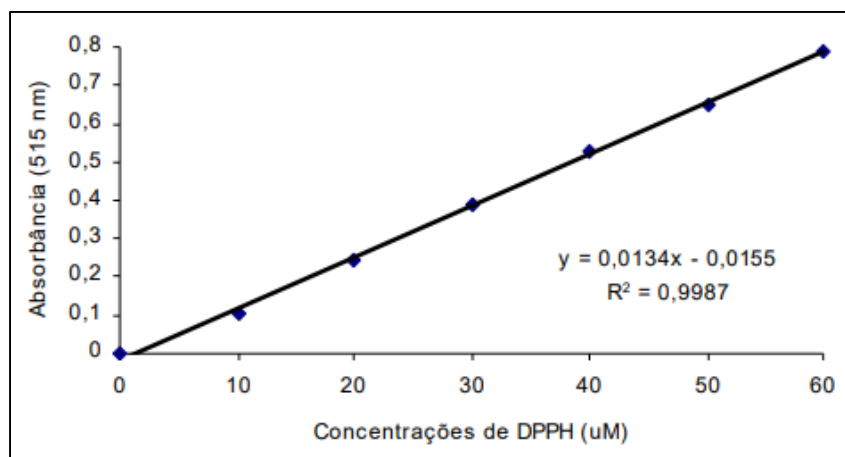


Figura 9 - Exemplo de curva do DPPH x absorbância.

Fonte: Rufino et al., (2007).

2.4 Preparo dos óleos

O procedimento de preparo dos óleos fixos previamente extraídos para análise (Capítulo 1) deu-se por diluição. Em erlenmeyers de 250 mL, contendo os óleos, foram adicionados 100 mL de etanol e a mistura foi agitada manualmente até homogeneizar e deixada em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente.

2.5 Determinação da atividade antioxidante total (AAT)

Foram preparados tubos de ensaio no mínimo três diluições diferentes de cada óleo, em triplicata. Em ambiente escuro, foram transferidas alíquotas de 0,1 mL de cada diluição dos óleos para tubos de ensaio, com 3,9 mL do radical DPPH, previamente preparado, e homogeneizadas em agitador de tubos.

Utilizou-se 0,1 mL da solução controle (álcool metílico, acetona e água), previamente preparada, com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizado. Como branco, foi utilizado álcool metílico, para calibragem do espectrofotômetro. As leituras, a 515 nm, foram monitoradas a cada minuto, onde foi observada a

redução da absorbância até sua estabilização. A leitura da absorbância final para o cálculo do EC₅₀ só foi feita após a estabilização da absorbância (tempo EC₅₀).

Após a leitura, foi substituído, na Equação 1, o valor correspondente a metade da absorbância inicial do controle pelo y da equação da curva do DPPH (Figura 2), para encontrar o consumo de DPPH em µM e, posteriormente, transformar para g de DPPH, conforme Equação 2.

$$y = ax - b \quad (1)$$

Onde:

y = absorbância inicial do controle dividida por 2;

x = resultado em µM DPPH.

$$gDPPH = (\mu M \text{ DPPH} / 1.000.000) \times 394,3 \quad (2)$$

Onde:

394,3 = peso molecular do DPPH.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, foi plotado o gráfico com as absorbâncias, no eixo Y, e as diluições (mg/L), no eixo X, para determinar a equação da reta (Equação 3). Para calcular a atividade antioxidante total, foi substituída a absorbância equivalente a 50 % da concentração do DPPH pelo y (Equação 3), para obter o resultado que corresponderá à amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (EC₅₀).

Cálculo do EC₅₀:

$$y = -ax + b \quad (3)$$

Onde:

y = absorbância inicial do controle dividida por 2;

x = EC₅₀ (mg/L).

O resultado (mg/L) encontrado na Equação 3, foi dividido por 1.000, para ter o valor em g e, em seguida, dividido pelo valor encontrado em g DPPH, para obter o resultado final, a partir da Equação 4, expresso em g de amostra / g DPPH.

Cálculo do EC₅₀ expresso em g amostra / g DPPH:

$$g \text{ amostra} / g \text{ DPPH} = \left(\frac{EC_{50}}{1.000} \times 1 \right) / g \text{ DPPH} \quad (4)$$

Os resultados também foram expressos como porcentagem de inibição do radical ou de atividade antioxidante, de acordo com Rufino et al. (2006), e foram calculados em três diferentes concentrações para cada espécie, seguindo a Equação 5:

$$\% \text{ de inibição do radical} = \left[\frac{A_0 - A_f}{A_0} \right] \times 100 \quad (5)$$

Onde:

A₀: absorbância inicial;

A_f: absorbância final.

2.6 Análise estatística

Para determinar se existe diferença significativa entre os resultados encontrados quanto a atividade antioxidante dos óleos de cada uma das espécies, foi realizada a análise de variância (ANOVA), por meio do teste-F de comparação de médias e teste de Tukey, quanto a existência ou não de diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios. As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando probabilidade de erro de 5% com auxílio do *software Statistica 7.0*.

3 Resultados e discussão

Pela metodologia utilizada foi determinada a quantidade de antioxidantes presentes nos óleos, capaz de sequestrar 50% do radical DPPH da solução, denominada assim de EC₅₀, sendo expresso em (g)amostra/(g)DPPH. Quanto menor o valor desta medida, menor será a quantidade de amostra exigida para reduzir 50% do radical e consequentemente, maior sua atividade antioxidante (SANTOS, 2012).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) corresponde à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (CE₅₀), também chamada de concentração inibitória (CI₅₀). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE₅₀ e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007).

Entretanto, não foram encontradas muitas referências na literatura quanto a atividade antioxidante das espécies analisadas e, tampouco, estudos que seguissem a mesma metodologia em particular. Por essa razão, optou-se por apresentar os resultados também na forma de porcentagem de inibição, como mostra a Tabela 4, e para fins de discussão, os resultados foram comparados com trabalhos feitos com diferentes espécies vegetais, algumas, pertencentes à grupos taxonômicos próximos.

Tabela 4 - Resultados para (g)amostra/(g)DPPH e porcentagens de inibição (%) do radical livre DPPH encontradas para os óleos fixos de cada uma das seis espécies avaliadas, em diferentes concentrações.

Espécie/amostra	(g)amostra/ (g)DPPH	% de Inibição		
		Concentrações dos óleos (mg/L)		
		50%	75%	100%
<i>Enydra anagallis</i>	4,49±2,34	84,27±4,13	86,31±3,87	82,56±2,69
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	1,97±1,06	83,20±3,30	81,77±1,68	75,05±3,04
<i>Megathyrsus maximus</i>	2,12±2,02	93,16±3,81	93,80±4,88	91,22±1,95
<i>Typha domingensis</i>	17,33±13,25	79,19±1,84	76,73±1,19	67,01±3,05
<i>Heteranthera reniformis</i>	1,95±1,01	79,30±2,97	77,02±3,12	70,97±3,82
<i>Eichhornia crassipes</i>	3,92±1,04	90,65±3,44	87,02±2,12	85,14±14,16

Os resultados são médias ± desvios padrões dos ensaios realizados em triplicata. A análise estatística comprovou que houve diferença significativa entre as médias (p< 0,05). Fonte: Autor (2022).

Os resultados demonstraram que, ao considerarmos (g)amostra/(g)DPPH, as espécies *A. philoxeroides* e *H. reniformes* foram as que

apresentaram maior potencial antioxidante, visto que, de acordo com a metodologia utilizada, quanto menor for a quantidade de amostra, maior a sua atividade antioxidante.

Em um estudo realizado por Rufino et al. (2010), foi avaliada a atividade antioxidante total de frutas, sendo encontrados valores médios de 4264; 17,11 e 3549 (g)amostra/(g)DPPH para açaí, juçara e carnaúba, respectivamente. Outro trabalho similar encontrou resultados de 47,46; 3343,99; 7938,28 e 18936,33 (g)amostra/(g)DPPH para atividade antioxidante da bacaba, tucumã, buriti e inajá, respectivamente (SANTOS, 2012).

Sendo assim, se compararmos os resultados encontrados por Rufino (2010) e Santos (2012), por exemplo, com os que foram apresentados neste estudo, podemos entender que os óleos de todas as espécies avaliadas, incluindo *T. domingensis*, com 17,33 (g)amostra/(g)DPPH, apresentam bom potencial antioxidante.

Porém considerando-se a porcentagem de inibição, observou-se que os percentuais de redução do radical livre DPPH, produzidos pelos óleos fixos das espécies avaliadas, foram consideravelmente altos, contudo, em concentrações também elevadas. Os melhores resultados foram encontrados para *M. maximus* e *E. crassipes*, com mais 90% de inibição (de acordo com cada concentração).

Um estudo realizado por Sandim (2014), foi avaliada a atividade antioxidante de *Alternanthera paronichioides*, porém com o extrato aquoso, em concentrações inferiores ($\mu\text{g/ml}$), onde se destacou os valores de 86,15% (25 $\mu\text{g/ml}$) e 76,33% (250 $\mu\text{g/ml}$), em contrapartida, os resultados encontrados neste estudo para a espécie *A. philoxeroides*, pertencente ao mesmo gênero, demonstraram um percentual de 83,2% de inibição com a concentração de 25 mg/L. Isso indica uma baixa capacidade antioxidante dos óleos analisados pelo método do DPPH.

Vale destacar que a composição química dos óleos está diretamente ligada com a ação antioxidante. O conteúdo, assim como o perfil destes constituintes variam de acordo com cada espécie, bem como das condições edafoclimáticas (LEONG; SHUI, 2002).

Em trabalho realizado por Hess & Zanini (2008), os resultados demonstraram que os óleos das folhas e flores de *Vernonia scabra* são inativos frente ao radical livre DPPH, devido ao fato do óleo desta espécie apresentarem

uma composição exclusiva de terpenos, com ausência de fenilpropanóides, compostos que geralmente evidenciam significativas atividades antirradicais.

A determinação da capacidade antioxidante em óleos pode ser considerada um desafio analítico, pois a maioria dos métodos foi desenvolvida para a análise de compostos hidrofílicos em amostras aquosas ou hidrofílicas. Os óleos vegetais são hidrofóbicos e não se misturam ao meio aquoso, peculiar aos ensaios de capacidade antioxidante. Consequentemente, a turbidez da amostra prejudica a determinação e os resultados gerados não são reprodutíveis (NINFALI, 2001).

Dessa forma, são necessárias adaptações nos ensaios de capacidade antioxidante para amostras cujos componentes majoritários sejam lipídeos. Entretanto, alguns ensaios são de difícil adaptação para a análise de óleos vegetais, tornando os resultados de difícil interpretação e pouco informativos. É crescente o número de investigações a respeito da capacidade antioxidante de óleos vegetais, porém ainda não há consenso a respeito da melhor maneira de adaptar os ensaios disponíveis, e a quantidade de informação publicada ainda é insuficiente (CASTELO-BRANCO; TORRES, 2011).

4 Conclusões

Os resultados da atividade antioxidante demonstraram que os óleos fixos das espécies *A. philoxeroides* e *H. reniformes* foram as que apresentaram maior potencial antioxidante, ao analisarmos (g)amostra/(g)DPPH. Porém, ao avaliar a porcentagem de inibição para cada uma das seis espécies, podemos concluir que os óleos fixos de todas as espécies têm atividade sequestradora do radical DPPH, embora possa ser considerada baixa, visto que as concentrações utilizadas nos ensaios foram elevadas, quando comparadas com outros trabalhos.

Contudo, este estudo fornece subsídios para descobertas relevantes, uma vez que a literatura é carente de informações sobre atividade antioxidante dos óleos fixos extraídos destas espécies, evidenciando a necessidade de pesquisas que visem investigar a composição química, as atividades biológicas, a

toxicidade e o potencial para utilização comercial de produtos e extratos obtidos a partir das mesmas.

Através deste estudo foi possível verificar o potencial antioxidante dos óleos fixos das espécies analisadas e embora a determinação da capacidade antioxidante em óleos possa ser considerada um desafio, a implementação desses compostos em produtos que visam propor características antioxidantes é perfeitamente viável.

CAPÍTULO 3 – Quantificação dos compostos fenólicos totais em óleos fixos de diferentes espécies de macrófitas aquáticas

1 Introdução

Os compostos bioativos, como as vitaminas, compostos fenólicos e pigmentos, compreendem um grande número de metabólicos secundários relacionados com o sistema de defesa das plantas, contra a radiação ultravioleta, por exemplo (NUNES et al., 2014).

O Brasil é um país privilegiado neste aspecto, pois abriga 55 mil espécies de plantas, correspondendo aproximadamente a um quarto de todas as espécies conhecidas no mundo, entretanto um grande número dessas espécies ainda não foi estudado sob o ponto de vista químico e/ou farmacológico, o que tem contribuído para a diminuição do número de registros de novas substâncias isoladas provenientes do metabolismo secundário vegetal (ARAÚJO, 2010; PINA, 2011).

Um exemplo de um grupo de plantas em particular, que carece de estudos nesse sentido é o das macrófitas aquáticas. Estas plantas podem ser encontradas em ambientes sazonalmente e/ou permanentemente inundados e representam uma das comunidades vegetais mais produtivas dentre todos os ecossistemas, podendo causar grandes interferências através do seu metabolismo (ESTEVES, 1988).

Os compostos bioativos, como os de natureza fenólica, têm despertado cada vez mais interesse, principalmente devido a ações que desempenham no organismo. O Brasil, em função de sua biodiversidade ainda pouco investigada, mostra-se como uma fonte importante de espécies vegetais a serem estudadas (HEMAMALINI et al., 2013).

Estudos dessa natureza são importantes precursores para investigações de atividades biológicas. Entretanto, torna-se imprescindível verificar a presença de outras moléculas bioativas como por exemplo, os compostos fenólicos (ANTUNAS, 2018).

Segundo Lajolo e Mercadante (2018), os compostos fenólicos estão presentes em plantas superiores, sendo encontrados em vários tipos de alimentos de origem vegetal, frutas, hortaliças, legumes, folhas e cereais. Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo seus grupos funcionais. Estão amplamente distribuídos no reino vegetal, englobando desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (SOARES et al., 2008).

Os compostos fenólicos presentes nas plantas estão relacionados, principalmente, com a proteção, seja contra a radiação solar ou conferindo alta resistência a microrganismos e pragas, além de estarem envolvidos com a adaptação do vegetal ao ambiente. Nos alimentos, estes compostos podem influenciar o valor nutricional e a qualidade sensorial, conferindo atributos como cor, textura, amargor e adstringência. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (EVERETTE et al., 2010).

O teor de compostos fenólicos está diretamente associado a inúmeros fatores como a espécie, o estágio de desenvolvimento e índice de incidência solar. A exposição desses compostos a luz induz a síntese de flavonoides, como as flavonas, flavonóis e antocianinas (LAJOLO; MERCADANTE, 2018).

O estudo de macrófitas aquáticas, ricas em compostos bioativos, pode favorecer a descoberta de novos compostos e/ou novas fontes, fato que auxiliaria no desenvolvimento econômico e tecnológico. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar e quantificar o teor de compostos fenólicos totais em óleos fixos extraídos de seis espécies de macrófitas aquáticas.

2 Materiais e métodos

2.1 Preparo das amostras

Os procedimentos adotados aqui foram os mesmos descritos nos itens 2.1 a 2.3 do Capítulo 1, onde utilizou-se os óleos obtidos das espécies *Enhydra*

anagallis Gardner, *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb., *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs, *Typha domingensis* Pers., *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav. e *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.

2.2 Extração de compostos fenólicos

Para a extração de compostos fenólicos, os óleos fixos, previamente extraídos (Capítulo 1) foram diluídos. Em erlenmeyers de 250 mL, contendo os óleos, adicionou-se 100 mL de metanol e a mistura foi agitada manualmente até completa homogeneização e deixada em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente.

2.3 Quantificação de fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu*, segundo metodologia adaptada de Singleton et al. (1999).

2.4 Construção da curva padrão de ácido gálico

A solução padrão de ácido gálico foi preparada diluindo-se 0,05 g em 100 mL de metanol, obtendo-se concentração de 50 g.L⁻¹. A partir dessa solução foram feitas diferentes diluições para construção da curva.

Posteriormente, em tubos de ensaio, foram acrescentados 0,1 mL de cada diluição, 3 mL de água destilada e 0,3 mL de reagente *Folin-Ciocalteu*. A solução foi agitada e mantida em repouso por 3 min. Após o repouso foi acrescentado 2 mL de carbonato de sódio 7,5% (m/v) e envolveu-se os tubos em papel alumínio, sendo os mesmos mantidos em banho-maria por 30 min a 37 °C. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro UV-vis (UV-2600, Shimadzu), com comprimento de onda de 765 nm.

2.5 Determinação de fenólicos totais nos extratos

Para a quantificação dos fenólicos totais as amostras dos óleos foram diluídas, conforme é apresentado na Tabela 5, em diferentes concentrações de

acordo com cada espécie, para possibilitar a leitura, visto que a coloração dos óleos apresentava uma tonalidade escura em sua maioria.

Tabela 5 – Diluições dos óleos fixos usadas para determinar o teor de compostos fenólicos de acordo com cada espécie estudadas.

Espécie/amostra	Diluição
<i>Enydra anagallis</i>	1:20
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	1:10
<i>Megathyrsus maximus</i>	1:30
<i>Typha domingensis</i>	1:10
<i>Heteranthera reniformis</i>	1:20
<i>Eichhornia crassipes</i>	1:20

Fonte: Autor (2022).

O procedimento adotado foi o mesmo utilizado para a construção da curva padrão, substituindo-se as diluições da solução padrão pela amostra analisada. Para calcular os fenólicos totais foi utilizada a Equação 5.

$$\text{Fenólicos totais} \left(\frac{\text{mg}_{EAG}}{\text{g}_{amostra}} \right) = \frac{\text{Concentração em mg}_{EAG}}{\text{massa da amostra (g)}} \quad (5)$$

Onde:

mg_{EAG} = mg em equivalentes de ácido gálico

2.6 Análise estatística

Para verificar se a diferença entre os resultados encontrados quanto ao teor de compostos fenólicos presente nos óleos de cada uma das espécies é significativa, foi realizada a análise de variância (ANOVA), por meio do teste-F de comparação de médias e teste de Tukey, quanto a existência ou não de diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios. As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando probabilidade de erro de 5% com auxílio do *software Statistica 7.0*.

3 Resultados e discussão

A quantificação espectrométrica de compostos fenólicos foi realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de *Folin-Ciocalteu* figura entre as mais extensivamente utilizadas (ROGINSKY, 2005). Os resultados encontrados referentes a quantificação dos compostos fenólicos totais estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 3 – Teor de compostos fenólicos totais (TCF) em óleos fixos de seis diferentes espécies de macrófitas aquáticas.

Espécie/amostra	Compostos Fenólicos (TCF) (mg de EAC/g de óleo)
<i>Enydra anagallis</i>	28,71±0,06
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	33,04±0,12
<i>Megathyrsus maximus</i>	31,22±0,06
<i>Typha domingensis</i>	32,50±0,06
<i>Heteranthera reniformis</i>	37,67±0,04
<i>Eichhornia crassipes</i>	38,07±0,06

EAC = equivalente de ácido gálico. Os resultados são médias ± desvios padrões dos ensaios realizados em triplicata. A análise estatística comprovou que houve diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Fonte: Autor (2022).

De acordo com os resultados encontrados, podemos ver que o teor de compostos fenólicos totais presentes nos óleos fixos testados das diferentes espécies foi similar, sendo registrado o maior para *E. crassipes* (38,07 mg de EAG/g) e o menor valor para *E. anagallis* (28,71 mg de EAG/g).

Esse resultado indica que os compostos fenólicos contribuem para a maior ação antioxidante desses óleos, visto que, são os principais antioxidantes de origem vegetal e dentre os mecanismos relacionados a essa ação farmacológica está à eliminação de radicais livres (SOOBRAATTEE et al., 2005; ANUNCIAÇÃO et al., 2020).

Em um estudo realizado com óleos essenciais de *Croton linearifolius*, foram apresentados resultados positivos para teor de compostos fenólicos totais, sendo encontrados resultados de 276,79 e 155,77 mg de EAG/g de óleo

essencial, para os óleos obtidos de duas coletas, da mesma espécie, em diferentes épocas (BRITO, 2014).

Todavia, como o presente estudo avaliou os óleos fixos, podemos citar o trabalho de Anunciação et al. (2020), que buscou avaliar o teor de compostos fenólicos de óleos fixos de sementes de *Moringa oleífera* extraídos com três solventes diferentes: hexano; diclorometano e etanol, apenas a extração com etanol apresentou compostos fenólicos detectáveis pela metodologia utilizada (235,11 mg de EAG/g de óleo).

Sousa et al. (2007) avaliou o teor de compostos fenólicos totais do extrato etanólico de cinco plantas medicinais, o menor valor foi registrado para a espécie *Copernicia prunifera* (250 mg de EAG/g de extrato), seguida por *Qualea grandiflora* (394,9 mg de EAG/g de extrato), *Terminalia fagifolia* (439,38 mg de EAG/g de extrato), *Cenostigma macrophyllum* (483,63 mg de EAG/g de extrato) e *Terminalia brasiliensis* (763,63 mg de EAG/g de extrato).

Como podemos observar os valores encontrados neste estudo para o teor de compostos fenólicos totais são baixos quando comparados com os resultados de outros trabalhos que avaliaram espécies e solventes diferentes. É provável que o solvente utilizado durante a extração dos óleos possa ter interferido de alguma forma nos resultados. Estes resultados estão de acordo com outros autores que sugerem que solventes com alta polaridade, como a água, e solventes com polaridade muito baixas, ou apolares, como hexano ou diclorometano, não são bons extratores (LIU et al., 2000).

Outros autores também sugerem que a metodologia usada não seja a mais adequada. Segundo Oliveira (2009), afirma que esse método não é eficaz, porque ele superestima o conteúdo fenólico em larga extensão. Apesar do método utilizado ser um dos mais comuns para identificar compostos fenólicos em vegetais, ele não é específico, pois o reagente de *Folin-Ciocalteu* é capaz de reagir com outros compostos doadores de elétrons presentes no extrato, produzindo resultados falso positivos (ANGELO; JORGE, 2007).

Também vale ressaltar que, para este estudo, os óleos fixos foram extraídos de estruturas vegetativas das espécies analisadas (raízes, caules e folhas) não estando incluídas as partes reprodutivas, como frutos e sementes, que geralmente concentram as maiores quantidades de óleos nas plantas (PEREIRA et al., 2005).

4 Conclusões

Os teores de compostos fenólicos totais encontrados nos óleos analisados das seis espécies estudadas foram relativamente similares, destacando-se as espécies *E. anagallis* e *E. crassipes*, com o menor e o maior valor registrado, respectivamente. Esses resultados podem demonstrar a capacidade dos constituintes presentes nos óleos em doar elétrons para os componentes do reagente de *Folin-Ciocalteu*, indicando que alguns deles podem apresentar propriedades antioxidantes.

Este trabalho fornece subsídios para descobertas relevantes, uma vez que a literatura é carente de informações sobre os compostos bioativos das espécies avaliadas neste estudo, principalmente, no que se refere a óleos fixos, evidenciando a necessidade de pesquisas que visem investigar a composição química, as atividades biológicas, a toxicidade e o potencial para utilização comercial de produtos e extratos obtidos a partir destas espécies.

Assim sendo, considerando que substâncias naturais podem ser responsáveis pelo efeito de proteção contra os riscos de muitos processos patológicos, os resultados descritos neste trabalho estimulam a continuidade dos estudos, uma vez que a análise cromatográfica dos óleos se faz necessária para que possamos identificar os seus principais constituintes e, posteriormente, avaliar o potencial bioativo dessas substâncias de forma isolada.

CAPÍTULO 4 – Determinação da atividade antifúngica de óleos fixos de diferentes espécies de macrófitas aquáticas no crescimento micelial de *Trametes versicolor* (cepa LPF-108)

1 Introdução

Atualmente a busca por fontes alternativas para prevenção de doenças tem sido cada vez mais procurada. Existe uma grande importância de se buscar, em fontes vegetais, novos compostos antimicrobianos derivados de produtos naturais, tais como os óleos essenciais, óleos fixos e extratos vegetais. Diante do aumento da necessidade de descobrir substâncias com atividade antimicrobiana cada vez mais eficazes, vê-se a importância de explorar a diversidade brasileira, uma vez que o Brasil é um dos países com maior biodiversidade do mundo (LEWINSOHN; PRADO, 2002).

Entretanto, a biodiversidade não é conhecida com precisão, estima-se a existência de mais de dois milhões de espécies distintas de plantas, animais e microrganismos. Dentro dessa biodiversidade se destaca cerca de 100 mil espécies vegetais, das quais menos de 1% foi estudada sob o ponto de vista bioquímico (SIMÕES et al., 2010).

Um grupo em particular de plantas que podemos destacar aqui é o das macrófitas aquáticas. Ao longo de seu processo evolutivo, essas plantas adaptaram-se ao ambiente aquático de forma muito eficiente e, embora apresente uma riqueza em espécies, muitos gêneros não apresentam qualquer descrição da composição química ou propriedades biológicas de suas espécies (CHAMBERS et al., 2008).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Farmacognosia (SBF, 2017), as gorduras e óleos fixos são obtidos de plantas ou de animais, tendo como principal função evitar a perda de água e proteger contra a ação de intrusos (microrganismos e insetos).

A atividade antimicrobiana está relacionada com a capacidade de impedir o crescimento de microrganismos, sendo o principal objetivo, avaliar em qual

concentração uma determina substância apresenta ação sobre fungos ou bactérias (SOARES, 2014).

Os problemas causados por microrganismos são inúmeros, a exemplo, podemos citar os danos causados por fungos em estruturas de madeira. De acordo com Moraes et al. (2005), os fungos são os agentes bióticos de maior importância, responsáveis pela maior proporção de danos causados à madeira, podendo comprometer severamente sua resistência.

Segundo Tanaka et al. (1999), *Trametes versicolor* é um dos mais eficientes fungos degradadores da madeira e causadores da podridão branca. Ao promover a deterioração simultânea da lignina, celulose e hemicelulose, as propriedades da madeira, como perda de massa, mudança na coloração e redução da resistência mecânica são alteradas (ARCHIBALD; ADDLEMAN, 1997).

Portanto, fica evidente que novos estudos envolvendo o desenvolvimento de possíveis fármacos antifúngicos são necessários, assim, a pesquisa teve como objetivo analisar a atividade antifúngica de óleos fixos obtidos a partir de seis espécies diferentes espécies de macrófitas aquáticas frente ao fungo *Trametes versicolor* (cepa LPF-108).

2 Materiais e métodos

2.1 Preparo das amostras

O preparo das amostras se deu de acordo com os procedimentos descritos nos itens 2.1 a 2.3 do Capítulo 1, sendo utilizados os óleos obtidos das espécies *Enydra anagallis* Gardner, *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb., *Megathyrsus maximus* (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs, *Typha domingensis* Pers., *Heteranthera reniformis* Ruiz & Pav. e *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.

2.2 Atividade antifúngica contra xilófagos

Para determinar a atividade dos óleos contra fungos xilófagos foi realizado um teste rápido em que os mesmos foram suspensos em álcool etílico e vertidos sobre o meio de cultivo ágar-batata-dextrose (BDA) estéril e já rígido na placa de Petri. Após a secagem do solvente, foi disposto no centro da placa de Petri discos de micélio dos fungos com aproximadamente 6 mm de diâmetro.

Os óleos foram diluídos em três concentrações diferentes a serem testadas com o fungo da espécie *Trametes versicolor* (cepa LPF-108).

Os diâmetros de crescimento do fungo foram medidos a cada 24h, com auxílio de paquímetro digital, até que o fungo da placa controle se desenvolva e ocupe todo o espaço útil (84 mm) de meio de cultivo e a porcentagem de inibição foi calculada conforme a Equação 6, utilizada por Gopalakrishnan et al. (1997), descrita a seguir.

$$\% \text{ inibição} = 100 - \left(\frac{\text{diâmetro (mm) do tratado}}{\text{diâmetro (mm) do controle}} \times 100 \right) \quad (6)$$

2.3 Análise estatística

Para averiguar se houve diferença significativa entre os resultados encontrados em relação a atividade antifúngica dos diferentes óleos testados, foi realizada a análise de variância (ANOVA), por meio do teste-F de comparação de médias e teste de Tukey, quanto a existência ou não de diferença significativa ($p < 0,05$) entre os ensaios. As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando probabilidade de erro de 5% com auxílio do *software Statistica 7.0*.

3 Resultados e discussão

Conforme os resultados apresentados no teste fúngico contra *T. versicolor*, pode-se registrar que os óleos fixos de *A. philoxeroides*, *M. maximus* e *E. anagallis* demonstraram as melhores perspectivas para estudos mais

amplos acerca do seu potencial antimicrobiano, como pode ser visto na Tabela 7.

Tabela 7 – % de inibição do crescimento de *T. versicolor* testado com cada um dos óleos obtidos das espécies *E. anagallis*, *A. philoxeroides*, *M. maximus*, *T. domingensis*, *H. reniformis* e *E. crassipes*.

Espécie/amostra	% de inibição para cada concentração (mg/L)		
	50%	75%	100%
<i>Enydra anagallis</i>	19,27±4,22	40,79±24,28	81,54±2,67
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	64,19±30,06	24,77±14,88	93,14±6,33
<i>Megathyrsus maximus</i>	27,57±14,49	28,01±32,75	92,51±6,74
<i>Typha domingensis</i>	48,63±32,63	30,81±18,13	54,86±46,69
<i>Heteranthera reniformis</i>	38,53±7,45	33,76±12,30	28,18±19,68
<i>Eichhornia crassipes</i>	37,51±1,62	37,35±6,79	30,79±27,21

Os resultados são médias ± desvios padrões dos ensaios realizados em triplicata. A análise estatística comprovou que houve diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$). Fonte: Autor (2022).

Os óleos das espécies *H. reniformis* e *E. crassipes* tiveram uma baixa atividade biológica, apresentando as menores taxas de inibição de crescimento do fungo, sendo os melhores resultados obtidos para os óleos diluídos a 50 e 75% da concentração, mesmo que a variação nos valores encontrados seja relativamente baixa, assim como observado para o óleo da espécie *T. domingensis*, que teve uma variação de 30,81 a quase 55% de inibição do crescimento fúngico para as diferentes concentrações.

Esta variação quanto a % de inibição para as diferentes concentrações dos óleos pode ser melhor observada em *E. anagallis*, *A. philoxeroides* e *M. maximus*, onde os maiores valores foram registrados para os testes com 100% da concentração.

A capacidade de inibição de crescimento micelial *in vitro* por algumas espécies de óleos fixos já foi descrita na literatura, como relatado por Passos (2002) que ao investigar a atividade antifúngica do óleo fixo da semente de *Caryocar brasiliensis* sobre *Cryptococcus neoformans*, verificou que houve inibição de 21,1% entre os 23 isolados na concentração de 15,6 µg/ml após 72 horas de incubação.

Outro estudo, realizado por Takano (2007), avaliou o efeito fungitóxico do óleo de mamona sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum lindemuthianum* por um período de 12/12 horas, e observou que a inibição do crescimento micelial foi diretamente proporcional ao aumento das concentrações do óleo. O mesmo foi observado para os óleos fixos de *C. guianensis* e *C. vasquezii*.

De Oliveira (2008) observou que o óleo de *Lippia gracilis* controlou o crescimento dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp. em 80% na concentração de 126 µl/ml a partir do segundo dia, tomando-se crescente, e ao sétimo dia alcançou o patamar máximo de 90%. Já no estudo de Deus (2011), foi encontrada inibição de crescimento em *A. flavus* com óleo de copaíba na concentração de 300 µl/ml.

O óleo fixo da semente de *Nelumbo nucifera* apresentou efeito antifúngico de 68% sobre *Candida albicans* contendo ácidos graxos como seu principal composto químico, com alto teor de ácido palmítico (KHAN 2016).

Bitá (2012), testou a atividade antifúngica do óleo fixo de *Nigella sativa* e os resultados demonstraram inibição variada do crescimento de *Candida* spp., atribuindo esse efeito à presença de altas concentrações dos ácidos graxos linoleico (58,73%) e oleico (21,67%). Estes compostos também podem estar presentes em maior ou igual concentração nos óleos fixos de *E. anagallis*, *A. philoxeroides* e *M. maximus*, conferindo atividade inibitória sobre o fungo *T. versicolor*.

De acordo com Brull e Coote (1999), a composição hidrofóbica dos óleos fixos os adequam a exercer sua ação antifúngica através da desorganização ou do rompimento da membrana celular do microrganismo.

A análise da ação antifúngica de nove ácidos graxos sobre *Alternaria solani*, *Colletotrichum lagenarium*, e *Fusarium oxysporum*, revelou a inibição de do crescimento micelial e germinação de esporos destes fungos, verificando maior eficiência de ácidos graxos saturados quando comparados com insaturados Liu et al. (2008).

Em geral, a eficiência fungicida dos ácidos graxos está associada com o aumento do comprimento da cadeia de carbonos, que causam inativação celular pela ruptura da organização de glicerofosfolípidos dentro da membrana, contudo, o comprimento de cadeia excessivo reduz a sua solubilidade em

sistemas aquosos, enquanto as ligações duplas reduzem a estabilidade termoquímica do composto (KANDEM, 2009).

Portanto, sugere-se que os óleos fixos possam ter atuado por algum destes mecanismos, pois foram capazes de exercer efeito fungicida sobre *T. versicolor*. Entretanto, diversos métodos podem determinar a atividade antimicrobiana, mas as pesquisas têm sido dificultadas pela ausência de métodos precisos e padronizados, já que esta é uma análise que possui diversas variáveis (NASCIMENTO et al., 2007).

Ao avaliar a bioatividade dos óleos fixos da semente e da amêndoa de *C. brasiliensis*, Passos et al. (2002) registrou elevada atividade antifúngica sobre *C. neoformans* var. *neoformans*. Todos os isolados foram inibidos por estes óleos a uma concentração de 1.000 µg/ml, sendo que o óleo fixo da semente, o mais ativo, inibiu 21,1% dos isolados em uma concentração de 15,6 µg/ml, enquanto o óleo fixo da amêndoa foi capaz de inibir 10,5% em uma concentração de 62,5 µg/ml.

Em um estudo realizado por Dauber (2016) realizou-se um *screening* (triagem) com espécies de fungos filamentosos, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*, *Microsporum canis* e *M. gypseum*. No teste foi observado crescimento de todas as espécies avaliadas na presença do óleo de *A. spinescens* na concentração de 256 µg/ml, demonstrando que o óleo desta espécie não apresenta inibição de crescimento de fungos filamentosos. Celoto et al. (2008), avaliaram 20 espécies de plantas e somente os extratos provenientes de espiroaloeira, eucalipto e melão-de-são-caetano obtiveram porcentagem de inibição superior a 50% no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Oliveira et al. (2016) ao avaliar o efeito de óleos e extratos de alecrim-pimenta, cravo-da-índia e eucalipto no crescimento micelial de *C. musae*, verificaram que os óleos de alecrim-pimenta e cravo-da-índia inibiram em 100% o crescimento do fungo nas concentrações de 50µl e 100µl, porém, o óleo de eucalipto não apresentou efeitos favoráveis, não havendo diferença estatística das concentrações com o controle.

As diferenças quantitativas em relação às concentrações inibitórias observadas neste e em outros estudos podem ser justificadas pelos constituintes químicos presentes nos diferentes materiais botânicos analisados. Mecanismos de defesa química das plantas, principalmente em períodos de menor

precipitação de água e maior predação por insetos, podem estar associados aos resultados encontrados. De fato, hidrocarbonetos de cadeia longa acumulados na cera foliar, atuam como os responsáveis pela dissuasão do comportamento forrageador de saúvas, envolvendo-se também na resistência da planta a ataques de microrganismos (SCHOONHOVEN, 1998).

A maior atividade antifúngica dos óleos fixos também pode estar associada com as diferentes partes da plantas utilizadas durante as extrações, por exemplo, a composição química de sementes é constituída por ácidos graxos de natureza saturada, que podem ser ausentes em outras estruturas de uma determinada espécie de planta (ARAUJO, 1995).

Souza (2005) reforça a ideia de que a capacidade de diferentes produtos de origem vegetal em promover a redução ou o crescimento de fungos depende da sua composição química, que é diferente entre as espécies de plantas e influenciada pelas condições culturais, fatores climáticos e estágio de desenvolvimento da planta.

Dessa forma diversos fatores podem influenciar no momento da análise de atividade antimicrobiana, como o tempo que algumas microrganismos demoram para atuar, o comportamento do solvente, o meio de cultura que pode vir a impedir a dispersão adequada do solvente entre outros fatores (NOBRE et al., 2017).

4 Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho foram promissores quanto à atividade antifúngica que os óleos fixos de *E. anagallis*, *A. philoxeroides* e *M. maximus* apresentaram sobre o fungo *T. versicolor*. A atividade foi observada de forma dependente da concentração, indicando maior inibição com os óleos testados sem diluição. Ressalta-se que o óleo proveniente da espécie *A. philoxeroides* foi o que apresentou melhor resultado de inibição fúngica em comparação ao óleo das demais espécies avaliadas.

Os óleos fixos das espécies *H. reniformis*, *E. crassipes* e *T. domingensis*, demonstraram baixa atividade inibitória frente ao fungo *T. versicolor* para as

diferentes concentrações, indicando uma provável resistência desse microrganismo aos óleos testados.

Pode-se atribuir os resultados encontrados a componentes químicos presentes nos óleos. A elucidação dos componentes dos óleos fixos por cromatografia torna-se extremamente relevante para que possamos identificar alguns dos seus compostos e a proporção de cada um, visando descobrir seus componentes majoritários.

Desta forma acredita-se, que mais testes com estes óleos, utilizando outras metodologias para determinação da atividade microbiana, podem ser mais efetivos e trazer resultados distintos do observado, possibilitando que os mesmos sejam utilizados para estudos posteriores mais aprofundados.

3 Considerações finais

Reconhecidamente os compostos obtidos a partir de fontes naturais são um dos principais métodos para a aquisição de moléculas biologicamente ativas. Além da utilização para fins terapêuticos, os compostos de origem natural, também podem atuar como protótipos para a síntese de novas moléculas biologicamente ativas.

Com isto, a busca por compostos bioativos é um processo incessante. No entanto, ainda existe um reduzido aproveitamento da biomassa vegetal produzida nas lagoas de estabilização, onde as plantas necessitam ser retiradas periodicamente para otimizar a remoção de nutrientes. Nesse contexto, alternativas de aproveitamento dessa biomassa excedente podem ser implementadas.

Nesta perspectiva, intensificar pesquisas voltadas para a preservação, conservação e manejo sustentável da biodiversidade é extremamente benéfico para a sociedade e para o meio ambiente. No âmbito de promover alternativas tecnológicas, econômicas e sustentáveis, a biotecnologia se apresenta como modelo funcional na prospecção de novos produtos provenientes da biodiversidade vegetal com alto valor agregado.

Apesar da grande diversidade de macrófitas aquáticas, os estudos envolvendo o isolamento e as propriedades biológicas dos compostos químicos dessas espécies podem ser considerados escassos. Com isto, torna-se atraente a bioprospecção a partir de tais espécies com o intuito de identificar novos compostos assim como as suas propriedades biológicas e também realizar ensaios biológicos com aqueles compostos já identificados anteriormente.

Os resultados apresentados tornam-se relevantes para as espécies estudadas uma vez que são inéditos, demonstrando o potencial destas plantas como fontes para obtenção de compostos com grande potencial biotecnológico. Além disso, este trabalho também contribui para apontar uma possibilidade de aproveitamento da biomassa que integra parte do resíduo gerado nas lagoas de estabilização durante o processo de tratamento.

Referências

ABECITRUS. Disponível em: <www.abecitrus.com.br>. Acessado em: 10 dez. 2008.

AGRA, A. C.; FORTUNA, J. L. Atividade antimicrobiana do óleo fixo de *Allagoptera caudescens* (Mart.) Kuntze sobre bactérias patogênicas. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, Curitiba, v. 2, n. 3, p. 1120-1129, 2019.

AGUIAR, M. F.; CECCONELLO, S. T.; CENTENO, L. N. Saneamento básico versus doenças de veiculação hídrica no município de Pelotas/RS. **Holos**, v.3, n. 35, p. 79-40, 2019.

AMARAL, L.; JAIGOBIND, S. J.; JAIGOBIND, A. G. A. **Óleo de soja**. Instituto de Tecnologia do Paraná. Dossiê técnico apresentado ao Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas, 36 p., 2006.

ANDERSON, L.; FRIED, G.; GUNASEKERA, L.; HUSSNER, A.; NEWMAN, J.; STARFINGER, U.; STIERS, I.; VAN VALKENBURG, J.; TANNER, R. *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, v. 46, p. 8-13, 2016.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANUNCIAÇÃO, K. F.; SOUSA, L. R. D.; AMPARO, T. R.; SOUZA, G. H. B.; VIEIRA, P. M. A.; BREGUEZ, G. S.; MELO, T. M. S. Avaliação da Atividade Antioxidante e Fenóis Totais dos Óleos Extraídos das Sementes de *Moringa oleífera* Lam. **Rev. Virtual Quim**, v. 12, n. 1, p. 148-154, 2020.

ARAUJO, A. K. L. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea* sp.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 177 f. 2010.

ARAUJO, F. D. A review of *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) - An economically valuable species of the Central Brazilian Cerrados. **Economy Botany**, v. 49, p. 40-48, 1995.

ARCHIBALD, F. S.; ADDLEMAN, K. Kraft pulp bleaching and delignification by *Trametes versicolor*. **Journal of Biotechnology**, v. 53, p. 215-236, 1997.
 AZEVEDO NETO, J.M. Novos conceitos sobre eutrofização. **Revista DAE**, v. 48, n. 151, p. 22-28, 1988.

BANDONI, A. L.; CZEPAK, M. P. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil**. Vitória: Edufes, 624p, 2008.

BARROS, A.L. **Morfo-anatomia e teor de nutrientes em três espécies vegetais e cultivadas em sistemas "wetland construído"**. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 70 p., 2005.

BASHAN, N.; KOVSAN, J.; KACHKO, I. Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species. **Physiol Rev.**, v. 89, p. 27-71, 2009.

BAUER, K.; GARBE, D. **Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses**. VHC: Weinheim, 1985.

BERGIER, I. et al. **Cenários de Desenvolvimento sustentável no Pantanal em função de tendências hidroclimáticas**. Corumbá: Embrapa Pantanal, (Embrapa Pantanal, Documentos, 98), 20 p., 2008.

BERGIER, I.; SALIS, M. M.; MIRANDA, C. H. B.; ORTEGA, E.; LUENGO, C. A. Biofuel Production from Water Hyacinth in the Pantanal Wetland. **Ecohydrology & Hydrobiology**, v. 12, p. 77-84, 2012.

BEZERRA, T. P.; SILVA, C. P.; LOPES, J. P. Utilização da macrófita aquática *Egeria densa* PLANCHON, 1849 (Hydrocharitaceae) na produção de tijolos para a construção civil. **Revista Brasileira de Engenharia Pesca**, Maranhão, v. 2, n. 1, p. 113-127, 2007.

BIASI, L.A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora, 2009.

BITA, A. et al. An alternative treatment for *Candida* infections with *Nigella sativa* extracts. **European Journal of Hospital Pharmacy: Science and Practice**, v. 19, p. 162-162, 2012.

BOOTS, A. W.; HAENEN, G. R. M. M.; BAST, A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. **Eur J Pharmacol J.**, v. 585, p 325-37, 2008.

BORGES, Fernanda Cabral. **Estudo do Processamento Termoquímico de Biomassas com Micro-ondas: Pirólise Rápida de Biomassas Residuais e Microalgas.** (Tese de Doutorado em Engenharia Química) Porto Alegre: UFRGS, 2014.

BORSATO, A. V. Rendimento e composição química do óleo essencial da camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] submetida à secagem à 70° C. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 4, p. 635-644, 2007.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL. Empresa De Pesquisa Energética. **Balanço Energético Nacional 2011:** Ano Base 2010. Rio de Janeiro: EPE, 2011. 66 p. Disponível em: <<http://epe.gov.br>>. Acesso em: 12 de jun. 2019.

BRITO, A. V. R. Determinação da composição química e avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial de *Croton linearifolius* (Euphorbiaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Itapetinga, 48 f., 2014.

BRITO, R. M. **Modulação pelos extratos da polpa e do óleo do *Caryocar brasiliense* nas atividades antioxidantes in vitro e antiploriferativa em coculturas de células mononucleares do sangue com células MCF-7.** Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso. 2019.

BRIX, H.; SCHIERUP, H.H. The use of aquatic macrophytes in water. **Pollution control Ambio.** v.15, p. 100-107, 1989.

BRULL, S.; COOTE, P. Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 50, p. 1-17, 1999.

BRUNETON, J. **Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia.** Zaragoza: Editorial Acribia, 1991.

CAMARGO, A. F. M.; HENRY-SILVA, G. G.; PEZZATO, M. M. **Crescimento e produção primária de macrófitas aquáticas em zonas litorâneas**. In: HENRY, R. (Ed.) *Ecótonos nas interfaces dos ecossistemas aquáticos*. São Carlos: Fundibio/Rima, p. 213-232, 2003.

CANCIAN, L. F. **Crescimento das macrófitas aquáticas flutuantes *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta* em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo**. 2007. 54 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2007.

CAPOTE, F. G. **Caracterização e classificação de co-produtos compactados da Biomassa para fins energéticos**. 2012. Dissertação (Mestrado Interinstitucional em Bioenergia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

CARMO, E. S.; LIMA, E.O.; SOUZA, E. L. The potential of *Origanum vulgare* L. (lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, n.2, p. 362-367, 2008.

CARVALHO, J.B. et al. Fungitoxicidade de *Cymbopogon citratus* e *Cymbopogon martinii* a *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de pimentão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.10, n.1, p.88-93, 2008.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; MARTINEZ, N.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 29, p.171-176, 2009.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 1, p. 173-187, 2011.

CASTRO, C. R. T.; GARCIA, R.; CARVALHO, M. M.; FREITAS, V. P. Efeitos do sombreamento na composição mineral de gramíneas forrageiras tropicais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.30, p.1959-1968, 2001.

CELOTO, M. I. B.; PAPA, M. F. S.; SACRAMENTO, L. V. S.; CELOTO, F. J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum**, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008.

CHAMBERS, P. A. (2008) Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, p. 9-26, 2008.

CHEN, H.; VAUGHAN, K. Influence of inundation depth on *Typha domingensis* and its implication for phosphorus removal in the everglades stormwater treatment area. **Wetlands**, Madison, v. 34, n. 2, p. 325-334, 2014.

CORDAZZO, C. V.; SEELINGER, U. **Guia ilustrado da vegetação costeira do extremo sul do Brasil**. Rio Grande (Rio Grande do Sul): Editora da FURG, p. 275, 1988.

COSTA, A. F. Farmacognosia. **Fundação Calouste Gulbenkian**, Lisboa, v. 1, p. 1031, 1994.

COSTA, C. L.; FRANÇA, E. T. de R.; SANTOS, D. S.; COSTA, M. C. P.; BARBOSA, M. do C, L.; NASCIMENTO, M. do D. S. B. Caracterização físico-química de óleos fixos artesanais do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) de regiões ecológicas do estado do Maranhão, Brasil. **Pesquisa em Foco**, São Luís, vol. 20, n. 1, p. 27-38, 2015.

DAUBER, B. **Elucidação dos componentes e avaliação da atividade antiquimiotóxica e antifúngica do óleo da semente de *Acanthosyris spinescens***. Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Porto Alegre, 2016.

DE OLIVEIRA, O.R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, p. 94-100, 2008.

DE SOUZA, T. N.; GALDINO, A. S. Suscetibilidade de larvas do mosquito *Culex quinquefasciatus* após exposição a diferentes óleos. **Conexão Ci.**, Formiga/MG, v. 12, n. 1, p. 86-93, 2017.

DEUS, R.J.A. et al. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, p. 1-7, 2011.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products - A Biosynthetic Approach**. 3 a. John Wiley & Sons Ltd, editor. United Kingdom, p. 166-171, 2009.

DJERIDANE, A.; YOUSFI, M.; NADJEMI, B.; BOUTASSOUNA, D.; STOCKER, P.; VIDAL, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chem.**, v. 97, n. 4, p. 654-60, 2006.

EL-SAYED, A. F. M. Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. **Aquaculture**, v. 179, p. 149-168, 1999.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos da Limnologia**. 2 ed, Rio de Janeiro, Editora Interciência, 602 p., 1988.

ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Ed. Interciência 3 ed., p. 790, 2011.

EVERETTE, J. D.; BRYANT, Q. M.; GREEN, A. M.; ABBEY, Y. A.; WANGILA, G. W.; WALKER, R. B. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 58, p. 8139-8144, 2010.

FARIA, A. D.; AMARAL, M. C. **Pontederiaceae** In: WANDERLEY, M. G. L.; SHEPHERD, G. J.; MELHEM, T. S.; MARTINS, S. E.; KIRIZAWA, M.; GIULIETTI, A. M. (eds.) Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. Instituto de Botânica, São Paulo, v. 4, p. 325-330, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. **5.ed**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2010.

FERREIRA, A. M. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da escola de enfermagem**, São Paulo, vol.46, n.3, p. 752-760, 2012.

FERREIRA, M.T.S.; MAIA-BARBOSA, P.M. O fogo como facilitador da invasão biológica por *Megathyrsus maximus* (Poaceae: Panicoideae) na Terra Indígena Maxakali (MG): propostas para um manejo agroecológico integrado e adaptativo. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 159-174, 2014.

FILIPPIS, F. de M. **Extração com CO2 supercrítico de óleos essencial de Hon-sho e Ho-sho- experimentos e modelagem**. 2001. 114f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

FRANÇA, J. B. A. et al. Eficiência das macrófitas *Eichhornia crassipes* (Aguapé) e *Pistia stratiotes* L. (alface d'água) cultivadas em diferentes materiais no tratamento de efluente sanitário bruto. **Reveng**, Viçosa, v. 20, n. 6, p. 554-563, 2012.

GAO, J.; QUANG, X.; YIN, L.; HE, G. Isolation of cDNA clones for genes upregulated in drought-treated *Alternanthera philoxeroides* root. **Journal Molecular Biology Reports**, v. 35, n. 3, p. 485-488, 2007.

GARCIA, M. S. D.; FERREIRA, M. P. Saneamento Básico: meio ambiente e dignidade humana – **Dignidade Revista**, v. 2, n. 3, p. 12, 2017.

GHAREEB, D. A.; ELAHWANY, A. M. D.; EL-MALLAWANY, S. M.; SAIF, A. A. In vitro screening for anti-acetylcholinesterase, anti-oxidant, anti-glucosidase, anti-inflammatory and anti-bacterial effect of three traditional medicinal plants. **Biotechnol Biotechnol Equip.**, v. 28, n. 6, p. 1155-64, 2014.

GOPALAKRISHNAN, G.; BANUMATHI, B.; SURESH, G. Evaluation of the antifungal activity of natural xanthenes from *Garcinia mangostana* and their synthetic derivatives. **Journal of Natural Products**, v. 60, n. 5, p. 519–524, 1997.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochem Pharmacol.**, v. 49, n. 10, p. 1341-8, 1995.

HALLIWELL, B. Update on Reactive Species and Antioxidants Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life. **Plant Physiol.**, v. 141, p. 312-22, 2006.

HARRIS, D. C. Análise Química Quantitativa. **5ª ed.** Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos S.A., p. 586-587, 2001.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid determination of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**. London, v.22, n.6, p.475-476, 1973.

HENRY-SILVA, G. G. **Utilização de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*) no tratamento de efluentes de piscicultura e possibilidades de aproveitamento da biomassa vegetal**. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura em Águas Continentais) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 79 f., 2001.

HENRY-SILVA, G. G.; CAMARGO, A. F. M. Valor nutritivo de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*) utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 24, n. 2, p. 519-526, 2002.

HENRY-SILVA, G.G.; CAMARGO, A.F.M. Composição química de macrófitas aquáticas flutuantes utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 24, n. 1, p. 21-28, 2006.

HESS, S. C.; ZANINI, P.B.; Estudos químicos e avaliação da atividade antioxidante de *Vernonia scabra*. **X Encontro de iniciação científica da UFMS**. Mato Grosso do Sul, 2008.

IRGANG, B.E.; GASTAL Jr., C.V. de S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS**. Porto Alegre: UFRGS, 1996.

JAHAN, M. S. et al. Pulping and papermaking properties of pati (*Typha*). **Industrial Crops and Products**, London, v. 26, n. 3, p. 259-264, 2007.

KANDEM, S. S. et al. Effect of capric, lauric and α -linolenic acids on the division time distributions of single cells of *Staphylococcus aureus*. **International journal of food microbiology**, v. 128, p. 122-128, 2009.

KERROLA, K.; GALAMBOSI, B.; KALLIO, H. Volatile components and odor intensity of four phenotypes of hyssop (*Hyssopus officinales* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 776-781, 1994.

KHAN, H. et al. GC-MS Analysis of fixed oil from *Nelumbo nucifera* Gaertn seeds: Evaluation of antimicrobial, antileishmanial and urease inhibitory activities. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 38, p. 1168-1173, 2016.

KISSMANN, K.G; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: Basf, Tomo I, 825 p., 1997.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 45, p. 1390-1393, 1997.

LEONG, L. P.; SHUI, G. Na investigation of antioxidante capacity of fruit in Singapore markets. **Food Chem.**, Washington, v. 76, p. 69-75, 2002.

LESSA, M. A., et. al. Antihypertensive effects of crude extracts from leaves of *Echinodorus grandiflorus*. **Fundam.I Clin. Pharmacol.**, v. 22, p. 161-168, 2008.

LEWINSOHN, T.; PRADO, P. I. **Biodiversidade Brasileira: Síntese do Estado Atual do Conhecimento**. São Paulo: Contexto. 176 p. 2002.

LIBERATO, P. S.; LIMA, D. V. T.; SILVA, G. M. B. PANCs - plantas alimentícias não convencionais e seus benefícios nutricionais. **Environmental Smoke**, v. 2, n. 2, p. 102-111, 2019.

LIU, F. F.; ANG, C. Y. W.; SPRINGER, D. Optimization of extraction conditions for active componentes in *Hypericum perforatum* using surface methodology. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 48, p. 3364-3371, 2000.

LIU, S. et al. Biological control of phytopathogenic fungi by fatty acids. **Mycopathologia**, v. 166, p. 93-100, 2008.

LIZCANO, L. J.; BAKKALI, F.; BEGOÑA, R. M.; RUIZ-SANZ, I. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chem.**, v. 119, p. 1566-70, 2009.

LORDÊLO, M.; SILVA, C.; SILVA COSTA, R. A.; SANTANA, S.; GABRIELA, M.; et al. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semin. Ciências Agrárias.**, v. 31, n. 3, p. 669-82, 2010.

MACHADO, B. F. M. T.; JUNIOR, A. F. Óleos Essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cad. acad.**, Tubarão, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

MACHADO, G. C.; CHAVES, J. B. P.; ANTONIASSI, R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Revista Ceres**, v.53, n. 308, p. 463-470, 2006.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA, JR V. F.; MARTINS, J. R.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A.; LAPA, A. J.; VANDERLINDE, F. A.

Croton cajucara as an alternative to traditional medicine in a modern health system, *Phytochem. Pharmacol. II Ser. Recent Prog. Med. Plants*, v. 8, p. 459-475, 2002.

MANHEZI, A. C.; BACHION, M. M.; PEREIRA, A. L. Utilização de ácidos graxos essenciais no tratamento de feridas. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília, v. 61, n. 5, p. 620-629, set-out. 2008.

MARTINS, D. et al. Caracterização química das plantas aquáticas coletadas no reservatório de Salto Grande (Americana-SP). **Planta Daninha**, v. 21, p. 21-25, 2003.

MEDEIROS, A. R. **Estudo da composição química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) do óleo fixo das sementes de abóbora, cuité, jaca, melancia e da casa de cuité**. Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 46 f. 2015.

MEES, J. B. R. **Uso de aguapé (*Eichhornia crassipes*) em sistema de tratamento de efluentes de matadouro e frigorífico e avaliação de sua compostagem**. Dissertação. (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2006.

MENDES, H.C.; SOUZA, E.M.; NETO, J.M.M. Óleo de babaçu: estudo refratométrico e avaliação multivariada do perfil cromatográfico. **Anais da Associação Brasileira de Química**, v.48, n.2, p.82-85, 1999.

MENDES, S. S. et al. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 3, p. 391-397, 2010.

MISHIMA, D. et al. Ethanol production from candidate energy crops: water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). In: **Bioresour Technol.** v. 99, n. 7, p. 2495-500, 2007.

MONDIN, C.A. ***Enydra* in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

MORAES, S. A.; ROMOFF, P.; BUTURI, F. O.; FÁVERO, O. A.; FERREIRA, E. A. Busca por substâncias com potencial antirradicalar em *Hydrocotyle*

leucocephala. **70ª Reunião Anual da SBPC** - UFAL - Maceió / AL - Química / Química Orgânica, 2018.

MORAIS, S. A. L. et al. Análise da madeira de *Pinus oocarpa*: Parte I: estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Revista Árvore**, v. 29, n. 3, p. 461-470, 2005.

MORETTO, E.; FETT, R. **Definição de óleos e gorduras tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998.

NASCIMENTO, H. L. B. **Cultivares de *Panicum maximum* adubadas e manejadas com frequência de desfolhação correspondente a 95% de interceptação luminosa**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 67 f., 2014.

NAVARRETE, A.; WALLRAF, S.; MATO, R. B.; COCERO, M. J. Improvement of essential oil steam distillation by microwave pretreatment. **I&EC Research**, Washington, v. 50, p. 4667-4671, 2011.

NINFALI, P.; ALUIGI, G.; BACCHIOCCA, M.; MAGNANI, M. Antioxidant capacity of extra-virgin olive oils. **Química Jornal da American Oil Chemists' Society**, v. 78, p. 243-7, 2001.

NOBRE, C. B.; SOUSA, E. O.; CAMILO, C. J.; MACHADO, J. F.; SILVA, J. M.; JAIME FILHO, R.; COSTA, J. G. Antioxidative effect and phytochemical profile of natural products from the fruits of “babaçu” (*Orbignia speciosa*) and “buriti” (*Mauritia flexuosa*). **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p.423-429, 2018.

NOBRE, H. S. M. F. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato, frações e óleo essencial da *P. obliquum* Ruiz e Pavon – ESEC Cuniã, Porto Velho, Rondônia. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 6, n. 1, 2019.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. S. Vegetais naturais de antioxidantes. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, E. N.; FERREIRA, M. F.; OLIVEIRA, W. F.; OLIVEIRA, R. R. Estudo bibliográfico das tecnologias utilizadas no tratamento do esgoto e a legislação em vigor no Brasil. **Natural Resources**, v. 9, n. 1, p. 20-27, 2019.

OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternatives to fungicides in the control of banana anthracnose. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.

OLIVEIRA, J. P. M.; OLIVEIRA, J. M. O.; BARRETO, E. S.; SILVA, S. S.; SILVA, S. S.; MARACAJÁ, P. B. Saúde/Doença: as Consequências da Falta de Saneamento Básico - **INTESA – Informativo Técnico Do Semiárido** (Pombal-PB), v.9, n. 2, p. 23-29, 2015.

OLIVEIRA, L. G. S. de. **Aproveitamento energético de resíduos agrícolas: o caso da agroeletricidade distribuída**. Rio de Janeiro: UFRJ, COPPE, 2011.

OLIVEIRA, M.L.M. et al. In vivo topical antiinflammatory and wound healing activities of the fixed oil of *Caryocar coriaceum* Wittm. seeds. **Journal of Ethnopharmacology**, v.129, p.214–219, 2010.

PALMEIRA, G. F. **Tratamento Conjugado de Esgoto Doméstico e Lixiviado de Aterro Sanitário em Lagoas de Estabilização**. TCC (Graduação) - Curso de Química Industrial, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande - PB, 44 p., 2014.

PASSOS, X. S. et al. Antifungal activity of *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) against *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 623-627, 2002.

PASSOS, X. S.; SANTOS, S. D. C.; FERRI, P. H.; FERNANDES, O. D. F. L.; PAULA, T. D. F.; GARCIA, A. C. F.; SILVA, M. D. R. R. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p. 623-627, 2002.

PELLISSARI, G. P.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 70-74, 2010.

PEREIRA, F. J. et al. Mecanismos anatômicos e fisiológicos de plantas de aguapé para a tolerância a contaminação por arsênio. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 29, p. 259-267, 2011.

PEREIRA, M.J. Energia: Eficiência e Alternativas. **Ciência Moderna**, Rio de Janeiro, p. 126, 2009.

PEREIRA, N. P.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; CUNICO, M. Promising new oil derived from seeds of *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert produced in southern Brazil. **Journal Oil Chemists' Society**, v. 85, n. 5, p. 493-494, 2008.

PIETERSE, A. H.; MURPHY, K. **Aquatic weeds and management of nuisance aquatic vegetation**. New York: Oxford University Press, p. 593, 1990.

PINA, E. M. L. **Estudo fitoquímico das cascas da raiz de *Guettarda platypoda* DC. (Rubiaceae)**. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 95 f., 2011.

PINTO, A. C. Immunosuppressive effects of *Echinodorus macrophyllus* aqueous extract. **J. Ethnopharmacol.**, v. 111, p. 435-439, 2007.

PINTO, M. A.; SOUZA, B. S.; FUZETO, I. M. R.; SILVA, L. M. S.; SANTOS, M. X. Utilização da técnica de vermi-compostagem para reutilização de resíduos orgânicos e de macrófitas aquáticas. **Colloquium Exactarum**, v. 12, n. 4, p. 89-100, 2021.

POMELLA, A. W.; BARRETO, R. W.; RAGHAVAN, C. *Nimbya alternantherae* a potential biocontrol agent for alligatorweed, *Alternanthera philoxeroides*. **Journal Biocontrol**, v. 52, n. 2, p. 271-288, 2007.

PROBIO H. P. **O que são Macrófitas Aquáticas**. 2018. Disponível em: <http://www.ufscar.br/~probio/info_macrof.html> Acesso em: 3 de agosto de 2020.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena dentata* (Willd) M. Roam. (Rutaceae) against the chikungunya vector, *Aedes aegypti* Linn. (Diptera: Culicidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, p. 107-109, 2010.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 372 p., 1997.

Rocha, A. E. S. **Riqueza e abundância de Poaceae em savanas do estuário amazônico, Brasil**. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural da Amazônia. 110 f., Belém, 2012.

ROCHA, M. S.; FIGUEIREDO, R. W. D.; ARAÚJO, M. A. D. M.; MOREIRA-ARAÚJO, R. S. D. R. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 933-941, 2013.

RODELLA, R. A.; COSTA, N. V.; COSTA, L. D. N. C.; MARTINS, D. Diferenciação entre *Egeria densa* e *Egeria najas* pelos caracteres anatômicos foliares. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 211-220, 2006.

RODRIGUES, M. E. F. **Levantamento florístico e distribuição de macrófitas aquáticas na Represa Guarapiranga**. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica. São Paulo, Brasil. 217 p., 2011.

ROGINSKY, V.; LISSI, E. A. Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. **Food Chem**, v. 92, p. 235-254, 2005.

RUFINO, M. S. M. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-tradicional tropical frutas from Brazil. **Food Chem.**, Washington, v. 121, p. 996-1002, 2010.

RUFINO, M. S. M. et al. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. Comunicado Técnico *On line* Embrapa 125. Fortaleza, CE. Dezembro, 2006.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em frutas pela captura do Radical Livre DPPH**. Comunicado Técnico 127, 1ª ed. *on line*. Embrapa, Fortaleza, CE. 2007.

SALES, C. H. et al. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. **Mini reviews in medicinal chemistry**. v. 13, n. 2, p. 201-210, 2013.

SAMPAIO, E. V. S. B.; OLIVEIRA, N. M. B. Aproveitamento da macrófita aquática *Egeria densa* como adubo orgânico. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 23, n. 2, p. 169-174, 2005.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, v.8, p.121-137, 2002.

SANDIM, T. A. **Análise fitoquímica e avaliação do efeito antioxidante do extrato metanólico das flores de *Alternanthera paronichioides***. Dissertação (mestrado em biotecnologia) – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 57 f. 2014.

SANTOS, K. R.; PEREIRA, M. P.; FERREIRA, A. C. G.; RODRIGUES, L. C. A.; CASTRO, E. M.; CORRÊA, F. F.; PEREIRA, F. J. *Typha domingensis* Pers. responses to leaf anatomy and photosynthesis as influenced by phosphorus. **Aquat. Bot.**, v. 122, p. 47-53, 2015.

SANTOS, M. F. G. **Qualidade e potencial funcional da porção comestível e do óleo de frutos de palmeiras nativas oriundas do Amapá**. Tese (Doutorado em Agronomia) – Centro de Ciências Agrárias. 170 f. UFPB, Areia - PB, 2012.

SBF (Sociedade Brasileira de Farmacognosia). **Óleos fixos e ceras**. Apostila de Aula Prática de Farmacognosia UFBA. SBFgnosia. 2017. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/oleos_fixos_e_ceras.html>. Acesso em: 10/01/2022.

SCHNEIDER, I.A.H.; RUBIO, J. **Plantas Aquáticas: adsorventes naturais para a melhoria da qualidade das águas**. XIX Prêmio Jovem Cientista, 2003. Água: Fonte de Vida, 2003. 16p.

SCHOONHOVEN, L. M.; JEREMY, T.; VAN LOON, J. J. A. **Insect-Plant Biology from Physiology to Evolution**. Chapman & Hall, London, 1998.

SCÓTTA, J. **Avaliação e otimização de uma estação de tratamento de esgoto com sistema fossa e filtro de um município da Serra Gaúcha**. Monografia, Centro Universitário UNIVATES, Centro de Ciências Exatas e Tecnologias - Curso de Engenharia Ambiental, Lajeado, 83 f., 2016.

SERAFINI, L. A.; CASSEL, E. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001.

SHALABY, E. A.; SHANAB, S. M. M. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. **African J Pharm Pharmacol**, v. 7, n. 10, p. 528–39, 2013.

SIANI, A. C. Óleos essenciais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, p. 38-43. Brasil. 2000.

SILVA, M. C. D. **Obtenção e avaliação térmica do corante natural bixina a partir das sementes de urucum (*Bixa orellana* L.)**. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2005.

SILVA, S. L.; CHAAR, J. S.; FIGUEIREDO, P. M. S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *Casearia sylvestris* Sw on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazônica**. Manaus. v. 38, n. 1, 2008.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S.; COSTA JR., E. F. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (orgs.). **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: UFRGS. Florianópolis: UFSC. 1.102 p., 2007.

SINGH, S.; SINGH, R. P. Methods of Assay of Antioxidants: An Overview. **Food Rev Int.**, v. 24, n. 4, p. 392–415, 2008.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BARROS, A. F.; BRAGA, F. M. S. Effects of floating macrophyte cover on the water quality in fishpond. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 25, n. 1, p. 101-106, 2003.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; BRAGA, F. M. S. Constructed wetland in wastewater treatment. **Acta Sci. Biol. Sci.**, Maringá, v. 3, n. 30, p. 261-26, 2008.

SNIS. **Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento**. Diagnóstico dos Serviços de Água e Esgoto - Brasília: SNSA/MCIDADES, 2016.

SOARES, M.; WELTER, L.; KUSKOSKI, E. M.; GONZAGA, L.; FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008.

SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMONRAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutation Research**, v. 579, n. 1-2, p. 200-13, 2005.

SOUSA, C. M. M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; LOPES, N. P. **Farmacognosia**: Coletânea Científica. Ouro Preto: UFOP, 2011.

SOUZA, S. M. **Atividade antibacteriana de cumarinas naturais e derivados**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. R. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.11, v.3, p.16-21, 1999.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

STRAZZERA, G.; BATTISTA, F.; GARCIA, N. H.; FRISON, N.; BOLZONELLA, D. Volatile fatty acids production from food wastes for biorefinery platforms: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 226, n. August, p. 278–288, 2018.

TAKANO, E.H. et al. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergente derivado de óleo da mamona (*Ricinus communis*). **Ciência Rural**, v. 37, p. 1235-1240, 2007.

TANAKA, H. et al. Hydroxyl radical generation by an extracellular low molecular weight substance and phenol oxidase activity during wood degradation by the white rot basidiomycete *Trametes versicolor*. **Journal of Biotechnology**, v. 75, n. 1, p. 57-70, 1999.

TANGVARASITTICHA, S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. **World J Diabetes**, v. 6, n. 3, p. 456–80, 2015.

TARGINO, K. C. F.; SILVA, F. F. M. **Rendimento e análise físico-química do óleo extraído das sementes do pinhão bravo (*Jatropha mollissima* Muell. Arg.)**. In: IX Congresso de Iniciação Científica do IFRN. 2013.

TAVARES, S. R. L.; SANTOS, T.E. Uso de diferentes fontes de biomassa vegetal para produção de biocombustíveis sólidos. In: **HOLOS**, Ano 29, Vol. 5, 2013.

TÉLLEZ, T. R. et al. The Water Hyacinth, *Eichhornia crassipes*: an invasive plant in Guadiana River Basin, (Spain). **Aquatic Invasions**, v. 3, n. 1, p. 42- 53, 2008.

TERPINC, P.; CEH, B.; ULRIH, N. P.; ABRAMOVIČ, H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. **Ind Crop Prod.**, v. 39, p. 210-7, 2012.

THOMAZ, S.M.; BINI, L.M. **Ecologia e Manejo de Macrófitas Aquáticas**. Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, p. 87-126, 2003.

TOHMA, H. S.; GULÇIN, I. Antioxidant and Radical Scavenging Activity of Aerial Parts and Roots of Turkish Liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). **Int J Food Prop.**, v. 13, n. 4, p. 657-71, 2010.

TOPAN, J. F. **Emulsão à base de óleo de girassol (*Helianthus annus* L.) com cristal líquido: avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 94 f., 2012.

TRINDADE, C. R. T.; PEREIRA, S. A.; ALBERTONI, E. F.; PALMA-SILVA, C. Caracterização e importância das macrófitas aquáticas com ênfase nos ambientes límnicos do Campus Carreiros - FURG, Rio Grande, RS. **Cadernos de Ecologia Aquática**, v. 5, n. 2, p. 1-22, 2010.

TRINDADE, C. R. T.; PEREIRA, S. A.; ALBERTONI, E. F.; PALMA-SILVA, C. Caracterização e importância das macrófitas aquáticas com ênfase nos ambientes límnicos do campus Carreiros - FURG, Rio Grande, RS. **Cadernos de Ecologia Aquática**, v. 5, n. 2, p. 1-22, 2010.

ULLAH, A.; KHAN, A.; KHAN, I. Diabetes mellitus and oxidative stress - A concise review. **Saudi Pharm J.**, v. 24, p. 547–53, 2016.

UTTARA, B.; SINGH, A. V.; ZAMBONI, P.; MAHAJAN, R. T. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. **Curr Neuroparmacol**, v. 7, p. 65-74, 2009.

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T. D.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol.**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VIEIRA, F. F.; **Análise de óleos vegetais**. 1994. 45 f. Universidade Estadual da Paraíba - UEPB, Campina Grande, 1994.

WANNES, W. A. et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle(*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n.5, p. 1362-1370, 2010.

YUSOFF, Z. M.; NORDIN, M. N. N.; RAHIMAN, M. H. F.; ADNAN, R.; TAIB, M. N. Characterization of down-flowing steam distillation system using step test analysis. **IEEE CSGRC**, New York, p. 197-201, 2011.

ZOCCA, L. C. **Otimização do processo de extração do óleo de polpa de pequi (*Caryocar brasiliense*)**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal do Mato Grosso. 2018.

Anexos

Anexo A – Documento contendo as identificações botânicas das espécies de macrófitas aquáticas que incorporaram o presente estudo



IDENTIFICAÇÃO DE PLANTAS VASCULARES
 Profa. Dra. Raquel Lüdtke - SIAPE 1652450
 Universidade Federal de Pelotas
 Instituto de Biologia / Departamento de Botânica



Beneficiado: Lucas Reinaldo Wachholz Romano

Curso / Instituição: Mestrando do Programa de Pós-Graduação em
 Ciências Ambientais | UFPel

Material botânico identificado:

Cód.	Espécie	Família
1	<i>Enydra anagallis</i> Gardner	Asteraceae
2	<i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	Amaranthaceae
3	<i>Megathyrsus maximus</i> (Jacq.) B.K.Simon & S.W.L.Jacobs	Poaceae
4	<i>Typha domingensis</i> Pers.	Thyphaceae
5	<i>Heteranthera reniformis</i> Ruiz & Pav.	Pontederiaceae
6	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms	Pontederiaceae

Observações: o código foi o utilizado no arquivo .doc e as identificações foram realizadas através de fotos encaminhadas pelo solicitante. A planta número 3 foi identificada com base em uma exsicata e informações adicionais prestadas pelo solicitante.

Data: 05/03/2021

Profa. Raquel Lüdtke
 raquelludtke28@gmail.com