



II COLÓQUIO NACIONAL DE PLANTAS AROMÁTICAS E MEDICINAIS

Vila das Caldas do Gerês
Terras de Bouro
28 e 29 de Setembro de 2007

Actas

Quantificação e caracterização do óleo essencial de *Mentha pulegium*

Patrícia Monteiro¹, Orlanda Póvoa², Leandra Rodrigues¹, Ana Monteiro¹, Margarida Moldão Martins¹ e Ana Cristina Figueiredo³

¹Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal, anamonteiro@isa.utl.pt

²Escola Superior Agrária de Elvas, Rua de Alcamim, nº19, 7350-903 Elvas, Portugal, opovoa@esaelvas.pt

³Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, DBV, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal, acsf@fc.ul.pt

Resumo

O poejo (*Mentha pulegium* L.), pertencente à família *Lamiaceae*, possui um elevado teor em óleos essenciais, que lhe confere importantes propriedades aromáticas e medicinais.

No presente estudo, quantificou-se e caracterizou-se o óleo essencial de uma população de *M. pulegium* ao longo do seu ciclo de vida. Neste período, o rendimento em óleo essencial de *M. pulegium* apresentou uma variação sazonal bem marcada. O máximo de rendimento em óleo essencial, obtido por hidrodestilação, observou-se no período de plena floração (2,78%) e um mínimo durante o período de pós-floração (0,36%). A análise da composição química do óleo essencial de *M. pulegium*, por GC e GC-MS, revelou que a pulegona é a sua principal componente até à fase da floração, sendo gradualmente substituída por outros compostos, como a isomentona, a mentona, o mentol e o acetato de mentilo, no período de pós-floração.

Palavras-chave: *Lamiaceae*, poejo, composição química

Abstract

Title: Chemical characterization and quantification of the essential oil of *Mentha pulegium*

Pennyroyal (*M. pulegium* L.) is a member of the *Lamiaceae* family. This species has special interest due to its high content in essential oils, which gives it important aromatic and medicinal properties.

The present study was carried out with the aim of quantifying and characterizing *M. pulegium* essential oils at different stages of its development.

The quantitative analysis of the essential oil, obtained by hydrodistillation, revealed a maximum yield of 2.78% at full flowering, with a minimum yield at post flowering (0.36%). The chemical composition of *M. pulegium* essential oils, analysed by GC and GC-MS, showed pulegone as the main component at the flowering phase, which was gradually substituted by other compounds, like isomenthone, menthone, menthol and menthyl acetate, at the post-flowering phase.

Keywords: *Lamiaceae*, Pennyroyal, essential oil composition

Introdução

As espécies pertencentes à família *Lamiaceae* (Labiadas), na qual se inclui o poejo (*Mentha pulegium* L.), produzem uma grande variedade de compostos secundários, mas são especialmente conhecidas pelos seus óleos essenciais, que lhes conferem importantes propriedades aromáticas e medicinais (Harley *et al.*, 2004).

Dado que estas plantas constituem uma significativa parcela da flora portuguesa, ao seu interesse biológico junta-se um apreciável valor económico, uma vez que os óleos essenciais são muito usados em perfumaria, cosmética, indústria alimentar, preparações farmacêuticas e indústria química (Cardoso do Vale, 1983). No que respeita a *M. pulegium* torna-se imperativo salientar o facto do seu óleo essencial poder, no entanto, conduzir a efeitos tóxicos, particularmente de natureza abortiva, quando administrados em grandes quantidades. Tal acontece, porque o óleo é fundamentalmente constituído por pulegona, que é um composto com características tóxicas (Duke, 1985; Hanrahan, 2001). Na Directiva 88/388/CEE de 22 de Junho de 1988 o teor máximo em pulegona recomendado em géneros alimentícios e bebidas é de 25 e 100mg kg⁻¹, respectivamente.

O rendimento e a composição química dos óleos essenciais são muito imprevisíveis, devido quer a factores intrínsecos, inerentes à constituição genética, quer a factores externos, dependentes das condições ecológicas e ambientais em que as plantas se desenvolvem (Van den Broucke, 1983). Ensaio realizados com plantas do género *Mentha* L., cultivadas experimentalmente sob condições controladas, mostraram que os principais factores que influenciaram a composição química e o rendimento dos óleos essenciais foram a temperatura, as disponibilidades hídricas e o número diário de horas de luz. Um rendimento elevado em óleo estava relacionado com temperaturas mais elevadas, dias longos e teor de água no solo baixo (Burbott & Loomis, 1967; Clark & Menary, 1979; Charles *et al.*, 1990; Voirin *et al.*, 1990; Kokkini, 2004).

Diversos estudos com *M. pulegium* também evidenciaram que a composição do óleo essencial variava quer quanto ao tipo de compostos químicos quer nas respectivas proporções, entre as diversas partes da planta e ao longo do ciclo vegetativo (Stengele & Stahl-Biskup, 1993; Agnihotri *et al.*, 2005). Lawrence (1980), pela análise do óleo essencial de várias populações silvestres de *M. pulegium*, concluiu que a composição do óleo essencial podia também variar entre populações e os resultados que obteve permitiram-lhe diferenciar alguns quimiotipos. Diversos autores estudaram o óleo essencial de *M. pulegium* e a maioria identificou a pulegona como o seu principal constituinte (Vasconcellos, 1949; Skrubis, 1972; Proença da Cunha *et al.*, 1976; Montes *et al.*, 1986; Burzaco-Vidaurreta *et al.*, 1992; Müller-Riebau *et al.*, 1995; Sivropoulou *et al.*, 1995; Müller-Riebau *et al.*, 1997; Lorenzo *et al.*, 2002; Agnihotri *et al.*, 2005). Todavia, outros autores identificaram como constituintes principais do óleo essencial de poejo a isomentona e a pulegona (Bigo de Grosso & Moyna, 1985), a piperitona (Zwaving & Smith, 1971), o mentol e a mentona (Carvalho, 1994), a isomentona e a mentona (Sivropoulou *et al.*, 1995), o neoisomentol e a pulegona (Pino *et al.*, 1996), a pulegona e o isopulegol (Trigo, 1997; Trigo *et al.*, 1997), a pulegona e a mentona (Chalchat *et al.*, 2000; Aghel *et al.*, 2004), a pulegona, a piperitenona e a isomentona (Stoyanova, 2005). Müller-Riebau *et al.* (1997) estudaram a variação sazonal da composição química dos óleos essenciais de populações silvestres de *M. pulegium*, originárias da Turquia, e verificaram que a pulegona atinge a sua maior concentração no mês de Junho.

Neste trabalho pretendeu-se quantificar e caracterizar o óleo essencial de uma população de *M. pulegium*, oriunda do Alentejo, ao longo do seu ciclo vegetativo, de

modo a compreender de que forma evolui o rendimento e a composição do óleo essencial ao longo do ciclo de vida deste *taxa*. Pretendeu-se ainda averiguar a possibilidade de definir épocas de colheita de forma a obter material vegetal com maior teor em óleos essenciais rendimento, mas com menor quantidade de compostos tóxicos.

Material e métodos

Material vegetal. Este estudo foi baseado numa população de *M. pulegium*, colhida no seu habitat natural e mantida em cultura, na Escola Superior Agrária de Elvas (Alentejo), de onde foram retiradas amostras da parte aérea, em diversas épocas do ciclo vegetativo, de forma a acompanhar o rendimento e composição do óleo essencial ao longo do ciclo. Cada amostra é constituída por folhas e flores de, pelo menos, 15 indivíduos da população, escolhidos aleatoriamente. O material vegetal foi seco em estufa a 35°C, ao abrigo da luz, durante 48h e depois conservado em sacos de papel, à temperatura ambiente.

Quantificação e caracterização dos óleos essenciais: Os óleos essenciais foram isolados, por hidrodestilação durante 1h, num aparelho de Clevenger. A caracterização química foi obtida por GC e GC-MS, de acordo com Faleiro *et al.* (2005). A identidade dos compostos foi determinada por comparação dos seus índices de retenção, em relação aos dos *n*-alcanos C₈-C₂₄ e espectros de massa, com os de padrões comerciais e compostos de referência presentes em óleos existentes no laboratório e por comparação com uma biblioteca de espectros de massa desenvolvida no laboratório.

Resultados

Nas diversas épocas do ciclo vegetativo amostradas, a população de *M. pulegium* estudada apresenta variações sazonais bem marcadas no que respeita ao rendimento em óleo essencial (Quadro 1). No período de plena floração (Julho) observou-se um máximo de rendimento (2,78%) e no período de pós floração (Novembro) o valor mínimo de 0,36%.

No Quadro 1 apresentam-se todos os compostos identificados por GC e GC/MS, nas cinco datas de colheita. Foram identificados 27 compostos, que correspondem a 97-98% das amostras totais. A maioria dos compostos pertence ao grupo dos monoterpenos oxigenados (93-95%). Ao longo do período considerado observaram-se variações no teor dos principais componentes do óleo essencial. O teor de pulegona aumentou até à fase de floração (Julho), atingindo o valor máximo de 60%, e depois decresceu na fase de pós- floração. O teor de isomentona alcançou um valor máximo em Abril (29%), mas decresceu para valores muito reduzidos durante o resto do ciclo vegetativo. O teor de mentona aumentou progressivamente durante o ciclo vegetativo de 19 para 33%, tal como os teores de mentol e de acetato de mentilo, compostos quase inexistentes no início, que no final correspondiam a 12% e a 7%, respectivamente (Fig. 1).

Discussão

As análises quantitativas dos óleos essenciais revelaram que o rendimento em óleo essencial é mais elevado na fase da floração. Estes resultados estão de acordo com outros estudos, mostrando uma forte correlação entre o rendimento em óleo e o ciclo vegetativo e reprodutivo da planta (Müller-Riebau *et al.*, 1997; Kofidis *et al.*, 2004).

À semelhança dos resultados obtidos anteriormente por Vasconcellos (1949),

Skrubis (1972), Proença da Cunha *et al.* (1976), Montes *et al.* (1986), Burzaco-Vidaurreta *et al.* (1992), Müller-Riebau *et al.* (1995), Sivropoulou *et al.* (1995), Müller-Riebau *et al.* (1997), Lorenzo *et al.* (2002) e Agnihotri *et al.* (2005), também neste trabalho a pulegona foi identificada como o principal componente do óleo essencial de *M. pulegium*, durante grande parte do ciclo vegetativo. No entanto, verificou-se que, no período de pós floração, a pulegona é gradualmente substituída por outros compostos, nomeadamente, mentol e acetato de mentilo.

Embora o poejo na fase de pós floração possua um reduzido teor em óleos essenciais, as características qualitativas do seu óleo essencial tornam-no mais interessante para utilização na indústria alimentar, pois é neste período que o nível de pulegona é menor, reduzindo os riscos de toxicidade. Assim sendo, torna-se evidente que a data de colheita de material vegetal para extracção de óleos essenciais depende dos fins a que estes se destinam.

Agradecimentos

Ao Programa Agro - Medida 8 - Desenvolvimento Tecnológico e Demonstração – Acção 8.1 – Desenvolvimento Experimental e Demonstração (DE&D) pelo financiamento do Projecto 522 “Conservação de Germoplasma, produção e utilização dos taxa *Mentha pulegium*, *Mentha cervina* e *Thymbra capitata*”.

Referências

- Aghel, N., Yamini, Y., Hadjiakhoondi, A. & Pourmortazavi, S.M. 2004. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta* 62, 407-411.
- Agnihotri, V. K., Agarwal, S. G., Dhar, P. L., Thappa, R. K., Baleshwar, Kapahi, B. K., Saxena, R. K. & Qazi, G. N. 2005. Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Fragr. J.* 20: 607-610.
- Bigo de Grosso, M. & Moyna, P. 1985. Composicion química de las essencias de *Mentha* del Uruguay. *Anales de la Real Academia de Farmácia* 51, 333- 338.
- Burbott, A. J. & Loomis, W. D. 1967. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. *Plant Physiol.* 42, 20-28.
- Burzaco-Vidaurreta, A., Perez-Alonso, M.J. & Velasco-Negueruela, A. 1992. Study of mints containing pulegone: *Mentha pulegium* L. and *Mentha cervina* (L.) Fresen. using thin layer chromatography *Bot. Complutensis* 17, 79-85.
- Cardoso do Vale, J. B. 1983. Contribuição da investigação portuguesa para o estudo de plantas aromáticas e de seus óleos essenciais. 1as Jornadas Nacionais de Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais. Coimbra, 17 a 19 de Novembro. *Plantas Aromáticas. Óleos Essenciais.* 15-53.
- Carvalho, J.S. 1994. Qualidade fragante e potencialidades de arbustivas espontâneas das Serras de Aire e Candeeiros. *Silva Lusitana* 2(2), 193-206.
- Chalchat, J.C., Gorunovic, M.S., Maksimovic, Z.A. & Petrovic, S.D. 2000. Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *J. Essent. Oil Res.* 12 (5), 598-600.
- Charles, D. J., Joly, R. J. & Simon, J. E. 1990. Effects on osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry* 29, 2837-2840.
- Clark, R. J. & Menary, R. C. 1979. Effects of photoperiod on the yield and composition of peppermint oil. *J. American Soc. Hort. Sci.* 104, 699-702.
- Duke, J. A. 1985. *Handbook of Medicinal Herbs*. CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida.

- Hanrahan, C. 2001. Pennyroyal. In: Gale Encyclopedia of Alternative Medicine. Gale Group.
- Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P.D., Conn, B. J., Grayer, R., Harley, M. M., De Kok, R., Krestovskaja, T., Morales, R., Paton, A. J., Ryding, O. & Upson, T. 2004. *Labiatae*. In: The Families and Genera of Vascular Plants. K. Kubitzki (ed.). Volume VII – Flowering plants, dicotyledons: Lamiales (except Acanthaceae includins Avicenniaceae). J. W. Kadereit (ed.). Springer, Germany, Berlin.
- Kokkini, S. 2004. Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. J. Essent. Oil Res. 16 (6), 588-593.
- Kofidis G, Bosabalidis A & Kokkini S. 2004. Seasonal variation of essential oils in a linalool ric chemotype of *Mentha spicata* grown wild in Greece. J. Essent. Oil Res. 16, 469 472.
- Lawrence, B.M. 1980. The existence of intraspecific differences in specific genera in the *Labiatae* family. VIIIe Congrès International des Huiles Essentielles. Cannes Grasse, Octobre. Annales Technique. 118 131.
- Lorenzo, D., Paz, D., Dellacassa, E., Davies, P., Vila, R. & Cañigüeral, S. 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. Brazilian Archives of Biology and Technology 45 (4), 519-524.
- Montes, M., Valenzuela, L., Wilkomirsky, T. & Niedmann, C. 1986. Determination de la pulegone dans l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. originaire du Chili. Annales Pharmaceutiques Françaises 44, 133-136.
- Müller-Riebau, F., Berger, B. & Yegen, O. 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. J. Agric. Food Chem. 43, 2262 2266.
- Müller-Riebau, F. J., Berger, B., Yegen, O. & Cakir, C. 1997. Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. J. Agric. Food Chem. 45, 4821 4825.
- Pino, J. A., Rosado, A. & Fuentes, V. 1996. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Cuba. J. Essent. Oil Res. 8 (3), 295-296.
- Proença da Cunha, A., Roque, R & Cardoso do Vale, J. 1976. Estudo cromatográfico e químico do óleo essencial de *Mentha pulegium* L. de Angola. Boletim da Faculdade de Farmácia de Coimbra. 1, 23-36.
- Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T. & Arsenakis, M. 1995. Antimicrobial activity of mint essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43, 2384-2288.
- Skrubis, B. G. 1972. Seven wild aromatic plants growing in Greece and their essential oils. Flavour Industry 3, 566-571.
- Stengele, M., Stahl-Biskup, E. 1993. Seasonal variation of the essential oil of european pennyroyal (*Mentha pulegium* L.). In International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants. D.Palevitch & E. Putievsky (eds). Tiberias on the Sea of Galilee, Israel, March 22-25. Acta Hort. 344, 41-51.
- Stoyanova, A. 2005. Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria. J. Essent. Oil Res. 17 (5), 475-476.
- Trigo, R.J.S. 1997. Estudo comparativo de processos de extracção de aroma de Poejo (*Mentha pulegium*). Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agro-Industrial. UTL, ISA, Lisboa.
- Trigo, R., Moldão-Martins, M. & Beirão-da-Costa, M.L. 1997. Estudo comparativo de processos de extracção de aroma de poejo (*Mentha pulegium*). In Actas do 3º Encontro de Química de Alimentos. Sociedade Portuguesa de Química / Escola

- Superior de Tecnologia da Universidade do Algarve, 23 a 26 de Março, Faro, Portugal, pp. 349-351.
- Van den Broucke, C. O. 1983. The therapeutic value of *Thymus* species. *Fitoterapia* 54 (4), 171-174.
- Vasconcellos, J. C. 1949. Plantas Medicinais e Aromáticas. Ministério da Economia, Direcção Geral dos Serviços Agrícolas.
- Voirin, B., Brun, N. & Bayet, C. 1990. Effects of day length on the monoterpene composition of leaves of *Mentha piperita*. *Phytochemistry* 29, 749-755.
- Zwaving, J.H. & Smith, D. 1971. Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*. *Phytochemistry* 10(8), 1951-1953.

Quadros e figuras

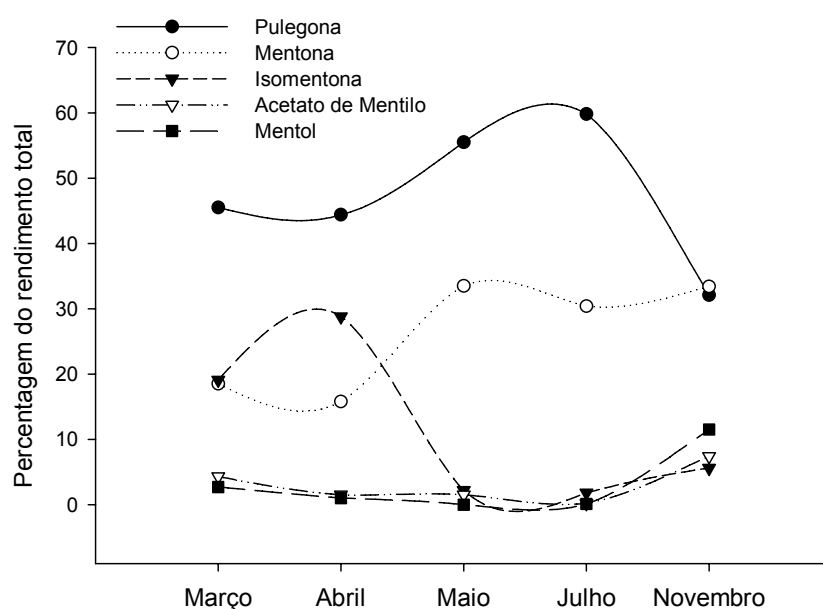


Figura 1. Evolução dos principais componentes do óleo essencial de *M. pulegium* (%) ao longo do ciclo vegetativo.

Quadro 1. Evolução da composição percentual do óleo essencial isolado de *M. pulegium* em cultura. v: vestigial (<0,05%)

Componentes	Data				
	Março	Abril	Maio	Julho	Novembro
α -Pineno	0,2	0,3	0,2	0,6	v
Canfeno	v	v	v	v	v
Sabineno	v	v	v	0,1	v
β -Pineno	0,3	0,3	0,2	0,5	v
3-Octano-1-ol	v	v	v	0,1	v
Mirceno	v	v	v	0,6	v
1,8-Cineol	0,4	0,3	0,1	0,2	v
Limoneno	0,4	0,3	0,1	0,2	v
Acetato de 3-octanol	v	0,3	v	0,1	v
Mentona	18,5	15,8	33,5	30,4	33,4
Isomentona	19,1	28,8	2,2	1,8	5,6
Mentofurano	0,7	0,6	0,7	0,6	1,4
Isopulegona	0,7	0,6	0,7	0,6	1,4
Mentol	2,7	1,0	v	0,1	11,5
Terpineno-4-ol	v	0,8	v	v	v
α -Terpineol	v	v	v	0,1	v
Mirtenol	v	v	v	v	v
Pulegona	45,5	44,4	55,5	59,8	32,1
Piperitona	v	v	v	0,2	v
Acetato de mentilo	4,3	1,5	1,5	0,2	7,4
Acetato de isomentilo	0,8	1,0	v	0,4	v
Piperitenona	1,4	0,3	1,0	0,2	v
β -Bourboneno	v	0,7	v	v	v
β -Cariofileno	0,5	0,3	v	0,1	3,0
α -Humuleno	0,4	0,4	0,1	0,1	v
Óxido de β -cariofileno	0,6	0,3	0,3	0,4	0,8
Epóxido de humuleno	0,8	0,5	1,0	0,3	v
Grupos químicos					
Hidrocarbonetos monoterpénicos	0,9	0,9	0,6	2,1	v
Monoterpenos oxigenados	94,0	95,1	95,1	94,6	92,8
Hidrocarbonetos sesquiterpénicos	0,9	1,4	0,1	0,2	3,0
Sesquiterpenos oxigenados	1,4	0,8	1,3	0,8	0,8
Outros	v	0,3	v	0,2	v
% Identificação	97,2	98,4	97,1	97,8	96,6
Rendimento (%)	0,48	1,0	2,12	2,78	0,36