

# Uso de óleos essenciais como anestésico para manejo de camarões marinhos *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus brasiliensis*

*Use of essential oils as anesthetic for handling prawn  
Litopenaeus schmitti and Farfantepenaeus brasiliensis*

Felipe Matelli Matulovic<sup>[a]</sup>, Lídia Miyako Yoshii Oshiro<sup>[b]</sup>

<sup>[a]</sup> Engenheiro de Aquicultura, Mestrando em Zootecnia, Bolsista CAPES, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ - Brasil, e-mail: fematelli@gmail.com

<sup>[b]</sup> Bióloga, Doutora em Ciências, Professora associada 4, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ - Brasil, e-mail: lidiaoshiro\_ufrj@yahoo.com.br

## Resumo

O presente estudo objetivou avaliar a influência dos óleos essenciais de *lavanda*, *sândalo*, *menta* e *cravo* sobre os tempos de indução aos estágios anestésicos e, fisiologicamente, sobre glicemia e concentração total de proteínas no músculo dos camarões *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus brasiliensis*. Para a análise estatística foram aplicados os testes de normalidade Shappiro-Wilk, não-paramétrico de Kruskal-Wallis e múltipla comparação de Dunn. A comparação dos tempos de exposição foi efetuada induzindo-se os estágios anestésicos I (sedação) e II (anestesia profunda), assim como o tempo de recuperação. Os animais (n=10) foram expostos individualmente aos óleos em banhos na concentração de 0,5 mL/L, previamente diluídos em etanol na proporção de 9:1. Os testes bioquímicos tiveram como controle banho com etanol, totalizando cinco tratamentos subdivididos em três tempos de exposição, e um grupo controle geral, sem exposição a banho nenhum (todos, n=4). O óleo de cravo apresentou resultados superiores em todos os testes de tempo, também na maioria dos testes bioquímicos, sendo o único tratamento considerado satisfatório para uso como anestésico. Existe a sugestão de que o óleo de sândalo possa ser útil como agente otimizador de transporte.

**Palavras-chave:** *Litopenaeus schmitti*. *Farfantepenaeus brasiliensis*. Manejo. Óleos essenciais. Anestesia. Tempo de indução.

## Abstract

*This study aimed to evaluate the influence of the essential oils lavender, sandalwood, mint and clove on the induction time toward anesthetic stages, and physiologically on glucose and total protein concentration in the muscle of the shrimps Litopenaeus schmitti and Farfantepenaeus brasiliensis. For the statistical analysis*



it was managed the normality test of Shappiro-Wilk, the non-parametric tests of Kruskal-Wallis, and Dunn's multiple comparison. The exposure times were compared by inducing the anesthetical stage I (sedation) and II (deep anesthesia), as well as the recovery time. The animals ( $n = 10$ ) were individually exposed to oil baths at a concentration of 0.5 mL.L<sup>-1</sup> previously diluted in ethanol at a 9:1 ratio. The biochemical tests had bath with ethanol as a control, totaling five treatments sorted out into three exposure times, and a general control group without exposure to any bath (overall,  $n = 4$ ). Clove oil showed superior results in all tests of time and in most biochemical tests as well, being the only treatment considered suitable for use as an anesthetic. It has been suggested that the oil of sandalwood can be useful as an optimizer transport agent.

**Keywords:** *Litopenaeus schmitti*. *Farfantepenaeus brasiliensis*. *Essential oils*. *Handling*. *Anesthetic*. *Induction time*.

## Introdução

O manejo de crustáceos normalmente é realizado sem o uso de substâncias anestésicas (Akbari et al., 2010), inclusive nos procedimentos de ablação do pedúnculo ocular, evento que estressa visivelmente os crustáceos (Taylor et al., 2004). Ainda, os camarões têm características comportamentais de canibalismo e territorialismo, além de rostros afiados e movimentação explosiva, de modo que o uso de pequenas concentrações de anestésico na água pode ser aconselhável por reduzir as respostas de fuga-e-retirada e gerar conforto laboral aos manuseadores (Akbari et al., 2010). Ademais, assim como no peixe *Pleuronectes americanus* (Park et al., 2009), deve possibilitar a manutenção da qualidade da água do transporte, devido ao menor consumo de oxigênio e liberação de metabólitos.

Os óleos de lavanda, sândalo, menta e cravo são rotineiramente encontrados em produtos para uso humano, de cosméticos a alimentação, apresentando pouquíssimo risco aos manuseadores. Óleos essenciais de plantas são ainda uma boa alternativa ambiental, pois são altamente voláteis e não deixam resíduos tóxicos (Park et al., 2011). O óleo essencial de cravo e seu princípio ativo, o eugenol, tem obtido sucesso em testes com peixes e mais recentemente com crustáceos: Huntsberger (2012), com *Homarus americanus* e *Carcinus maenas*; Parodi et al. (2012) com *Litopenaeus vannamei*; Coyle et al. (2005) e Saydmohammed e Pal (2009) com *Macrobrachium rosenbergii*. O mentol, princípio do óleo essencial de menta, tem sido largamente testado em peixes com bons resultados, porém são escassos os testes em crustáceos. Os óleos de lavanda e sândalo brasileiro nunca foram testados para esse fim na aquicultura, porém o óleo de lavanda possui linalol

e acetato de linalol, relatados como eficientes em reduzir a nocicepção em dores térmica, química e inflamatória em ratos (Peana et al., 2002; Peana et al., 2003), e ambos são popularmente utilizados como calmante e sedativo, em aromaterapia, emplastos, chás e infusões..

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os óleos essenciais de lavanda (*Lavandula officinalis*), sândalo brasileiro (*Amyris balsamifera*), menta (*Mentha piperita*) e cravo (*Eugenia caryophyllata*) como possíveis anestésicos para manejo das espécies decápodes *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus brasiliensis*.

## Materiais e métodos

O estudo foi realizado em duas etapas: (a) tomada de tempo para indução dos estágios de anestesia e recuperação; (b) realização de análises bioquímicas. Após a coleta por pescadores da Baía de Sepetiba, os indivíduos do camarão branco, *Litopenaeus schmitti*, e do camarão-rosa, *Farfantepenaeus brasiliensis*, foram testados após sete dias e oito dias de aclimação, respectivamente, em caixas de polietileno com 350 L de volume útil. A alimentação diária e *ad libitum* foi feita à base de músculos de camarão, lula e mariscos. A renovação da água foi próxima a 100%/dia, efetuada por sifonagem duas vezes ao dia para retirada de excretas, restos de alimentos e ecdises, e diretamente da coluna d'água. A água do mar era filtrada em filtro mecânico, biológico e luz ultravioleta, com valores médios do pH foi de 7,2 e salinidade de 32 ppt. A instituição não possuía restrições na utilização de invertebrados para pesquisa.

Os óleos foram adquiridos em instituição comercial e mantidos em refrigerador doméstico. A concentração foi estipulada a partir do encontrado na literatura para o óleo de cravo, teoricamente o mais eficiente, então todos foram testados em concentrações mais altas que os trabalhos com óleo de cravo indicavam. A análise dos óleos foi realizada em equipamento Cromatógrafo Gasoso modelo CG-MS - QP2010 Plus (Shimadzu). Os gráficos foram cuidadosamente comparados com a quarta edição do *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry* (Adams, 2007).

Para os testes de tempo de indução aos estágios anestésicos, os animais foram colocados individualmente em aquários com 4 L de volume útil. O óleo a ser testado foi diluído em etanol (9:1), totalizando 18 mL de etanol e 2 mL de óleo, formando uma solução de banho com concentração igual a 0,5 mL/L de óleo. Foram utilizados oito aquários idênticos, quatro para os banhos com os respectivos tratamentos (LAV, SAN, MEN, CRA), e quatro como banhos de recuperação, sem óleo algum e com a água trocada a cada duas recuperações. Foram utilizados 40 indivíduos por espécie (n = 10), todos no estágio de intermuda. Cada tratamento tinha sua rede de coleta, evitando misturar os compostos. Foi feito um pré-teste utilizando apenas o volume de álcool sem óleo essencial e não foram observados efeitos visuais de sedação ou anestesia, sendo então descartado como tratamento.

A escala utilizada para determinação dos estágios de anestesia foi aquela usada por Coyle et al. (2005), com modificações, composta por cinco estágios: N = indivíduo normal, sem exposição a agentes anestésicos; I = indivíduo com sinais de sedação, com reflexos e movimentação diminuídos; II = indivíduo totalmente anestesiado, deitado imóvel no fundo do aquário; R = indivíduo recuperado e T = indivíduo morto. Foram tomados os Tempo de Indução ao Estágio I (N-I), Tempo de indução ao Estágio II a partir do Estágio I (I-II) e Tempo de Recuperação (Rec.). Os indivíduos foram expostos de forma individual, em baterias com um indivíduo por tratamento, totalizando 10 baterias. O tempo máximo de exposição foi fixado em 15 min ou chegando ao estágio II, quando foram enxaguados em água marinha corrente para retirada de óleo vestigial, sendo depois colocados no aquário de

recuperação, onde permaneciam por, no mínimo, 30 min ou até atingir a recuperação. Todas as anotações foram feitas por um observador capacitado.

A temperatura da água nas caixas de estocagem foi de 21,7 °C, nos banhos chegou a 23,4 °C, nas caixas de manutenção pós-teste (100 L, cheias) foi de 22,1 °C e a água corrente de 21,9 °C. A caixa de manutenção teve a água renovada em 50% antes do teste, sendo mantida em 20% do total útil durante o experimento (com renovação constante), facilitando a captura dos indivíduos. Para manter a amônia em níveis baixos, os animais foram submetidos ao jejum de 48h e mantida uma renovação constante de água próxima a 100%/hora durante o experimento.

Um grupo de camarões foi separado numa caixa de 50 L com 10 L de água e aeração constante, ficando próximo à bancada com os aquários. Foram selecionados quatro camarões de tamanhos semelhantes, que foram colocados rapidamente em um balde com pouca água. Ao iniciar a cronometragem, eles foram colocados sistematicamente nos aquários, sempre na mesma ordem e a cada 15 segundos (lavanda, sândalo, menta, cravo), descontando-se esse tempo entre o primeiro e os outros.

Para os testes bioquímicos foram utilizados os quatro óleos (Lavanda= LAV, Sândalo= SAN, Menta= MEN e Cravo= CRA), e um grupo controle exposto somente ao veículo de diluição do óleo, ou seja, 4,5 mL/L de etanol (alc), num total de cinco tratamentos. Cada tratamento foi subdividido em três tempos de exposição: 15 segundos (O), 300 segundos (I) e 600 segundos (II), totalizando assim 15 tratamentos (LAV O, LAV I, LAV II; SAN O, SAN I, SAN II; MEN O, MEN I, MEN II; CRA O, CRA I, CRA II; alc O, alc I, alc II), mais um controle geral, com quatro indivíduos congelados em nitrogênio líquido sem passar por banho. Para cada tratamento foram utilizados quatro animais, totalizando 64 indivíduos por espécie. Após a exposição ao respectivo banho no determinado tempo, os animais foram enrolados em um cartucho de papel alumínio e congelados em nitrogênio líquido, não havendo etapa de recuperação. Cada tratamento recebeu uma identificação a lápis em etiquetas de papel vegetal.

Para os ensaios, os camarões foram degelados, pesados e tiveram retirado o cefalotórax e todo o exoesqueleto, utilizando-se somente o músculo, que foi lavado em água destilada, secos em papel

filtro, pesados, cortados e homogeneizados em POTTER (20 mL) com 10 partes de solução tampão fosfato (pH 7,5; 0,1 M). Após homogeneização foram separadas alíquotas de 1 mL congeladas em nitrogênio líquido e mantidos a -80 °C.

O músculo dos animais foi utilizado para a determinação da glicemia e da concentração de proteína total. Para a glicemia foi utilizado o “método enzimático colorimétrico para a determinação de glicose” (katal), de solução pronta para uso imediato, com comprimento de onda para leitura em espectrofotômetro de 505nm. Para a proteína total foi utilizado o método de Peterson (1979) modificado (diluição de 200 vezes da solução homogeneizada), que é o método de Lowry modificado, que baseia-se no uso de 1 mL de reagente “A” (proporção de 1:1:1:1 das soluções CTC (10% de carbonato de sódio + 0,02% de tartarato duplo de sódio e potássio + 0,1% de sulfato de cobre + H<sub>2</sub>O), SDS (10%, lauril sulfato de sódio), NaOH (3,2%, hidróxido de sódio) e H<sub>2</sub>O; e de 0,5 mL de reagente “B” (1:4, follin:H<sub>2</sub>O). O comprimento de onda utilizado foi 750nm.

Para a análise estatística ( $p < 0,05$ ) foram aplicados o teste de normalidade Shapiro-Wilk (SW) e o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com *post-test* “Dunn’s Multiple Comparison Test”.

## Resultados

A análise dos óleos em cromatógrafo gasoso determinou seus componentes e suas concentrações. Os óleos de lavanda, sândalo e menta (Tabela 1) mostraram grande diversidade de componentes, totalizando 30, 35 e 33 elementos diferentes, respectivamente. O óleo de cravo apresentou apenas cinco elementos. Foram enumerados os elementos que apresentaram concentração maior que 3% no óleo.

Para as duas espécies, o tratamento CRA apresentou o N-I mais eficiente, considerado como instantâneo (0 segundos). Os tratamentos LAV e MEN sedaram um número semelhante de indivíduos em ambas as espécies, com resultados menos eficientes. O tratamento SAN induziu o estágio I em todos os camarões brancos, com tempo estatisticamente semelhante ao do tratamento LAV; entretanto, não apresentou

**Tabela 1** - Os principais componentes (com mais que 3% de concentração) dos óleos de lavanda, sândalo, menta e cravo, suas concentrações por componente e o total dos componentes com mais que 3% de concentração

Componente	Concentração (%)	KI
Linalol	29,64	1096
Acetato de Linalol	28,14	1257
Cânfora	5,97	1146
Borneol	4,81	1169
1,8-Cineole	4,12	1031
<b>Total Lavanda</b>	<b>72,68%</b>	
Valerianol	24,02	1658
Hedycaryol	10,93	1548
Eudesmol 7-epi-alpha	8,84	1663
Eudesmol gama	8,76	1632
Eudesmol 10-epi-gama	7,05	1623
Dauca-4(11),7-diene trans-	3,02	1557
<b>Total Sândalo</b>	<b>62,62%</b>	
Mentol	34,16	1171
Mentona	16,42	1152
Mentil acetato	7,76	1295
1,8-Cineole	6,14	1031
Isomentol	5,51	1182
Neoisomentol	4,79	1162
Menthofuran	4,35	1164
<b>Total Menta</b>	<b>79,13%</b>	
Eugenol	71,31	1359
Cariofileno-E	19,15	1419
Alfa-cariofileno	4,06	1454
Óxido de cariofileno	3,38	1583
Acetato de chavibetol	2,10	1525
<b>Total Cravo</b>	<b>100%</b>	

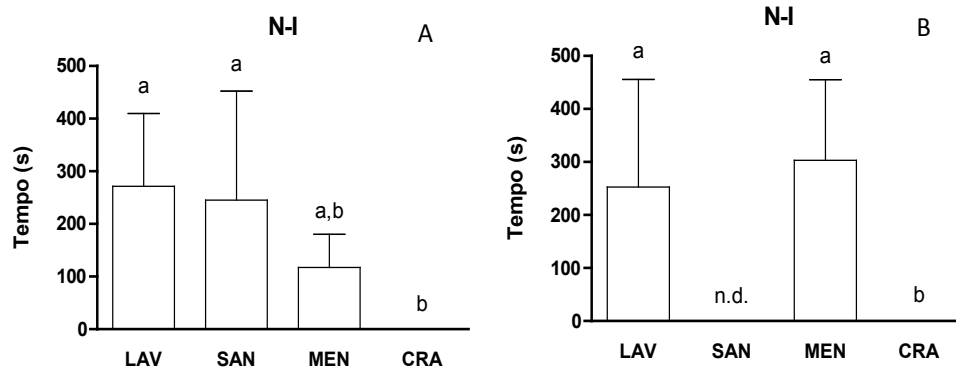
nenhuma eficiência anestésica no camarão rosa (Figura 1).

O tratamento CRA apresentou os melhores resultados de tempo de indução do Estágio I-II em ambas as espécies. Estatisticamente, os tratamentos LAV e SAN não induziram o Estágio II (LAV induziu um camarão rosa e SAN um camarão branco). O tratamento MEN induziu Estágio II em 60% dos camarões branco, apresentando o pior resultado estatístico na comparação, ademais, não apresentou esse efeito nos camarões rosa (Figura 2).

O tempo de recuperação mais eficiente foi obtido pelo tratamento CRA, mesmo tendo induzido

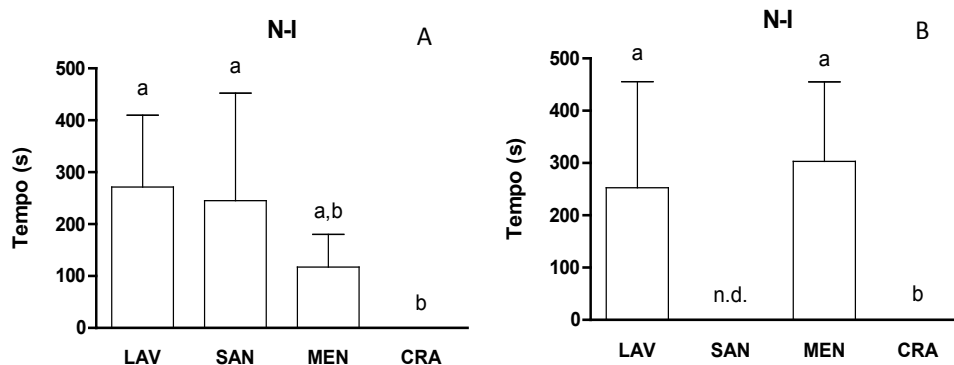
anestesia profunda em todos os indivíduos de ambas as espécies. O tratamento LAV apresentou o maior tempo de recuperação, e o tratamento MEN resultados estatisticamente intermediários. O tratamento SAN anestesiou apenas o camarão branco (consequentemente, o camarão rosa não apresentou dados de recuperação) e apresentou resultado estatístico semelhante ao CRA; entretanto, não induziu anestesia profunda (Figura 3).

Os dados de sobrevivência não puderam ser analisados estatisticamente, pois apresentam dados brutos de contagem final (valores absolutos de apenas uma observação n=1), porém ficou claro



**Figura 1** - Tempo de indução ao Estágio I (n=10)

Legenda: A= camarão branco (*L. schmitti*); B= camarão rosa (*F. brasiliensis*); LAV= lavanda; SAN= sândalo; MEN= menta; CRA= cravo; e n.d.= não determinado.



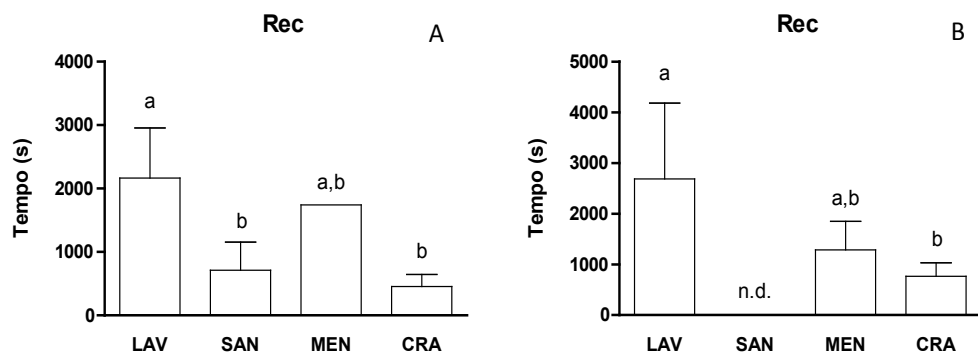
**Figura 2** - Tempo de indução ao Estágio II a partir do Estágio I (n=10)

Legenda: A= camarão branco (*L. schmitti*); B= camarão rosa (*F. brasiliensis*); LAV= lavanda; SAN= sândalo; MEN= menta; CRA= cravo; e n.d.= não determinado.

que os óleos de lavanda e sândalo apresentaram pouca ou nenhuma toxicidade, diferentemente dos óleos de menta e cravo (sobrevivência respectiva para brancos e rosas: LAV = 90% e 80%; SAN = 90% e 100%; MEN = 10% e 60% e CRA = 40% e 30%).

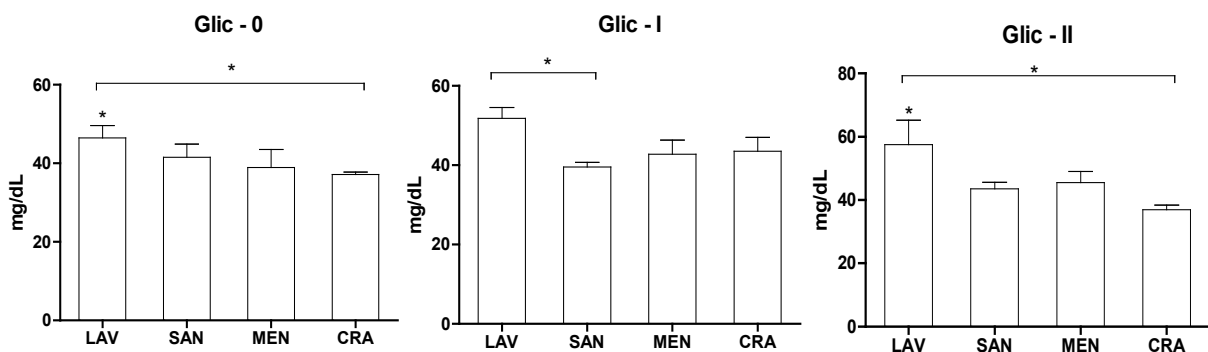
Nos ensaios de concentração de proteína total e glicemia nos músculos, com o camarão branco, o tratamento LAV foi responsável por apresentar as maiores concentrações em todos os testes, porém nem sempre com diferenças significativas, apesar de ser o único a apresentá-las. Comparando os resultados de cada tratamento nos diferentes tempos de exposição não foram apresentadas diferenças estatísticas.

No camarão rosa, as análises de glicemia apresentaram diferença estatística entre LAV e CSOL e entre LAV e CRA nos tempos 0 e II. No tempo I houve diferença entre LAV e SAN (Figura 4). Na comparação do mesmo tratamento nos diferentes tempos, houve apenas uma diferença significativa na glicemia (SAN, com uma concentração intermediária no Tempo 0, menor no Tempo I e maior no Tempo II). Os ensaios para concentração de proteína não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, e apenas uma entre o mesmo tratamento nos diferentes tempos (MEN, com a menor concentração no tempo 0, a maior no tempo I e uma intermediária no tempo II).



**Figura 3** - Tempo de Recuperação (n=10)

Legenda: A= camarão branco (*L. schmitti*); B= camarão rosa (*F. brasiliensis*); LAV= lavanda; SAN= sândalo; MEN= menta; CRA= cravo; e n.d.= não determinado.



**Figura 4** - Glicemia no músculo de camarão rosa (*F. brasiliensis*) nos diferentes tempos de exposição

Legenda: Glic-0= Glicemia no tempo 0; Glic-I= Glicemia no tempo I; Glic-II= Glicemia no tempo II; LAV= lavanda; SAN= sândalo; MEN= menta; CRA= cravo.

Nota: Os asteriscos sobre a coluna representam diferenças entre o tratamento com o asterisco e o grupo controle com exposição ao veículo de diluição dos óleos. A barra horizontal com um asterisco apresenta a diferença significativa entre os tratamentos nos extremos da barra.

## Discussão

Muitos estudos têm sido feitos com o intuito de demonstrar a eficiência anestésica e nociceptiva de alguns óleos essenciais e seus componentes, entretanto, poucos realizados em invertebrados. O óleo de lavanda, apesar da grande concentração de linalol, acetato de linalol, cânfora e borneol, compostos estudados em vertebrados por demonstrar uma série de efeitos nos aspectos de analgesia e anestesia (Hall et al., 2004; Batista et al., 2010; Zalachoras et al., 2010), não produziu efeito desejado nos camarões testados. Não foram achados registros na literatura científica sobre o uso do óleo de sândalo ou seus principais componentes com fins de anestesia, analgesia ou nocicepção em qualquer espécie aquática. Contudo, tal óleo pareceu influenciar benéficamente o comportamento dos indivíduos. O *menthol*, principal componente do óleo de menta, tem obtido bons resultados anestésicos em peixes, como Teixeira et al. (2011) com tilápias, Façanha e Gomes (2005) com tambaquis, Gonçalves et al. (2008) com juvenis de pacú, entre outros. Outros componentes do óleo podem ter efeito semelhante, como 1-8 cineole (Zalachoras et al., 2010), mentona (Hall et al., 2004), e outros, mas em camarões não produziu efeito desejado. O eugenol, altamente concentrado em óleo de cravo, vem apresentando excelente efeito em crustáceos, inclusive nos camarões testados neste experimento.

O presente estudo sugere que o óleo de sândalo não é agressivo às brânquias ou outros tecidos, pois os animais permaneceram calmos, com movimentação normal, segura e alinhada. O óleo de menta causou o maior desconforto, impressão sugerida pela movimentação intensa dos pereiópodos quelados, junto às brânquias e ao redor delas, como que querendo remover do local um agente irritante. A exteriorização de uma atividade especificamente dirigida pode ser interpretada como sugestão de dor, como esfregar ou concentrar atenção em determinado ponto do corpo ou estrutura, assim como denota consciência do local do dano real ou potencial (Weary et al., 2006), e a continuidade desta movimentação indica ser mais que uma reação reflexa (Elwood et al., 2009).

Apesar de menos intenso, o óleo de lavanda também alterou o comportamento dos indivíduos de forma similar ao óleo de menta. A exteriorização do

desconforto pode acarretar em alterações adversas na fisiologia, pois o excesso de movimentação no mínimo aumenta o desgaste fisiológico dos indivíduos, provavelmente aumentando o consumo de oxigênio e das reservas energéticas.

No presente estudo, os resultados dos tempos de indução (N-I e I-II) indicaram que o uso dos óleos de lavanda e sândalo não foram eficientes em promover anestesia profunda. Diferentemente, o óleo de menta fez com que os animais atingissem o estágio II de anestesia, porém com tempos de indução e recuperação superiores aos recomendados na literatura, mesmo com uma concentração alta, sendo descartado também para tal finalidade. O óleo de cravo apresentou resultados dentro dos padrões estabelecidos: indução ao estágio II em menos de 3 minutos e recuperação em até 10 minutos (Park et al., 2003), exceto para a recuperação do camarão rosa (12 minutos e 46 segundos).

Apesar da alta mortalidade com o óleo de cravo no presente estudo, provavelmente devido à alta concentração utilizada se comparada com outros trabalhos, nota-se que os tempos de indução (N-I e I-II) e recuperação (Rec.) se apresentaram dentro do adequado. A redução na concentração do óleo, possivelmente aumentaria o tempo de indução ao estágio de anestesia profunda, entretanto poderia diminuir o tempo de recuperação. De acordo com Soltani et al. (2004), os animais expostos às maiores concentrações de óleo de cravo necessitaram de maiores tempos para recuperação, recomendando usar concentrações entre 100 e 150mg/l para anestesia profunda de *Penaeus semisulcatus* (1,8 - 2,1g), baseado nos tempos de resposta a estímulos mecânico, perda de equilíbrio e recuperação.

O aumento da concentração dos óleos pode potencializar o risco de parada respiratória, provavelmente pelas suas propriedades físicas, que cobre as estruturas anatômicas, tornando-se relevante quando o óleo persiste nas brânquias, resultando em prolongada exposição ao químico, sustentando um aumento do efeito anestésico (Sladky et al., 2001) e provavelmente reduzindo as trocas respiratórias. Considerando-se este fato, pode-se inferir que a redução na concentração deva diminuir consideravelmente a mortalidade, salientando-se que, no presente trabalho, os animais receberam alguns segundos de água corrente por todo o corpo, antes de entrarem para a recuperação,

porém como as brânquias são bem protegidas, a retirada dos óleos pode não ter sido eficiente.

Além do uso como anestésico para indução ao estágio II, existe a necessidade de um agente otimizador para transporte dos animais vivos, inclusive para pré-consumo, que não seja tóxico e de depuração inferior a uma hora (Marking e Meyer, 1985). Para essa finalidade, Akbari et al. (2010) fizeram uso do principal princípio ativo do óleo de cravo, o eugenol, e reportaram que o uso em pequenas concentrações causou leve estado de sedação em pós larvas de *Fanneropenaeus indicus*, permanecendo mais tempo no fundo do que na coluna de água. Além disso, houve redução no consumo de oxigênio, provavelmente pela inatividade, à medida que aumentava a concentração do fármaco, algo evidentemente interessante, visto que o oxigênio dissolvido é o parâmetro mais correlacionado com a taxa de sobrevivência (Smith e Wannamaker, 1983).

O óleo de lavanda causou desconforto nos indivíduos, e provavelmente não é uma substância apropriada para ser utilizada como sedativo para transporte. Diferentemente, o óleo de sândalo sedou todos os camarões brancos, mas nenhum camarão rosa, todavia aparentou ser o mais agradável aos indivíduos, visto que os mesmos continuaram com movimentação perfeita, mas nadavam menos e moviam com calma os pereiópodos quelados. Estes sinais indicam que o óleo de sândalo pode atuar como calmante e assim reduzir o metabolismo e a atividade, auxiliando na manutenção da concentração de oxigênio e qualidade de água.

Apesar dos inúmeros trabalhos sugerindo mentol na atuação como anestésico em transporte de peixes de várias espécies (Teixeira et al., 2011; Façanha e Gomes, 2005; Gonçalves et al., 2008; entre outros), tal composto não parece ser promissor como anestésico/analgésico/relaxante muscular em crustáceos. No presente estudo, ficou claro que a concentração utilizada foi muito alta, chegando a ser tóxica, e o desconforto dos animais à sua exposição foi evidente, sendo pouco provável alguma utilidade no transporte das espécies estudadas. Saydmohammed e Pal (2009), utilizando *M. rosenbergii*, não obtiveram bons resultados com o seu uso isolado, fazendo efeito somente quando combinado com eugenol, um composto largamente testado e recomendado para crustáceos em geral.

Fisiologicamente, a glicose é um dos principais componentes dos carboidratos circulantes na hemolinfa de crustáceos (Chang e O'Connor, 1983; Radford et al., 2005) e sua mobilização é geralmente aceita como meio para fornecer recursos extras de energia metabólica (Pascual et al., 2003; Acerete et al., 2004; Jentoft et al., 2005). No presente estudo foi observado que a concentração de glicose no tecido muscular do camarão branco foi de 43,2mg/dL e do rosa foi de 45,8mg/dL (para os grupos controle, sem banho).

O que se espera com o uso de anestésicos/sedativos é que ocorra o menor desgaste fisiológico possível, visto que o estresse pontual desencadeia um fenômeno chamado "Síndrome da Adaptação" (Barton, 2002), podendo debilitar a saúde e levar a uma baixa sobrevivência no manuseio e transporte vivo (Fotedar et al., 2006). O único tratamento a causar aumento consistente na glicemia foi o óleo de lavanda, pois provavelmente este óleo alterou o sistema fisiológico dos indivíduos da forma padrão (induziu ao estresse ou não o evitou), transformando glicogênio das reservas em glicose disponível para uso imediato, viabilizado pela liberação de Hormônio Hiperglicêmico crustáceo (HHc) (Santos e Keller, 1993). A redução da glicemia pode ter sido por impedir a liberação do HHc, refletindo o aumento na taxa de consumo da energia disponível sem o aporte de glicose extra das reservas de glicogênio.

Energeticamente, o músculo abdominal é um dos tecidos cuja função depende fortemente de um fornecimento equilibrado de glicose (Gutiérrez et al., 2007). Contudo Rosas et al. (1993; 2004) demonstraram que o camarão é bem adaptado para utilizar a proteína como fonte de energia e como moléculas de crescimento. Tem-se demonstrado que o estresse pontual atua alterando uma série de parâmetros da hemolinfa, como densidade, pH, proteína total e concentração de hemocianina (Lorenzon et al., 2007; Zhang et al., 2006).

Todavia, no presente estudo, provavelmente o tempo de exposição não permitiu que o metabolismo se alterasse por tempo suficiente, impossibilitando destacar as diferenças que, por ventura, seriam geradas frente aos agentes testados, no parâmetro de concentração de proteína total do tecido muscular. Zhang et al. (2006), estudando a fadiga em teste de velocidade de correnteza versus tempo



de natação do camarão *Litopenaeus vannamei*, verificaram diferenças significativas no peso úmido total, além de proteína total e glicose da hemolinfa já no tratamento de menor duração, o qual os indivíduos foram expostos a maior velocidade de correnteza (11,47m/s). No entanto, o menor tempo foi em torno de 0,5h, e no presente estudo o tempo de exposição testado foi um terço deste valor. Por ter sido um teste mais curto e menos intenso, no presente trabalho não foi possível tamanha alteração no metabolismo de proteínas.

Os resultados bioquímicos não indicaram a melhor alternativa de uso dos óleos essenciais testados como anestésicos para os camarões, mas a pior entre eles. O tratamento com o óleo de lavanda apresentou o maior efeito no aumento da concentração de glicose e proteína total dos indivíduos, embora obtendo diferença apenas em alguns tratamentos. Apesar das poucas diferenças estatísticas, nota-se que a glicemia foi mais elevada nos tratamentos com lavanda em todas as comparações, para ambas as espécies. Para a proteína total, apenas o camarão branco (*L. schmitti*) apresentou diferença significativa. A inexistência dessas diferenças deve advir do fato do pouco tempo de exposição aos óleos, já que o maior intervalo de tempo foi de 10 minutos, revelando-se ser pouco, principalmente para o metabolismo de proteínas.

Parodi et al. (2012) relatam aumento da concentração necessária com o aumento do tamanho dos indivíduos de *L. vannamei*. Apesar de terem comparado a mesma espécie, no presente trabalho, com o uso de duas espécies, acredita-se que o tamanho tenha sido o fator fundamental para as diferenças entre elas, com os menores indivíduos apresentando menor resistência (para os testes de tempo de indução: camarão branco= 2,01±0,78g; camarão rosa= 4,53±1,36g; para os testes bioquímicos: camarão branco= 1,42±0,20g e camarão rosa= 2,21±0,21g).

## Conclusão

O óleo de cravo apresentou resultados superiores em todos os testes de tempo, também na maioria dos testes bioquímicos, sendo o único tratamento considerado satisfatório para uso como anestésico.

Existe a sugestão de que o óleo de sândalo possa ser útil como agente otimizador de transporte.

## Agradecimentos

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos, à Estação de Biologia Marinha, pelos recursos do experimento, e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela viabilização do projeto.

## Referências

Acerete L, Balasch JC, Espinosa E, Josa A, Tort L. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture*. 2004; 237(1-4):167-178. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.03.018

Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry. 4. ed. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation; 2007.

Akbari S, Khoshnod MJ, Rajain H, Afsharnasab M. The use of eugenol as an anesthetic in transportation of with indian shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) post larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2010; 10:423-429. doi:10.4194/trjfas.2010.0317.

Barton BA. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*. 2002; 42(3):517-525. doi:10.1093/icb/42.3.517.

Batista PA, Werner MFP, Oliveira EC, Burgos L, Pereira P, Brum LFSB et al. The Antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. *The Journal of Pain*. 2010; 11(11):1222-1229. doi:10.1016/j.jpain.2010.02.022.

Coyle SD, Dasgupta S, Tidwell JH, Beavers T, Bright LA, Yasharian DK. Comparative efficacy of anesthetics for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of the*

- World Aquaculture Society. 2005; 36(3):282-290. doi:10.1111/j.1749-7345.2005.tb00332.x.
- Chang ES, O'Connor JD. Metabolism and transport of carbohydrates and lipids. In: Bliss DE (Ed.). *The biology of Crustacea*. vol. 5. York, NY: Academic Press Inc. 1983; 263-287.
- Elwood RW, Barr S, Patterson L. Pain and stress in crustaceans? *Applied Animal Behaviour Science*. 2009; 118(3-4):128-136. doi:10.1016/j.applanim.2009.02.018.
- Façanha MF, Gomes LC. 2005. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazonica*. 2005; 35(1):71-75. doi:10.1590/S0044-59672005000100011.
- Fotedar S, Evans L, Jones B. Effect of holding duration on the immune system of western rock lobster, *Panulirus cygnus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2006; 143(4):479-487. doi:10.1016/j.cbpa.2006.01.010.
- Gonçalves AFN, Santos ECC, Fernandes JBK, Takahashi LS. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Scientiarum: Animal Sciences, Maringá*. 2008; 30(3):339-344. doi: 10.4025/actascianimsci.v30i3.1081.
- Gutiérrez A, Nieto J, Pozo F, Stern S, Schoofs L. Effect of insulin/IGF-I like peptides on glucose metabolism in the white shrimp *Penaeus vannamei*. *General and Comparative Endocrinology*. 2007; 153(1-3):170-175.
- Hall AC, Turcotte CM, Betts BA, Yeung WY, Agyeman AS, Burk LA. Modulation of human GABAA and glycine receptor currents by menthol and related monoterpenoids. *European Journal of Pharmacology*. 2004; 506(1):9-16. doi:10.1016/j.ejphar.2004.10.026.
- Huntsberger C. Use of Injectable Eugenol for Euthanasia and Anesthesia of American Lobsters (*Homarus Americanus*) and Similar Species. 35 f. Thesis (Bachelor of Science) - Feinstein College of Arts and Sciences, Roger Williams University, Bristol, 2012.
- Jentoft S, Aastveit AH, Torjesen PA, Andersen Ø. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2005; 141(3):353-358. doi:10.1016/j.cbpb.2005.06.006.
- Lorenzon S, Giulianini PG, Martinis M, Ferrero EA. Stress effect of different temperatures and air exposure during transport on physiological profiles in the American lobster *Homarus americanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2007; 147(1):94-102. doi:10.1016/j.cbpa.2006.11.028
- Marking LL, Meyer FP. Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries*. 1985; 10(6):2-5. doi:10.1577/1548-8446(1985)010.
- Park HM, Kim J, Chang KS, Kim BS, Yang YJ, Kim GH et al. Larvicidal activity of Myrtaceae essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna* and aqueous residue. *Journal of Medical Entomology*. 2011; 48(2):405-410.
- Park IS, Jo JH, Lee SJ, Kim YA, Park KE, Hur JW et al. Anesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate and MS-222 on the Greenling (*Hexagrammos otakii*). *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2003; 36(5):449-453. doi:10.5657/kfas.2003.36.5.449.
- Park IS, Park MO, Hur JW, Kim DS, Chang YJ, Kim YJ et al. Anesthetic effects of lidocaine-hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder, *Pleuronectes americanus*. *Aquaculture*. 2009; 294(1-2):76-79. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.05.011.

- Parodi TV, Cunha MA, Heldwein CG, Souza DM, Martins AC, Garcia LO et al. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*. 2012; 155(3):462-468. doi:10.1016/j.cbpc.2011.12.003.
- Pascual C, Sánchez A, Sánchez A, Vargas-Albores F, LeMoullac G, Rosas C. Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adult males: the effect of an extreme temperature. *Aquaculture*. 2003; 218(1-4):637-650. doi:10.1016/S0044-8486(02)00300-9.
- Peana AT, D'Aquila PS, Chessa ML, Moretti MDL, Serra G, Pippia P. (-)-Linalool produces antinociception in two experimental models of pain. *European Journal of Pharmacology*. 2003; 460(1):37-41. doi:10.1016/S0014-2999(02)02856-X.
- Peana AT, D'Aquila PS, Panin F, Serra G, Pippia P, Moretti MDL. Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*. 2002; 9(8):721-726.
- Peterson GL. Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. *Analytical Biochemistry*. 1979; 100(2):201-220. doi:10.1016/0003-2697(79)90222-7.
- Radford CA, Marsden ID, Davison W, Taylor HH. Haemolymph glucose concentrations of juvenile rock lobsters, *Jasus edwardsii*, feeding on different carbohydrate diets. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2005; 140(2):241-249. doi:10.1016/j.cbpb.2005.01.002.
- Rosas C, Cooper EL, Pascual C, Brito R, Gelabert R, Moreno T et al. Indicators of physiological and immunological status of *Litopenaeus setiferus* wild populations (Crustacea, Penaeidae). *Marine Biology*. 2004; 145(2):401-413. doi:10.1007/s00227-004-1321-y.
- Rosas C, Fernandez I, Brito R, Diaz-Iglesia E. The effect of eyestalk ablation on the energy balance of the pink shrimp, *Penaeus notialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology*. 1993; 104(1):183-187. doi:10.1016/0300-9629(93)90027-2.
- Santos EA, Keller R. Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) and the regulation of carbohydrate metabolism: current perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology*. 1993; 106(3):405-411. doi:10.1016/0300-9629(93)90234-U.
- Saydmohammed M, Pal AK. Anesthetic effect of eugenol and menthol on handling stress in *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 2009; 298(1-2):162-167. doi:10.1016/j.aquaculture.2009.10.020.
- Sladky KK, Swanson CR, Stoskopf MK, Loomis MR, Lewbart GA. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *American Journal of Veterinary Research*. 2001; 62(3):337-342. doi:10.2460/ajvr.2001.62.337.
- Smith TIJ, Wannamaker AJ. Shipping studies with juvenile and adult Malaysian prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquacultural Engineering*. 1983; 2(4):287-300. doi:10.1016/0144-8609(83)90024-9.
- Soltani M, Marmari GH, Mehrabi MR. Acute toxicity and anesthetic effects of clove oil in *Penaeus semisulcatus* under various water quality conditions. *Aquaculture International*. 2004; 12(4):457-466. doi:10.1023/B:AQUI.0000042137.26705.7b
- Taylor J, Vinatea L, Ozorio R, Schuweitzer R, Andreatta ER. Minimizing the effects of stress during eyestalk ablation of *Litopenaeus vannamei* females with topical anesthetic and a coagulating agent. *Aquaculture*. 2004; 233(1-4):173-179. doi:10.1016/j.aquaculture.2003.09.034.

Teixeira EG, Moreira AGL, Moreira RL, Lima FRS. Mentol como anestésico para diferentes classes de tamanho de tilápia-do-nylo. *Archives of Veterinary Science*. 2011; 16(2):75-83. doi:10.5380/avs.v16i2.18657.g17378.

Weary DM, Niel L, Flower FC, Fraser D. Identifying and preventing pain in animals. *Applied Animal Behaviour Science*. 2006; 100(1-2):64-76. doi:10.1016/j.applanim.2006.04.013.

Zalachoras I, Kagiava A, Vokou D, Theophilidis G. Assessing the local anesthetic effect of five essential oil constituents. *Planta Medica*. 2010; 76(15):1647-1653. doi:10.1055/s-0030-1249956.

Zhang P, Zhang X, Li J, Huang G. Swimming ability and physiological response to swimming fatigue in whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 2006; 145(1):26-32. doi:10.1016/j.cbpa.2006.04.014.

Recebido em: 13/01/2016

*Received in:* 01/13/2016

Aprovado em: 09/05/2016

*Approved in:* 05/09/2016