



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS ARAPIRACA
UNIDADE DE ENSINO PENEDO
BACHARELADO EM ENGENHARIA DE PESCA

LEILANE DO CARMO SANTOS

**TOXICIDADE E O EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha piperita*) EM JUVENIS DE CURIMATÃ-PACU
(*Prochilodus argenteus*).**

PENEDO-AL
2022

LEILANE DO CARMO SANTOS

**TOXICIDADE E O EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha piperita*) EM JUVENIS DE CURIMATÃ-PACU
(*Prochilodus argenteus*).**

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC
apresentado à Universidade Federal de
Alagoas – UFAL, Campus Arapiraca –
Unidade Educacional Penedo, como pré-
requisito para a obtenção do grau de
Bacharel em Engenharia de Pesca.

Orientador: Profº. Drº. Diogo Bessa Neves
Spanghero

PENEDO-AL
2022



Universidade Federal de Alagoas – UFAL
Campus Arapiraca
Unidade Educacional Penedo
Biblioteca Setorial Penedo-BSP

- S237t Santos, Leilane do Carmo
Toxicidade e o efeito anestésico do óleo essencial de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em juvenis de curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*) / Leilane do Carmo Santos. – Penedo, AL, 2022.
35 f.: il.
- Orientador(a): Prof. Dr. Diogo Bessa Neves Spanghero.
Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal de Alagoas, Campus Arapiraca, Unidade Educacional Penedo, Penedo, AL, 2022.
Disponível em: Universidade Digital (UD) – UFAL (Campus Arapiraca).
Referências: f. 30-35.
1. Óleo essencial – *Mentha piperita*. 2. Toxicidade. 3. Curimatã-pacu. 4. Aquicultura - Pesca. I. Spanghero, Diogo Bessa Neves. II. Título.
- CDU 639.2



ATA DA 137ª DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos vinte e dois dias do mês de fevereiro de 2022, o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado **TOXICIDADE E O EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ-PIMENTA (*Mentha piperita*) PARA JUVENIS DE CURIMATÃ-PACU (*Prochilodus argenteus*)**, foi apresentado pela acadêmica **LEILANE DO CARMO SANTOS**, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheira de Pesca desta Instituição Federal de Educação Superior. Após abertura dos trabalhos pelo Prof. Dr. Diogo Bessa Neves Spanghero, que presidiu a sessão, o Trabalho foi submetido à avaliação pela banca examinadora, designada pelo Colegiado do Curso de Bacharelado em Engenharia de Pesca, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Diogo Bessa Neves Spanghero (Orientador), Prof. Dr. Luciano Jorge Amorim Leite (Avaliador Interno - UFAL) e Prof. Dr. José Luiz Pedreira Mourino (Avaliador Externo - UFSC). Após análise pela banca examinadora, o Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado **APROVADO**, tendo obtido nota: 9,25 (Nove inteiros e vinte cinco décimos).

Documento assinado digitalmente
gov.br Diogo Bessa Neves Spanghero
Data: 22/02/2022 15:31:31-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. Diogo Bessa Neves Spanghero (Orientador - UFAL)

Documento assinado digitalmente
gov.br Luciano Jorge Amorim Leite
Data: 22/02/2022 17:43:54-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. Luciano Jorge Amorim Leite (Avaliador Interno - UFAL)

Documento assinado digitalmente
José Luiz Pedreira Mourino
Data: 24/02/2022 09:25:05-0300
CPF: 278.036.258-86
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. José Luiz Pedreira Mourino (Avaliador Externo – UFSC)

Aos Meus Pais, Lindaura e Antônio, pela
oportunidade da vida, pelo amor e orientação na
escolha do caminho que me faz feliz.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por toda força. Nos momentos de franqueza e angústia foi e sempre será a minha fortaleza. Sem TI, nada sou!

Aos meus pais Lindaura e Antônio, pelo amor, apoio e carinho. Amo vocês!

Às minhas irmãs, Ana, Jaine, Tatiane, Leide, Leila e Leiliane, pela amizade e cumplicidade, pelo amor incondicional que nos une e por vocês serem a minha maior inspiração e motivação. Amo vocês!

Ao meu orientador, Prof^o. Diogo Bessa Neves Spanghero, pela oportunidade, suporte e paciência. O seu apoio e orientação foi fundamental. Grata por todos os ensinamentos!

Ao Centro de Referências em Aquicultura e Recursos Pesqueiro do São Francisco (CERAQUA/SF), pela oportunidade de aprendizado com o desenvolvimento desta pesquisa.

As minhas amigas do coração, Alessandra, Deysiane, Edilma, Graciela, Isabela, Nayara e Rafaela pelos momentos de descontração, mas também pelo apoio incondicional sempre que precisei. Amo vocês!

Preciso destacar Isabela, por ser mais que amiga, uma verdadeira irmã com quem posso contar a qualquer momento. Sempre estive ao meu lado desde o começo me estimulando e me dando forças para que eu terminasse essa etapa tão importante da minha vida (foi muito bom estar com você todos os dias na sala de aula, nos momentos de lazer, e rindo das nossas derrotas, pois sem você essa jornada não seria a mesma).

Aos amigos do Laboratório de Inovação em Aquicultura (IN-AQUA) Geovanio e Luana que contribuíram para execução deste projeto, sempre serei grata. Vocês são demais.

Agradeço pelas dificuldades encontradas pelo caminho, que só assim me fizeram amadurecer e compreender aos poucos o sentido da vida.

Deixo aqui também um agradecimento a todos professores do Curso Superior de Engenharia de Pesca. Obrigada por sempre apoiarem e incentivarem a todos os alunos; vocês fazem a diferença na vida de todos o que passam por suas salas de aulas, são exemplos de pessoas e profissionais.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram durante minha graduação. Levo a alegria e a honra pelo conhecimento que obtive, mas também a eterna gratidão às pessoas que conheci em mais essa caminhada.

Eternamente grata a todos!

“Grandes foram as lutas, maiores as vitórias.

Muitas vezes pensei que este momento nunca chegaria. Queria recuar ou parar, no entanto Tu estavas presente, fazendo da derrota uma vitória, da fraqueza uma força, não cheguei ao fim, mais ao início de uma longa caminhada.

(Isaías, 55:10-11)

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade e o efeito anestésico do óleo essencial de *Mentha piperita* (Hortelã-pimenta) para a espécie *Prochilodus argenteus*. Para a realização do teste de toxicidade, o experimento foi conduzido com dois controles: um mantido apenas com água do tanque de cultivo (água) e outro mantido com água do tanque de cultivo com a adição de álcool etílico (água + álcool), numa mesma quantidade daquela necessária para a diluição do óleo essencial (OE) de Hortelã-pimenta na água e outros seis tratamentos contendo concentrações crescentes do OE na água de cultivo: 40, 44, 48, 52, 56 e 60 $\mu\text{L L}^{-1}$, com duas repetições. Os peixes passaram por jejum de 24 horas antes do início do teste de toxicidade. Durante o período de 4 h de exposição aos distintos tratamentos, foram registrados a mortalidade dos peixes de cada unidade experimental para determinação da concentração letal ($\text{CL}_{50-4\text{ h}}$). Foram observadas mortalidades nos tratamentos que continham concentrações a partir de 44 $\mu\text{L L}^{-1}$. Não foi observada sobrevivência para os peixes expostos às concentrações de 60 $\mu\text{L L}^{-1}$. A $\text{CL}_{50-4\text{ h}}$ para o *Prochilodus argenteus* ao óleo essencial de *Mentha piperita* é de 48 $\mu\text{L/L}^{-1}$. Para o teste do efeito anestésico, foi observado o comportamento dos peixes em diferentes concentrações crescentes do OE na água (110, 130, 150, 170 e 190 $\mu\text{L L}^{-1}$). Dez peixes para cada concentração. Os peixes passaram por jejum de 24 horas antes do início dos testes. Foram observados comportamentos incomuns como repouso, perda do equilíbrio e, por fim, paralização do batimento opercular. Após o último comportamento, os peixes foram imediatamente retirados das unidades experimentais e transferidos para unidades de recuperação sem a presença do OE. O tempo de cada comportamento, como também, de recuperação foi registrado, em minutos, com o auxílio de um cronômetro digital. O óleo essencial de *M. piperita* demonstrou ser um eficiente anestésico para juvenis de curimatã-pacu na concentração de 170 $\mu\text{L L}^{-1}$, com reduzido tempo de anestesia (<4 min) e de recuperação (<10 min), sem mortalidade.

Palavras-chave: *Mentha piperita*; Curimatã-pacu; Concentração Letal, Anestesia

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the toxicity and anesthetic effect of the essential oil of *Mentha piperita* (Peppermint) for the species *Prochilodus argenteus*. To carry out the toxicity test, the experiment was conducted with two controls: one kept only with water from the culture tank (water) and the other maintained with water from the culture tank with the addition of ethyl alcohol (water + alcohol), in a same amount of that necessary for the dilution of peppermint essential oil (EO) in the water and six other treatments containing increasing concentrations of the EO in the cultivation water: 40, 44, 48, 52, 56 and 60 $\mu\text{L L}^{-1}$, with two repetitions. The fish were fasted for 24 hours before the start of the toxicity test. During the 4 h period of exposure to the different treatments, the mortality of fish in each experimental unit was recorded to determine the lethal concentration ($\text{LC}_{50-4\text{ h}}$). Mortality was observed in treatments containing concentrations from 44 $\mu\text{L L}^{-1}$. Survival was not observed for fish exposed to concentrations of 60 $\mu\text{L L}^{-1}$. The $\text{LC}_{50-4\text{ h}}$ for *Prochilodus argenteus* to *Mentha piperita* essential oil is 48 $\mu\text{L/L}^{-1}$. To test the anesthetic effect of *Mentha piperita* essential oil, the behavior of fish was observed at different increasing concentrations of EO in water (110, 130, 150, 170 and 190 $\mu\text{L L}^{-1}$). Ten fish for each concentration. The fish were fasted for 24 hours before the start of the tests. Unusual behaviors such as rest, loss of balance and, finally, stoppage of the opercular beat were observed. After the last behavior, the fish were immediately removed from the experimental units and transferred to recovery units without the presence of the EO. The time of each behavior, as well as the recovery time, was recorded, in minutes, with the aid of a digital stopwatch. *M. piperita* essential oil proved to be an efficient anesthetic for curimatã-pacu juveniles at a concentration of 170 $\mu\text{L L}^{-1}$, with reduced anesthesia (<4 min) and recovery time (<10 min), without mortality.

Keywords: *Mentha piperita*; Curimatã-pacu; Lethal Concentration; Anesthesia

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - <i>Mentha piperita</i>	12
Figura 2 - Curimatã-pacu (<i>Prochilodus argenteus</i>)	13
Figura 3 - Representação da taxa de mortalidade de juvenis de <i>Prochilodus argenteus</i> expostos por quatro horas a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i>	24

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Composição química do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i>	19
Tabela 2 – Estágios de indução e recuperação anestésica em juvenis de curimatã-pacu.....	21
Tabela 3 - Parâmetros de qualidade da água durante o experimento de toxicidade aguda.....	22
Tabela 4 - Taxa de sobrevivência do curimatã-pacu expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>M. piperita</i> por um período de 4 horas.....	23
Tabela 5 - Tempo (em minutos) de indução e recuperação aos diferentes estágios de anestesia para juvenis de para juvenis de curimatã-pacu expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Mentha piperita</i> . Os estágios de anestesia estão de acordo com os critérios de Stoskopf (1993). Valores apresentados em média $\pm$ desvio padrão.....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i>	11
1.2 Curimatã-pacu, <i>Prochilodus argenteus</i>	12
1.3 Anestésicos na Aquicultura.....	14
1.4 Toxicidade.....	16
2. OBJETIVOS.....	18
2.1 Objetivo Geral.....	18
2.2 Objetivos Específicos.....	18
3. MATERIAL E MÉTODO.....	19
3.1 Obtenção do Óleo Essencial de <i>Mentha piperita</i>	19
3.2 Peixes e Aclimação.....	20
3.3 Teste de Toxicidade do Óleo Essencial de <i>M. piperita</i> (CL ₅₀ - 4h) em Juvenis de Curimatã pacu.....	20
3.4 Efeito Anestésico do Óleo Essencial de <i>M. piperita</i> (OEMP).....	21
3.5 Qualidade da Água.....	21
3.6. Análise Estatística.....	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1 Teste de Toxicidade Aguda em Juvenis de Curimatã-pacu.....	22
4.2 Efeito Anestésico do Óleo Essencial de <i>M. piperita</i> (OEMP).....	25
5. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30

1 - INTRODUÇÃO

1.1 - Óleo Essencial de *Mentha piperita*

Diversas espécies de plantas medicinais vêm ganhando cada vez mais destaque na aquicultura nos últimos anos, destacando-se as do gênero *Mentha*, popularmente conhecidas como mentas ou hortelãs, utilizadas para fins medicinais devido ao elevado grau de propriedades antimicrobianas, carminativas (Stanisavljević et al., 2014) e antioxidantes (MIMICA-DUKIC et al., 2003). Além de atividade inibitória do crescimento bacteriano (Trofano et al., 2009), antiviral, entre outros (CITARASU et al., 2010).

Este gênero é proveniente da região do Mediterrâneo e leste da Ásia Central, é o mais importante da família Lamiaceae em função de possuir 18 espécies e 11 híbridos (TUCKER; NACZI, 2007) Constitui uma das principais famílias representantes de plantas medicinais e uma das maiores dentre todas as Angiospermas. Atualmente cultivado em todas as regiões do mundo, destacando-se na Europa, América do Norte e Norte da África (SINGH; SHUSHNI; BELKHEIR, 2005).

Dentre as mais populares *Menthas* ou hortelãs podemos destacar a *Mentha piperita* (Figura 1) conhecida como hortelã-pimenta ou peppermint. É considerada como uma espécie híbrida resultante do cruzamento entre hortelã-verde (*Mentha spicata*) e hortelã-da-água (*Mentha aquática*) (ISCAN et al., 2002), sendo uma das plantas medicinais mais antigas do mundo e tem sido usada nas tradições orientais e ocidentais (KEIFER, 2007). A hortelã-pimenta é uma planta aromática que possui ramos eretos com folhas ovaladas opostas e serradas, de cor verde-escura a roxa-purpúrea podendo atingir, entre 50 a 90 cm de altura.

O óleo essencial de *M. piperita* é um dos dezoito principais OE de importância econômica mundial (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). É utilizado na medicina popular na indústria de alimentos e bebidas, perfumaria, cosmética e farmácia. De acordo com Cassol (2007) a *M. piperita* é utilizada na medicina popular para a amenização da atonia digestiva, gastralgia, cólicas, afecções hepáticas, bronquite crônica, como calmante, revitalizante, antidepressivo, antialérgico, hipotensor. Ainda na medicina popular, segundo Lorenzi e Matos (2006), o hortelã-pimenta pode ser utilizado como digestivo, no combate a náuseas e a flatulência, como antivomitivo, na amenização de inflamações de gengiva e cólicas intestinais.

Figura 1: *Mentha piperita*



Fonte: Terraflor

Na aquicultura, o óleo essencial de *Mentha piperita* apresentou efeito antiparasitário contra helmintos parasitos de peixes (COSTA et al., 2017; HASHIMOTO et al., 2016; MALHEIROS et al., 2016), efeitos imunoestimulante (TALPUR, 2014), apresentou resultados positivo sobre os parâmetros hematológicos e atividade anti-helmíntica em tilápias, recomendando-se a concentração de 40 mL.L⁻¹ de óleo em banhos terapêuticos para monogenoides (HASHIMOTO et al., 2016). Outra forma de inclusão, consiste na suplementação na dieta. ADEL et al. (2015) observaram que a adição do OE de *M. piperita* à dieta, promoveu um maior crescimento e melhor conversão alimentar, além de melhorar os principais parâmetros hematológicos e imunológicos para a espécie *Rutilus frisii kutum* e inibir o crescimento das bactérias *Streptococcuiniae*, *Yersiniaruckeri*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. Quando fornecido ao *Lates calcarifer* também houve melhoras no seu desempenho zootécnico, além de ser observado um aumento significativo dos eritrócitos, leucócitos, hematócrito e da hemoglobina. Em outro estudo, Talpur (2014) verificou aumento da sobrevivência, ganho de peso, conversão alimentar e redução da mortalidade de barramundi (*Lates calcarifer*), desfiados com *Vibrio harveyi* com extrato de *M. piperita* suplementado na dieta nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5 g/kg de ração.

1.2 - Curimatã-pacu, *Prochilodus argenteus*

O curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*) (Figura 2) é uma espécie nativa da Bacia do São Francisco (Proença & Bittencourt, 1994). Pertencente à ordem Characiformes e a família Prochilodontidae, é popularmente conhecida como curimba, xira, curimbatá, bambá ou zulega, possui o maior porte da família podendo pesar até 15 kg de peso corporal (Godinho & Godinho,

2003). Esta espécie apresenta corpo fusiforme e comprido, de coloração prateada-acinzentada, focinho peculiar e boca subterminal em forma de ventosa. São peixes que possuem hábitos alimentares detritívoros, limnófagos, realizar migrações de longa distância, e apresentam desova total e altas taxas de fecundidade (LOPES, 2010).

Figura 2: Curimatã-pacu.



Fonte: Autor (2021)

São peixes detritívoros, com grande importância ecológica. Participa da reciclagem de nutrientes através da pré-mineralização da matéria orgânica presente no lodo, tornando-o mais facilmente degradável pelos microorganismos ambientais Castro e Vari (2004). Bowen (1983), em seu estudo, destaca o necessário papel destas comunidades de peixes no fluxo de energia, na ciclagem da matéria orgânica e na dinâmica populacional nos ecossistemas aquáticos.

Foi uma das primeiras espécies da Bacia para a qual se conseguiu realizar a indução de desova em 1946. Essa necessidade surgiu devido ao interesse comercial em função do seu grande porte e agradável sabor (Godinho & Godinho, 2003). Apesar de não reproduzirem naturalmente em cativeiro, tem respondido positivamente à indução hormonal e demais manejos reprodutivos, (Sato et al., 2003a). De acordo com AGOSTINHO (2007) por ser uma espécie migradora acaba tendo sua reprodução prejudicada pelos barramentos destinados à construção de reservatórios de usinas hidrelétricas. De acordo com Martins (2017), *Prochilodus* é considerado o gênero íctico de maior importância na pesca artesanal brasileira. Baseando-se nesta informação, as espécies deste grupo apresentam uma relevância socioeconômica bastante importante para as populações ribeirinhas que dependem do seu extrativismo e da sua produção em cativeiro.

Trata-se de uma espécie com grande potencial para a aquicultura, devido as suas características como boa aceitação a ração comercial para peixes onívoros (FURUYA, 2001), rápido crescimento em sistemas intensivos de produção (FURUYA et al., 1999), agradável sabor (Godinho & Godinho, 2003), por apresenta grande valor comercial (Maia et al., 1999). Contudo, assim como outras espécies nativas, o *P. argenteus* necessita de um pacote tecnológico que otimize e incentive sua produção. Que promovam um crescimento competitivo com as espécies exóticas já consolidadas e manejos bem estabelecidos.

1.3 - Anestésicos na Aquicultura

O uso de anestésicos tornou-se uma prática importante para o sucesso da aquicultura, visando favorecer o bem-estar dos animais durante e após as práticas de manejo (Barbas et al., 2017; Bianchini et al., 2017; Park et al., 2017; Teixeira et al., 2017; Hoseini et al., 2019). Os anestésicos utilizados na piscicultura são classificados quanto a sua origem em produtos sintéticos ou naturais (PURBOSARI et al., 2019). Quanto aos anestésicos sintéticos, os mais utilizados em peixes são a tricaína metanosulfonato (MS-222), benzocaína, barbitúricos, 2-fenoxietanol, sulfato de quinaldina, etomidato, metomidato e propofol (BOLASINA et al., 2017; PURBOSARI et al., 2019; SOUZA et al., 2019; UEHARA et al., 2019).

Entretanto, estudos mostram que alguns desses anestésicos sintéticos apresentam alterações em parâmetros fisiológicos dos peixes como depressão da função cardiovascular e respiratória, aumento do lactato, níveis elevados de catecolaminas e inibição da síntese de cortisol, perda de muco, irritação branquial e lesões nas córneas (INOUE et al., 2003). Podendo ocorrer também aparecimento de lesões oftálmicas aos manipuladores (ROUBACH & GOMES, 2001) e contaminar o ambiente com resíduos tóxicos (ROUBACH & GOMES, 2001).

Portanto, o estudo de anestésicos naturais se faz necessário para desenvolver produtos que apresentem eficácia em baixa concentração e com rápida recuperação, redução das respostas de estresse e mortalidade dos peixes, além de apresentar baixos níveis de resíduos e um baixo custo. Nesse contexto, os anestésicos naturais são importantes na piscicultura e têm sido amplamente utilizados para prevenir lesões corporais, facilitar o manuseio dos peixes em operações de rotina na piscicultura como adensamento, biometrias, transporte, amostragem para diagnósticos de doenças, entre outras, (ROSS e ROSS, 2008; PURBOSARI et al., 2019).

Alguns anestésicos alternativos já foram estudados com resultados bastantes promissores para aquicultura. No estudo de Malheiros et al. (2016) verificou efeito anestésico na concentração de 20 mg L⁻¹ do óleo essencial de *Mentha piperita* para o pirarucu (*Arapaima gigas*). Segundo SPANGHERO et al. (2019), a concentração de 80 mg L⁻¹ do óleo essencial de

Mentha piperita é recomendada para induzir a anestesia em juvenis de *Rhamdia quelen*. SOUZA et al. (2018b) recomenda o uso do óleo essencial de *L. alba* para a anestesia de *R. quelen* nas concentrações de 100 e 300 $\mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente. Um dos compostos majoritários de *Lippia alba* é o linalol que é um dos mais importantes composto da indústria da perfumaria. Ainda para *R. quelen* o óleo essencial de *O. micranthum* foi avaliado, sendo estabelecida a concentração de 25 $\mu\text{L L}^{-1}$ para sedação e 200 $\mu\text{L L}^{-1}$ para anestesia. O óleo essencial de *L. sidoides*, quimiotipo timol (61,1%), induziu a anestesia profunda na concentração de 20 mg L^{-1} é recomendado como anestésico para a espécie *P. mesopotamicus* VENTURA et al. (2019).

Neste contexto, o uso de anestésicos em sistemas de criação tornou-se uma prática importante para o sucesso da aquicultura. A anestesia é um estado reversível de depressão do sistema nervoso central, acompanhada de perda sensorial envolvendo vários componentes que incluem sedação, imobilização, inconsciência, amnésia (perda de memória) e analgesia (alívio da dor) (Z AHL et al., 2012). Já a sedação é um estado preliminar da anestesia em que a sonolência é induzida, com a percepção sensorial entorpecida e com alguma analgesia (ROSS e ROSS, 2008). Em peixes a dose anestésica e o tempo de exposição determina o estado anestésico desejado. Para manejo a anestesia profunda seria o recomendado e, para o transporte o estágio de sedação já produz o efeito necessário (COOKE et al, 2004).

As vias de aplicação anestésicas mais comuns em peixes são a injetável ou através da água por inalação. Na piscicultura a via mais utilizada para operações de rotina é a inalatória, realizada por meio de banhos de imersão, sendo o anestésico absorvido pelas brânquias (Z AHL et al., 2012). Segundo Roubach e Gomes (2001), para manejo de peixes é preferível a anestesia profunda principalmente para segurança dos animais e manipuladores, esse estágio deve ser atingido entre 1 a 3 minutos, com tempo de recuperação inferior a 5 minutos.

Entretanto, o anestésico ideal deve produzir anestesia rápida (1 a 5min) e recuperação rápida (<10min), dos peixes, além de ser barato, prático de usar, solúvel em água e não deixar resíduos em peixes, humanos ou no meio ambiente (PARK et al., 2017; BOLASINA et al., 2017; PURBOSARI et al., 2019). Na aquicultura, tais características têm sido investigadas em produtos extraídos das plantas, em especial os óleos essenciais (Boijink et al., 2016; Baldisserotto et al., 2018; Batista et al., 2018; Souza et al., 2019). O óleo de *O. gratissimum*, 10 mg L^{-1} , é recomendado como uma alternativa para uso no transporte de *P. orbignyanus*, por não promover alterações em parâmetros de estresse como a glicose sanguínea e nos parâmetros de qualidade de água como temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, dióxido de carbono, amônia total e não ionizada (BENOVIT et al., 2012). O óleo de *L. alba* é uma

alternativa viável para substituir os anestésicos químicos nos peixes. Além do óleo essencial de *L. alba*, um outro produto alternativo desta planta é o hidrolato, subproduto da extração do óleo, o qual é recomendado na concentração de 20% para anestesia de *C. macropomum*, em operações de rotina como biometria e na indução de desova (SANTOS MAIA et al., 2019).

1.4 - Toxicidade

Para poder determinar o potencial deletérios que alguns produtos tóxicos podem exercer sobre os organismos, é necessário, frequentemente, obter respostas rápidas. Nesse sentido, os testes de toxicidade aguda são ferramentas importantes e confiáveis para estimar as concentrações de um determinado produto tóxico que provocam efeitos deletérios em uma dada população de organismos. Com relação à resposta aos testes de toxicidade, podem ser do tipo letais.

Nos testes de respostas letais, utiliza-se, como padrão, a LC_{50} (Concentração letal de 50%), isto é, a concentração letal responsável por causar a morte de 50% dos organismos-teste durante certo tempo de exposição. Normalmente, o valor obtido num teste de toxicidade aguda é a CL_{50} (concentração letal a 50% da população), sendo este o valor utilizado na prática. Esses testes permitem o reconhecimento dos produtos químicos que apresentam menores riscos de impacto ambiental e toxicidade, além de identificar aqueles que poderiam ser utilizados na piscicultura.

Tais problemas têm estimulado a investigação do uso de plantas medicinais como alternativa para o tratamento de doenças em peixes. Diante disso, diversos produtos naturais vêm sendo usados como agentes antiparasitários na aquicultura, em substituição aos produtos químicos sintéticos. Os produtos naturais geralmente causam menor resistência, apresentam baixa toxicidade, são facilmente biodegradáveis e inócuos ao ambiente (Maximiano et al., 2005). No entanto, para que plantas medicinais e seus derivados possam ser utilizados com finalidades terapêuticas, testes de toxicidade devem ser realizados para determinar as concentrações letal seguras para cada espécie de peixe (Grisolia, 2005).

Os testes de toxicidade possibilitam estabelecer limites permissíveis para várias substâncias químicas, além de avaliar os efeitos tóxicos nos sistemas biológicos e dimensionar a toxicidade relativa das substâncias (BERTOLETTI, 1990). Nos testes de toxicidade aguda são utilizadas diferentes concentrações de dada substância, dentro de condições pré-estabelecidas. Durante esses testes, são avaliados nos organismos alterações comportamentais, fisiológicas, bioquímicas, histológicas e/ou genotóxicos (Ferreira, 2004).

Segundo lombard (2004), os testes de toxicidade agudam são experimentos de curta duração, que proporcionam rápidas respostas em estudos sobre efeitos tóxicos letais, em que o objetivo é determinar a concentração letal média (CL_{50}) de uma certa substância sobre os organismos aquáticos, em um tempo de 24 a 96 horas de exposição. O efeito observado ao final de 96 horas de exposição é a imobilidade ou a mortalidade dos organismos, utilizando-se geralmente a concentração letal Média (CL_{50}), isto é, aquela em que metade dos indivíduos morre depois de um determinado tempo de exposição ao agente (RANZANI-PAIVA, 2004; COSTA & OLIVI, 2008). A dose letal 50% de uma substância expressa grau de toxicidade aguda de substâncias químicas, correspondem às doses que provavelmente matam 50% dos animais de um lote utilizados para experiência. Assim, a exposição a uma elevada concentração de agentes tóxicos, mesmo que por curto período de tempo, pode causar efeitos deletérios aos organismos aquáticos.

Segundo Pavanelli et al. (2002), no Brasil, são raros os estudos realizados com o objetivo de se testar a eficácia de drogas utilizadas no combate às doenças de peixes. De acordo com MARTINS (2004), o ideal seria que o produto químico utilizado na aquicultura apresentasse características, tais como, a ausência de danos ao tecido animal, degradação rápida, inexistência de resíduo na água, no substrato ou no tecido do animal, não interferir na qualidade da água, não oferecer perigo aos humanos e animais, baixo custo e fácil aplicação. Concentrações utilizadas nos tratamentos de alguns parasitas, geralmente são próximas da concentração letal, devendo-se avaliar o efeito fisiológico de tais tratamentos (ARAUJO, et al., 1997).

A busca por compostos antiparasitários de origem vegetal deve-se à escassez de compostos comerciais que eliminem parasitos de forma eficiente e com menor toxicidade. Porém, plantas medicinais ou seus derivados, quando utilizados para fins profiláticos e terapêuticos, devem sempre ser testados quanto a sua toxicidade, pois os limites de tolerância podem variar de acordo com a espécie de peixes, idade, tamanho e com o tempo de exposição ao produto (Winkaler et al. 2007; Tavechio et al. 2009).

É de extrema importância que se realize ensaios de toxicidade para atestar que os compostos químicos presentes no óleo essencial de *Mentha piperita* não exercem atividades tóxicas que inviabilizem seu uso para fins terapêuticos, porque alguns produtos apresentam concentração próxima da letal e a tolerância a alguns produtos depende da condição em que se procede o tratamento (FAJER-AVILA et al. 2003).

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade e o efeito anestésico do óleo essencial de Hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em juvenis de curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*).

2.2 - Objetivos Específicos

- Determinar a concentração letal do óleo essencial de *M. piperita* para 50% da população (CL_{50-4h}) de juvenis de curimatã-pacu.
- Determinar a concentração ideal de *M. piperita* para anestesiá juvenis de curimatã-pacu.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Obtenção do Óleo Essencial de *Mentha piperita*

O óleo essencial (OE) de *M. piperita* foi obtido no Laboratório de Plantas Medicinais da Embrapa Amazônia Ocidental (Manaus, Amazonas, Brasil). As partes aéreas (folhas e/ou inflorescências) da planta foram removidas para extração do OE pelo processo de hidrodestilação. A análise química do OE foi realizada por meio de cromatografia gasosa com espectrometria de massa, seguindo procedimento descrito por Moraes et al. (2012). Seus principais componentes foram: mentol (27,5%), mentofurano (22,5%), pulegona (12,8%), acetato de mentila (12,5 %), mentona (11%), limoneno (3,5%) e 1,8-cineol (2,1%). Os compostos químicos do óleo essencial de *Mentha piperita*, estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de *Mentha piperita*.

Pico	Quant %	IR	Identificação
1	t	929	alfa-tujeno
2	0,8	937	alfa-pineno
3	0,1	953	3-metil-cicloexanona
4	0,4	975	sabineno
5	1,3	979	beta-pineno
6	0,6	991	mirceno
7	0,1	995	3-octanol
8	0,1	1026	orto-cimeno
9	3,5	1031	limoneno
10	2,1	1033	1,8-cineol
11	0,1	1039	cis-beta-ocimeno
12	0,1	1061	gama-terpineno
13	0,2	1069	cis-hidrato de sabineno
14	0,1	1089	terpinoleno
15	0,1	1099	linalol
16	0,1	1147	neo-isopulegol
17	0,1	1150	para-ment-3-en-8-ol
18	11,0	1156	mentona
19	22,5	1167	mentofurano
20	27,5	1177	mentol
21	1,0	1179	4-terpineol
22	0,2	1184	iso-mentol
23	0,3	1190	alfa-terpineol
24	12,8	1241	pulegona
25	0,6	1255	piperitona
26	0,7	1276	acetato de neo-mentila
27	12,5	1294	acetato de mentila
28	0,5	1416	trans-beta-cariofileno
29	0,1	1479	lactona de menta

*t: traços, IR: índice de retenção, Total identificado: 99,5%

A natureza hidrofóbica do OE exigiu que fosse elaborada uma solução estoque diluída em álcool etílico 99,8%, utilizando a proporção de 1:9 (OE:álcool, v:v), para facilitar a sua diluição em água.

3.2 - Peixes e Aclimação

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de peixes carnívoros e cultivo de algas do centro de Referencias em Aquicultura e Recursos Pesqueiro do São Francisco (CERAQUA/SF), Porto Real do Colégio, estado de Alagoas, Brasil. As larvas de Curimatã-pacu foram obtidas a partir da reprodução induzida de reprodutores, onde foram realizadas todas as etapas do processo de reprodução, desde a desova até a fase juvenil, de acordo com protocolo descrito por (woynarovich & Horváth, 1980). Após o consumo do saco vitelínico, as larvas foram para tanques de larvicultura onde permaneceram por 60 dias, com alimentação balanceada, até atingirem peso médio de $7,71 \pm 2,68$ g, e iniciados os experimentos de toxicidade e anestesia.

3.3 - Teste de Toxicidade do Óleo Essencial de *M. piperita* (CL₅₀ - 4h) em Juvenis de Curimatã-pacu.

Para o teste de toxicidade aguda, utilizou-se 140 alevinos de curimatã-pacu, distribuídos de forma aleatória em 14 aquários com capacidade de 10 litros de água, porém com 8 litros cada e com uma densidade de 10 peixes/aquário. Em seguida, os peixes foram mantidos sem alimentação e em sistema estático, com aeração constante de água. Cada tratamento foi constituído por duas repetições e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contendo dois grupos controles, um usando somente água do tanque de cultivo (Controle 1) e outro usando água do tanque de cultivo com a adição de álcool etílico, numa mesma quantidade daquela necessária para a diluição do óleo essencial de *Mentha piperita* na água (Controle 2) e seis concentrações crescentes (40, 44, 48, 52, 56 e 60 $\mu\text{L L}^{-1}$) do óleo essencial de *M. piperita*. Durante o período de 4 horas de exposição ao óleo de *M. piperita*, a mortalidade dos peixes foi registrada. Para avaliação da mortalidade, após o período de exposição, os peixes foram retirados das unidades experimentais e transferidos para unidades contendo água sem adição do óleo. Após uma hora da transferência, foram considerados mortos os peixes que não se observou movimento opercular e não respondiam a estímulos mecânicos.

3.4 - Efeito Anestésico do Óleo Essencial de *M. piperita* (OEMP)

Para indução anestésica, os peixes foram expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Mentha piperita* (110, 130, 150, 170 e 190 $\mu\text{L L}^{-1}$), que foram estabelecidas com base em testes preliminares. Nos ensaios foram utilizados 10 peixes e submetidos, um de cada vez, às concentrações estabelecidas. Cada peixe foi utilizado apenas uma vez.

experimento. Para cada concentração de OE avaliado, os peixes foram utilizados apenas uma vez. O teste de indução anestésica foi realizado em aquários contendo 8 L de água.

Os tempos de indução foram cronometrados em minutos, com auxílio de um cronômetro digital, até que atingissem os diferentes estágios de anestesia, de acordo com a tabela 2. Foi considerado anestesiado o animal que atingiu o estágio 3 (parada do opérculo).

Tabela 2: Estágios de indução e recuperação anestésica em juvenis de curimatã-pacu.

Estágios	Indução	Recuperação
1	Repouso	Retorno do opérculo
2	Perda do Equilíbrio	Início da natação
3	Parada do Opérculo	Recuperação

Após o período de indução também foram observados os tempos de recuperação (Tabela 2), onde os animais eram retirados da água e realocados no aquário de recuperação, contendo 8 litros de água limpa, livre de anestésico, com aeração constante. O tempo necessário para o aparecimento dos padrões comportamentais avaliados foi monitorado e registrado com auxílio de um cronômetro digital.

3.5 - Qualidade da Água

Os parâmetros físico-químicos de qualidade da água foram mensurados com uma sonda multiparâmetro YSI 556 MPS® no início do experimento de toxicidade aguda e do teste de anestésico.

3.6 - Análise Estatística

O CL_(50-4h) no teste de toxicidade aguda, foi determinada através de análise de regressão linear (concentração x tempo de indução anestésica; concentração x tempo de recuperação). A avaliação da atividade anestésica foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguido pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Teste de Toxicidade Aguda em Juvenis de Curimatã-Pacu.

Durante o experimento, os resultados obtidos dos parâmetros físicos e químicos da água (Tabela 3) encontraram-se dentro da faixa determinada como adequada. Essas variáveis foram tomadas usando-se a sonda multiparâmetro YSI 556 MPS®.

Tabela 3 - Parâmetros de qualidade da água durante o experimento de toxicidade aguda.

Parâmetros físico-químicos da água	Teste de toxicidade
Temperatura (°C)	27,2 ± 4,2
Salinidade (g L ⁻¹)	0,0 ± 0,0
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	7,4 ± 1,1
pH	6,7 ± 1,0
Turbidez (NTU)	6,3 ± 0,9
Condutividade (µS cm ⁻¹)	74,7 ± 11
Sólidos totais dissolvidos (g/L)	5,0,04 ± 0,0
Potencial oxidação/redução (mV)	3± 46,3± 0,0

Os juvenis expostos ao grupo controle, com somente (água) e no grupo controle com (água + álcool) não houve mortalidade nas unidades experimentais e não apresentaram nenhum sinal de alteração comportamental, e nas que continham o óleo essencial com concentrações de 40 µL L⁻¹ (tabela 4), alguns peixes apresentaram apenas um efeito semelhante à sedação.

Não houve sobrevivência para os peixes expostos a 60 µL L⁻¹. Todos os peixes apresentaram comportamentos como natação imprecisa, agitação, perda de equilíbrio ficando em posição diagonal, posteriormente com abdômen para cima, seguido de inércia total.

Tabela 4 - Taxa de sobrevivência do curimatã-pacu expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de *M. piperita* por um período de 4 horas.

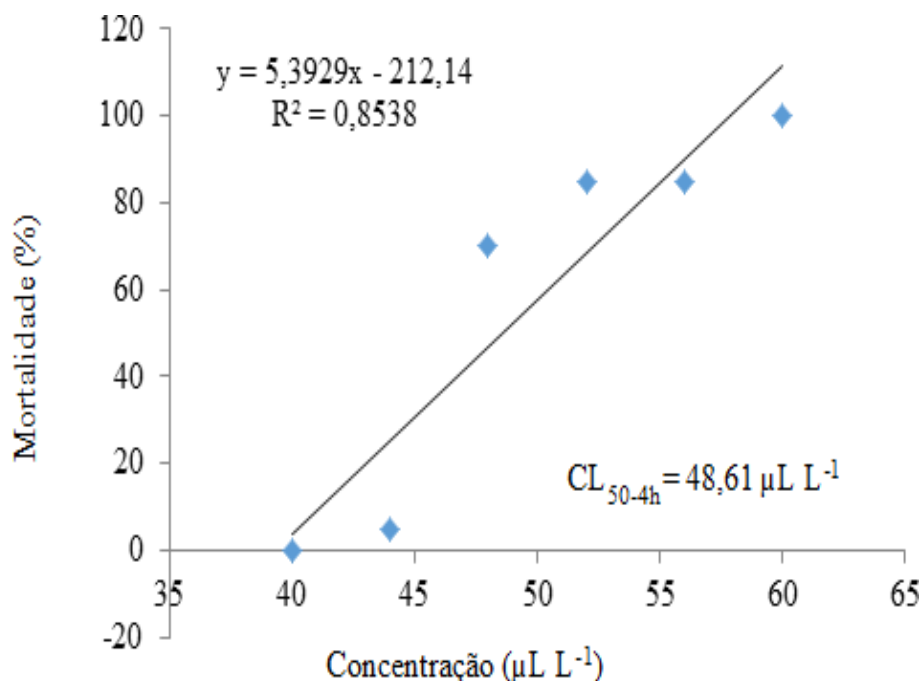
Concentrações ($\mu\text{L L}^{-1}$)	Nº peixes vivos (%) no final do teste	
	(Repetição 1)	(Repetição 2)
40	100%	100%
44	100%	90%
48	0%	60%
52	30%	0%
56	0%	30%
60	0%	0%

As observações do comportamento dos peixes durante o teste de toxicidade $\text{CL}_{50-4\text{h}}$, principalmente em altas concentrações (40, 44, 45, e 50, 60 $\mu\text{L L}^{-1}$) foram similares ao observado por Malheiros et al. (2016) nas concentrações de 40, 80, 100 e 160 mg L^{-1} : natação errática, movimento do opérculo acelerado, agitação e letargia, abdômen voltado para cima.

Segundo LOMBARDI (2004), nos testes de toxicidade aguda ocorrem respostas rápidas na estimativa de efeitos letais de um agente tóxico com relação a organismos aquáticos, sendo normalmente a letalidade ou a imobilidade os efeitos mais comuns. E são utilizados para avaliar a capacidade do agente tóxico em produzir efeitos deletérios nos organismos vivos RAND & PETROCELLI, (1985). Estes testes caracterizam-se pelo curto tempo de exposição (24 a 96 horas) a concentrações geralmente altas de determinada substância química CETESB, (1999). Como descrito por Kubitza e Kubitza (1999), as doses letais para os peixes ficam muito próximas das doses terapêuticas. Diante disto, o presente estudo reduziu o período de exposição para quatro horas.

Durante o período de exposição de quatro horas ao óleo essencial de *Mentha piperita*, a taxa de mortalidade dos alevinos de curimatã-pacu expostos as diferentes concentrações do óleo de *M. piperita* estão apresentados na figura 3.

Figura 3. Representação da taxa de mortalidade de juvenis de *Prochilodus argenteus* expostos por quatro horas a diferentes concentrações do óleo essencial de *Mentha piperita*.



Diante dos resultados do teste de toxicidade aguda com óleo essencial de *Mentha piperita* em juvenis de curimatã-pacu, a CL_{50-4h} foi de $48,61 \mu L L^{-1}$. O Curimatã-Pacu se mostrou mais resistente ao óleo essencial de *Mentha piperita*, quando comparados a outros peixes, como a tilápia (*Oreochromis niloticus*) com CL_{50} de $40 mg L^{-1}$ (HASHIMOTO et al., 2016) e o pirarucu (*Arapaima gigas*) com CL_{50-4h} de $38 mg L^{-1}$ (MALHEIROS et al., 2016). Estes resultados demonstram que o Curimatã-Pacu é mais resistente ao óleo essencial de *M. piperita* quando comparados a espécie mais produzida pela piscicultura brasileira, como no caso a tilápia e outra em pleno crescimento produtivo, o pirarucu.

Isto pode trazer benefícios quando da utilização deste óleo em banhos terapêuticos. Já que, alguns estudos mostraram efeitos antiparasitários para o óleo essencial de *M. piperita*. Segundo Malheiros et al, (2016), em estudos com o pirarucu (*Arapaima gigas*), houve combate a *monogenoideas Dawestrema ssp* quando utilizado o óleo essencial de *Mentha piperita* com variação de tempo nas concentrações de 80, 160 e $320 mg L^{-1}$.

Hashimoto et al, (2016), em estudo com tilápia observou que o óleo essencial de *Mentha piperita* tem ação antiparasitária contra *Monogênea* a partir de banhos terapêuticos, com tempo médio de 8 minutos e 11 segundos de exposição na concentração de 40 mg L⁻¹. Para esse tempo e concentração foi observado uma redução na carga parasitária em 72,5%.

4.2 - Efeito Anestésico do Óleo Essencial de *M. piperita* (OEMP)

No primeiro momento de exposição à anestesia, os peixes apresentaram reação de hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico, evidenciada por movimentos rápidos no aquário, que diminuiu à medida que o efeito do anestésico se instalava. Esse fato também foi observado por autores como Vidal et al. (2007), Hohlenwerger et al. (2016) e Silva et al. (2012) que relataram um aumento na atividade de peixes (natação). Segundo Collins (1978), essa hiperatividade é o primeiro comportamento observado em um animal submetido à anestesia.

Não houve mortalidade registrada durante a realização do teste ou mesmo depois de 24 h da exposição. Nossos resultados corroboram com outros estudos, que também avaliaram a utilização do óleo essência de *M. piperita* como anestésico para jundiá *Rhamdia quelen* (SPANGHERO et al., 2019) e eugenol como anestésico para acará bandeira *Pterophyllum scalare* (MITJANA et al., 2014) e oscar *Astronotus ocellatus* (SILVASOUSA et al., 2015), sendo que também não foi relatada mortalidade durante nem após a realização do experimento.

Os resultados registrados para a indução anestésica, assim como o tempo de recuperação dos peixes submetidos ao óleo essencial de *Mentha piperita*, para os diferentes estágios são mostrados na tabela 5. Todos os juvenis de curimatã-pacu expostos às concentrações experimentais (110, 130, 150, 170 e 190 µL L⁻¹) do óleo essencial de *Mentha piperita*, atingiram o último estágio comportamental de anestesia (parada do opérculo) e recuperação. À medida que foram aumentadas as concentrações do óleo essencial, os tempos de indução anestésica foram diminuindo, no entanto, não alterou o tempo de recuperação para as diferentes concentrações em curimatã-pacu.

Tabela 5. Tempo (em minutos) de indução e recuperação aos diferentes estágios de anestesia para juvenis de curimatã-pacu expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Mentha piperita*. Os estágios de anestesia estão de acordo com os critérios de Stoskopf (1993). Valores apresentados em média $\pm$ desvio padrão.

Concentração ($\mu\text{L L}^{-1}$)	Indução à anestesia		
	Repouso	Perda do equilíbrio	Parada do opérculo
110	0,63 $\pm$ 0,15 a	2,33 $\pm$ 0,23 a	6,05 $\pm$ 0,51 a
130	0,51 $\pm$ 0,15 a	2,08 $\pm$ 0,11 ab	7,60 $\pm$ 0,68 b
150	0,64 $\pm$ 0,03 a	1,24 $\pm$ 0,10 c	4,35 $\pm$ 0,28 c
170	0,61 $\pm$ 0,05 a	1,71 $\pm$ 0,27 bd	3,28 $\pm$ 0,12 d
190	0,60 $\pm$ 0,06 a	1,33 $\pm$ 0,06 cd	3,74 $\pm$ 0,18 cd
	Recuperação		
	Retorno do opérculo	Início da Natação	Recuperação
110	0,37 $\pm$ 0,01 a	1,86 $\pm$ 0,77a	4,22 $\pm$ 0,04 a
130	0,38 $\pm$ 0,09 a	1,81 $\pm$ 0,38 a	4,42 $\pm$ 0,65 a
150	0,38 $\pm$ 0,08 a	1,43 $\pm$ 0,36 a	3,25 $\pm$ 0,18 b
170	0,39 $\pm$ 0,17 a	1,86 $\pm$ 0,41 a	3,38 $\pm$ 0,22 b
190	0,46 $\pm$ 0,03 a	2,33 $\pm$ 0,63 a	3,50 $\pm$ 0,25 ab

*Valores sobrescritos com letras distintas em uma mesma coluna são estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

A ação anestésica do óleo essencial de *Mentha piperita* obtida com o curimatã-pacu pode ser atribuída aos compostos majoritários de seu óleo como mentol, mentona, mentofurano, 1,8-cineol e acetato de metila (Beigi et al., 2018). Principalmente o mentol que age sobre o ácido gama-aminobutírico tipo A (GABAA). Presente em maiores proporções no óleo essencial de *M. piperita*, tem sua ação anestésica relacionada, em parte, com a ativação dos receptores GABAA, principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central (Watt et al., 2008). A estimulação do GABAA por fármacos agonistas, também denominados fármacos gabaérgicos, determina o aumento da condutância do íon cloro da superfície para o interior da célula alvo, com isso, ocorre a hiper-polarização da membrana, causando depressão do SNC e consequente anestesia (DUARTE, 1994; GUÉNETTE et al., 2007).

Durante a indução anestésica foi observada a passagem sequencial pelos estágios comportamentais de anestesia descritos na Tabela 2: repouso, perda do equilíbrio e parada do opérculo. Estes padrões comportamentais produzidos por anestésicos em peixes foram descritos de acordo com os critérios de Stoskopf (1993).

Conforme a tabela 5, para os juvenis, às concentrações testadas (110 a 190 $\mu\text{L L}^{-1}$) foram induzidas a todos os estágios de anestesia. Os juvenis expostos as concentrações 110 $\mu\text{L L}^{-1}$ e

130 $\mu\text{L L}^{-1}$ apresentaram maior tempo de indução anestésica do que nos peixes expostos a maiores concentrações. Estas concentrações induziu os indivíduos ao referido estágio em tempo médio de $(6,05 \pm 0,51)$ e $(7,60 \pm 0,68)$ minutos. Conforme os resultados alcançados neste trabalho, a concentração recomendada para juvenis de curimatã-pacu é de 170 $\mu\text{L L}^{-1}$ do óleo essencial de *Mentha piperita*, pois a mesma permite a indução e recuperação em tempos de $(3,28 \pm 0,12)$ e $(3,38 \pm 0,22)$ respectivamente, obedecendo as recomendações de Park et al. (2003), uma das características desejáveis em um anestésico é a capacidade de induzir à anestesia em 3 minutos e possibilitar a recuperação dentro de 10 minutos.

Segundo Sladky et al., (2001) a indução rápida garantirá uma recuperação mais segura e sem incidentes nos peixes, mesmo à custa de doses mais altas. No presente estudo, concentrações crescentes do óleo essencial de *Mentha piperita* reduziram o tempo para anestesia. Ao contrário a isso as concentrações menores aumentaram o tempo de indução anestésica.

Quanto ao tempo de recuperação, todas as concentrações estavam de acordo com os critérios estabelecido por Park et al. (2019), para escolha de um anestésico eficaz, é recomendado que este produto deve produzir anestesia em período menor ou igual a três minutos e permitir uma recuperação em prazo máximo de 10 minutos. A recuperação dos indivíduos submetidos à concentração de 110 $\mu\text{L L}^{-1}$ foi semelhante à obtida com animais expostos a 130 $\mu\text{L L}^{-1}$ que por sua vez apresentou diferença significativa em relação às concentrações de 150, 170 e 190 $\mu\text{L L}^{-1}$. A concentrações de 150 e 170 $\mu\text{L L}^{-1}$ foi as que apresentaram menor tempo de recuperação, $3,25 \pm 0,18$ e $3,38 \pm 0,22$ minutos, respectivamente. Assim, observou-se que o menor tempo de recuperação não está diretamente relacionado ao menor tempo de indução nem a menor concentração. Este padrão de recuperação de juvenis já havia sido observado com o eugenol após a anestesia do salmão do atlântico (*Salmo salar*) (Iversen et al., 2003) e pacu vermelho (*Piaractus brachypomus*) (Sladky et al., 2001).

De acordo com Ostrensky et al. (2000) e Gomes et al. (2001), o tempo de recuperação do peixe é influenciado pelo tempo de exposição ao fármaco e pela temperatura. De maneira geral, independentemente da classe de peso e dose utilizadas, os valores mínimo e máximo de recuperação foram, respectivamente, $(3,25 \pm 0,18)$ e $(4,42 \pm 0,65)$ minutos. Sendo assim, constatou-se que o tempo de recuperação foi pouco ou não foi influenciado pelas diferentes concentrações, fato também observado por Vidal et al. (2007). Entretanto, o tempo de recuperação não excedeu a 10 minutos, para nenhuma das concentrações, preenchendo os requisitos sugeridos por Ross & Ross (2008).

Os anestésicos são absorvidos principalmente pelas brânquias (SUMMERFELT e SMITH, 1990) e espécimes menores têm maior área de superfície branquial em relação ao corpo (JAVAHERY et al., 2012). Assim, a absorção do anestésico provavelmente será mais eficiente e rápida em pequenos espécimes ou durante estágios iniciais de desenvolvimento, como observado neste estudo.

Outros resultados em relação à indução e recuperação à anestesia com óleo essencial de *M.piperita* foram observados para as espécies de peixes como *C. macropomum* (BRANDÃO et al., 2021) e *R.quelen* (SPANGHERO et al., 2019). No presente estudo, para o *P. argenteus* foi observado resultados com efeito oposto aos observados para essas espécies. Tanto para o *C. macropomum* e o *R. quelen*, à medida que foram aumentadas as concentrações do óleo essencial, os tempos de indução anestésica foram diminuindo. Na recuperação, observou-se um efeito contrário ao da indução anestésica, pois quanto maior a concentração, maior foi o tempo de retorno da atividade natatória dos peixes. O mesmo ocorreu para o *C. macropomum* com uso de óleos essenciais de *A. triphylla* (BRANDÃO et al., 2021); *Lippia alba* e *L. origanoides* (BATISTA et al., 2018; da SILVA et al., 2019); *Ocimum gratissimum* (BOIJINK et al., 2016); e *Aniba rosaeodora* e *Aniba parviflora* (BALDISSEROTTO et al., 2018).

Semelhante ao presente estudo, da mesma forma como observado por Yousefi et al. (2018), no qual o aumento na concentração de eugenol durante a indução anestésica, não alterou o tempo de recuperação para as diferentes concentrações em *Cyprinus carpio*, também foi observado no presente estudo com a *M. piperita* para o curimatã-pacu. Souza-Silva et al. (2015) que utilizou eugenol para anestesia de Oscar (*Astronotus ocellatus*), verificaram que ocorreu grande variação nos tempos de recuperação, não havendo redução no coeficiente de variação dos tempos de recuperação à medida em que a dose é aumentada. Com o composto isolado mentol, Façanha & Gomes (2005) induziram a anestesia de tambaquis com concentrações de 50-250 mg L⁻¹ com o tempo de 358 a 105 segundos (5,97 a 1,76 minutos), cujo tempo de indução foi menor do que o alcançado neste estudo com o OEMP. Para *S. brasiliensis*, todas as concentrações de mentol avaliadas (60, 90, 120 e 150 mg L⁻¹) induziu a anestesia, sem ocorrência de mortalidade. De forma semelhante, para a espécie *Oligosarcus argenteus* todas as concentrações de mentol (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹) foram eficientes para indução da anestesia profunda, com os tempos variando de 8,38 a 1,09 minutos (Uehara et al., 2019).

Gonçalves et al. (2008) ao estudar o mentol como anestésico de juvenis de pacu (*P. mesopotamicus*), afirma que a substância anestésica possui grande margem de segurança, pois não provocou mortalidade nos animais testados; do mesmo modo que Façanha e Gomes (2005) analisando juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), mesmo após uma exposição

prolongada (30 minutos) ao anestésico, e Simões e Gomes (2005), ao testarem elevada concentração (500 mg L⁻¹) em juvenis de tilápia.

5 - CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Mentha piperita* é tóxico para juvenis de Curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*) quando se é exposto por quatro horas a concentrações superiores a 40,00 µL L⁻¹, apresentando concentração letal estimada em 48,61 µL L⁻¹.

E é eficiente como sedativos e anestésicos em juvenis de curimatã-pacu. A concentração de 170 µL L⁻¹ do óleo essencial de *Mentha piperita* é recomendada para induzir a anestesia em juvenis de Curimatã-pacu, promovendo a anestesia profunda em aproximadamente 3,28 minutos de exposição e a completa recuperação dos peixes em cerca de 3,38 minutos após retorno a água livre do anestésico.

REFERÊNCIAS

ADEL, M, et al. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). **Fish & Shellfish Immunology**, v.45, n.2, p.841-847, 2015.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. Santa Maria, UFSM, 2002, 212p.

BARROS, B. S. **Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de *mentha piperita* L. sobre cepas de *candida albicans*** / Bianca Santos Barros. - - João Pessoa, 2017. 40f.: il. - Orientador: Felipe Queiroga Sarmiento Guerra. Monografia (Graduação) – UFPB/CCS.

BENOVIT, S. C.; GRESSLER, L. T.; SILVA, L. L. Anesthesia and Transport of Brazilian Flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with Essential Oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 43, n. 6, p. 896-900, 2012.

BERTOLETTI, E. Ensaios biológicos com organismos aquáticos e sua aplicação no controle da poluição. **Cetesb**, São Paulo, 1990.

BIZZO, H. B.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.

BOIJINK, C. L.; QUEIROZ, C. A.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; INOUE, L. A. K. A. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 457, p. 24–28, 2016.

BOWEN, S.H. (1983). **Detritivory in neotropical fish communities**. Environmental Biology of Fishes, 9(2): 137-144.

BRANDÃO, F. R. **Anestesia e transporte de *colossoma macropomum* com os óleos essenciais de *alloysia triphylla*, *lippia sidoides* e *mentha piperita***. 2020. 124 F. Tese

(Doutorado em Ciências Pesqueiras nos Trópicos) – Universidade Federal do Amazonas, Amazonas, 2020.

CASTRO, R.; VARI, R.P. (2004). **Detritivores of the South American fish family Prochilodontidae** (Teleostei: Ostariophysi: Characiformes): a phylogenetic and revisionary study. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 622: 1-189.

CESTESB. Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. Consideração preliminares sobre toxicidade aos organismos aquáticos. São Paulo: **Cestesb**, 1990.

COLLINS, V. J. (1978) **Princípios de Anestesiologia**, 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 119p.

FAÇANHA, M.F.; GOMES, L. de C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazônica**, v.35, p.71-75, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0044-59672005000100011>.

FAJER-AVILA, E.J. et al. Toxicity of formalin to bullseye puffer fish (*Sphoeroids annulatus* Jenyns, 1843) and effectiveness to control ectoparasites. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 223, p. 41-50, 2003.

FURUYA, W.M.; SOARES, C.M.; GALDIOLI, E.M. Efeitos da dieta sobre o desempenho de curimatá. **Acta Scientiarum**, v.21, n.3, p. 699-703, 1999.

FURUYA, W.M. Espécies nativas. In: MOREIRA, H.L.M.; VARGAS, L.; RIBEIRO, R.P.; **Fundamentos da Moderna Aquicultura**. ULBRA:Canoas,83-90p.2001.

GODINHO, H. P.; GODINHO, A. L. (2003). **Águas, peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Editora PUC Minas.

HASHIMOTO, G. S. O, et al. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, v.450, p.182-186, 2016.

INOUE, L.A.K.A. et al. **Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus*** (Gunther, 1869). *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943–947, 2003.

ISCAN, G.; DEMIRCI, F.; KIRIMER, N.; KURKCUOGLU, M.; BASER, K.H.C. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.14, p.3943- 3946, 2002.

YOUSEFI, M., HOSEINI, S.M., VATNIKOV, Y.A., NIKISHOV, A.A., KULIKOV, E.V., 2018. Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. **Aquaculture**. 495, 376–383.

LOMBARDI, J.L. Fundamentos de Toxicologia Aquática. In: RANZANI-PAIVA, M.J.T.; TAKEMOTO, R.M.; LIZAMA, M.A.P. (eds.). **Sanidade de Organismos Aquáticos**. Editora Varela. São Paulo – SP, p. 263-272, 2004.

LOPES, A.C.M. (2010). **Diversidade genética das espécies de *Prochilodus spp.* Utilizadas em piscicultura no baixo São Francisco no Estado de Sergipe**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Tiradentes. Aracaju, SE, Brasil.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas**. Nova Odessa, 2006. 400p.

MALHEIROS, D.F.; MACIEL, P.O.; VIDEIRA, M.N, TAVARES-DIAS, M. Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (Pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema spp.* (Monogenea). **Aquaculture**, v.455, p.81–86, 2016.

MAXIMIANO, A.A.; FERNANDES, R.O.; NUNES, F.P.; ASSIS, M.P.; MATOS, R.V.; BARBOSA, C.G.S.; ET AL. 2005. Utilização de drogas veterinárias, agrotóxicos e afins em ambientes hídricos: demandas, regulamentação e considerações sobre riscos à saúde humana e ambiental. **Ciência & Saúde Coletiva**, 10: 483-491.

MIMICA-DUKIC, N.; BOZIN, B.; SOKOVIĆ, M.; MIHAJLOVIĆ, B.; MATAVULJ, M. **Antimicrobial and antioxidant activities of three mentha species essential oils**. *Planta Medica*, v. 69, n. 5, p. 413-419, 2003.

PARK, I. S.; GIL, H. W.; LEE, T. H.; NAM, Y. K.; LIM, S. G.; KIM, D. S. Effects of clove oil and lidocaineHCl anesthesia on water parameter during simulated transportation in the marine medaka, *Oryzias dancena*. **Development e reproduction** v. 21, p. 19-33, 2017.

PAVANELLI, G.C. et al. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. 2. ed. Maringá: Eduem, 2002.

PROENÇA, C.E.M. & BITTENCOURT, P.R.L., 1994, Manual de piscicultura tropical, **IBAMA**, Brasília, 196p

PURBOSARI, N.; WARSIKI, E.; SYAMSU, K.; SANTOSO, J. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A Review. **Aquaculture and Fisheries**, v. 4, p. 129-133, 2019.

KEIFER, D.; Peppermint (*Mentha ×piperita*): An evidence-based systematic review by the Natural Standard Research Collaboration. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**. 2007;7(2):91-143

RAND, G.M. E PETROCELLI, S.R. **Fundamentals of aquatic toxicology**. Washington, Publinshing. Hemisphere, 1985.665p.

ROSS, L.G.; ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. Oxford: **Blackwell Science**, 2008. 236p.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C. 2001. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama Aquicultura**, 11 (66); 37-40

SATO, Y., FENERICH-VERANI, N., GODINHO, H.P. 2003 Reprodução induzida de peixes da bacia do São Francisco. In: GODINHO, H.P. e GODINHO, A.L. **Águas e peixes e pescadores do São Francisco das Minas Gerais**. Editora PUCMinas, Belo Horizonte. p. 275-290.

SINGH, R., SHUSHNI, M.A.M. AND BELKHEIR, A. (2015) Antibacterial and Antioxidant Activities of *Mentha piperita* L. **Arabian Journal of Chemistry**, 8, 322-328.

SLADY, K.K.; Swanson, C.R.; Stoskopf, M.K.; Loomis, M.R.; Lewbart, G.A. 2001. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachipomus*). **American Journal of Veterinary Research**, 3:337-342.

SPANGHERO, D.B.N.; SPANGHERO, E.C.A. de M.; PEDRON, J. dos S.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; ZANIBONI-FILHO, E. Peppermint essential oil as an anesthetic for and toxicity to juvenile *silver catfish*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.54, e00367, 2019.

STANISAVLJEVIĆ D, ĐORĐEVIĆ S, MILENKOVIĆ M, LAZIĆ M, VELIČKOVIĆ D, RANDELOVIĆ N, et al. **Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oils obtained from *Mentha 31 longifolia* L.** Hudson, dried by three different techniques. *Rec. Nat. Prod.* 2014; 8(1): 61-65.

STOSKOPF, M.1993. Anaesthesia. In: Brown, L. (ed.). *Aquaculture for veterinarians: fish husbandry and medicine*. Pergamon Veterinary Handbook Series. London. p.161-168.

SUMMERFELT, R. C.; SMITH, L.S. Anesthesia, surgery, and related techniques. In C. B. Schreck. & P. B. Moyle (Eds.), *Methods for fish biology* (pp. 213-272). Maryland: **American Fisheries Society**, 1990.

TALPUR AD. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture**. 2014; (420-421), 71- 78.

TUCKER, A. AND R.F.C. NACZI (2007). **Mentha: An overview of its classification and relationships**. Pp, 1-39. In: Lawrence, Brian, M., ed. *Mint. The genus Mentha, Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles*. Vol. 44, CRC, Press, Boca Raton, Fl.

VIDAL, L.V.O.; Concentrações de eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, 29(4): 357-362.

WINKALER, E.U.; SANTOS, T.R.M.; MACHADO-NETO, J.G.; MARTINEZ, C.B.R. **Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the Neotropical fresh water fish *Prochilodus lineatus***. Comparative Biochemistry and Physiology, v.145, n.2, p.236–244, 2007.

ZAHL, I.H., SAMUELSEN, O., KIESSLING, A., 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiol. Biochem.** 38, 201–218.