

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO - UFRJ
INSTITUTO DE QUÍMICA - IQ**

FERNANDA DOS SANTOS SILVA



**PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS
AROMÁTICAS DA REGIÃO SERRANA DO RIO DE JANEIRO: *Aspidosperma
olivaceum* Müll. Arg., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula*
(DC.) O. Berg**

RIO DE JANEIRO
2013

FERNANDA DOS SANTOS SILVA



**PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS
AROMÁTICAS DA REGIÃO SERRANA DO RIO DE JANEIRO: *Aspidosperma
olivaceum* Müll. Arg., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula*
(DC.) O. Berg**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Corpo Docente do
Instituto de Química, como parte dos
requisitos necessários para obtenção do
grau de Químico com Atribuições
Tecnológicas.

Orientadora Profa. Cláudia Moraes de Rezende, DSc
Co-orientadora Thaís Matsue Uekane, doutoranda

RIO DE JANEIRO
2013

S586

Silva, Fernanda dos Santos.

Perfil cromatográfico dos óleos essenciais obtidos de plantas aromáticas da Região Serrana do Rio de Janeiro: *Aspidosperma olivaceum* Müll Arg, *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg / Fernanda dos Santos Silva – Rio de Janeiro: UFRJ, 2013.
63 f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, 2013.

Orientadora: Claudia Moraes de Rezende.

Co-orientadora: Thaís Matsue Uekane.

1. Óleo essencial. 2. Cromatografia gasosa. 3. *Aspidosperma olivaceum* Müll Arg. 4. *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg. 5. *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg. I. Rezende, Claudia Moraes de (orient.). II. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Química III. Título.

CDD 547

FERNANDA DOS SANTOS SILVA

**PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS
AROMÁTICAS DA REGIÃO SERRANA DO RIO DE JANEIRO: *Aspidosperma
olivaceum* Müll. Arg., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula*
(DC.) O. Berg**

Trabalho de Conclusão de Curso
submetido ao Corpo Docente do
Instituto de Química, como parte dos
requisitos necessários à obtenção do
grau de Químico com Atribuições
Tecnológicas.

Aprovado por:

Profa. Michelle Jakeline Cunha Rezende, DSc, UFRJ

Silvia Siag Oigman, DSc

Orientado por:

Profa. Claudia Moraes de Rezende, DSc, UFRJ

Thaís Matsue Uekane, doutoranda, UFRJ

Rio de Janeiro, 02 de agosto de 2013.

Dedico este trabalho a minha família e amigos pelo amor, incentivo, apoio e confiança demonstrada nesta trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família por todo amor, carinho, confiança, por acreditarem no meu potencial, investirem em meus estudos e por estarem sempre ao meu lado. Obrigada pela educação e ensinamentos que dedicaram a mim. Leila e José Luiz, amo vocês!

Aos meus queridos tios e tias, primos e primas, que também são muito importantes na minha vida.

Ao meu namorado Luiz Paulo por todo carinho, amor, compreensão e paciência nos momentos de estresse. E aos meus sogros e cunhada, Luiz Roberto, Sonia e Daniele, por todo carinho.

Aos amigos de faculdade Lorena Navarro, Natália Mantuano, Renan Micha, Renata Galdino, Tatiane Corrêa, Thiago Wolff e Vitor Simões companheiros nas aulas, nos almoços no “Laranjinha”, nos momentos de estudos na biblioteca e também nos momentos de distração com nossas confraternizações em datas atípicas. Com certeza, a companhia de vocês foi essencial para me dar força, otimismo e motivação nos estudos. E espero que nossa amizade continue após o término da faculdade.

As minhas queridas amigas Amanda Gimenes, Camila Girão, Carla de Castro, Cristiane Soares, Isabela Macedo, Lívia Alves, Luana de Oliveira e Luana Vasconcelos que, ao longo dos últimos quatorze anos, me ensinaram que amigos não precisam estar sempre juntos, amigos são sinceros, amigos choram e riem juntos, amigos são como irmãos, amigos são para a vida toda.

A minha orientadora Claudia Rezende pela orientação, por partilhar seus conhecimentos e idéias, pela oportunidade de adquirir novas experiências e pela confiança em mim depositada.

A Thaís Uekane, minha co-orientadora, por toda orientação, ensinamentos, dedicação e gentileza, fatores importantes que contribuíram para concretização deste projeto.

Aos companheiros do Laboratório de Análise de Aromas pela agradável companhia, em especial, Andréa Alves, Anna Tsukui, Gisele Figueiredo e Rafael Ferreira.

A Paola Gama, analista do Laboratório de Óleos Essenciais da Embrapa Agroindústria de Alimentos pela ajuda com a técnica CG-DIC.

A Sônia Bulhões, funcionária da secretaria do Instituto de Química, carinhosamente chamada de tia Sônia, pela paciência e por ser tão prestativa sempre que precisei.

E aos professores que proporcionaram todo aprendizado necessário para minha formação acadêmica e profissional. A todos vocês, muito obrigada!

RESUMO

PROJETO DE CURSO

TÍTULO: PERFIL CROMATOGRÁFICO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS AROMÁTICAS DA REGIÃO SERRANA DO RIO DE JANEIRO: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg.

ALUNA: Fernanda dos Santos Silva

ORIENTADORA: Claudia Moraes de Rezende, DSc - Instituto de Química - UFRJ

CO-ORIENTADORA: Thaís Matsue Uekane, doutoranda - UFRJ

O presente trabalho faz parte do projeto I-FLORA/Faperj envolvendo a investigação da composição química dos óleos essenciais (OE) de três espécies aromáticas da Região Serrana do Rio de Janeiro: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. pertencente à família Apocynaceae e popularmente conhecida como guatambu; *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg e *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg pertencentes à família Myrtaceae e conhecidas popularmente como guabiroba e cambuí, respectivamente. As espécies foram coletadas no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO), Teresópolis, Rio de Janeiro. Foram realizadas extrações por hidrodestilação das folhas frescas com uso de aparelho de Clevenger por duas horas para obtenção dos OEs e hidrolatos de cada espécie. Estes foram diluídos em diclorometano 1 % e analisados por CG-EM (no modo de varredura de íons totais-SCAN) e CG-DIC em coluna capilar cromatográfica HP-5MS. O OE da espécie *A. olivaceum* apresentou como compostos majoritários fitol (6,1 %), ácido hexadecanóico (ácido palmítico) (5,9 %), α -eudesmol (3,7%), pentadecanal (3,2%), linolenato de metila (1,7 %) e eremofileno (1,6 %). Para a espécie *C. xanthocarpa* foi observado a presença dos seguintes compostos majoritários: acetato de geranila (32,1 %), globulol (8,4 %), biciclogermacreno (7,0 %), espatulenol (4,9 %), *t*-muurolol (3,7 %), *t*-cadinol (3,3 %), viridiflorol (3,1 %), Δ -cadineno (2,1 %) e fitol (2,0 %). Na espécie *M. delicatula* observou-se presença de sesquiterpenos como os isômeros β -eudesmol (11,4%) e α -eudesmol (6,1 %), viridiflorol (8,6 %), *t*-cadinol (6,7 %), Δ -selineno (6,7 %) e β -cariofileno (4,2 %). A extração por hidrodestilação nas condições empregadas foi eficiente para extração dos compostos voláteis das plantas estudadas. O estudo químico dos OEs realizados neste trabalho a partir das folhas de *A. olivaceum* e *M. delicatula* é inédito, sendo assim uma contribuição para futuros estudos dessas espécies. A espécie *C. xanthocarpa* apresentou alguns compostos majoritários similares a relatados em estudos anteriores, porém com abundâncias relativas diferentes. Os hidrolatos das três espécies apresentaram poucos compostos comparados aos OEs das espécies estudadas.

Palavras-chave: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg.; *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg; *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg; óleo essencial; cromatografia gasosa-espectrometria de massas.

ABSTRACT

PROJETO DE CURSO

TÍTULO: CHROMATOGRAPHIC PROFILE OF ESSENTIAL OILS FROM AROMATIC PLANTS OF THE MOUNTAIN REGION OF RIO DE JANEIRO: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg., *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg and *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg.

ALUNA: Fernanda dos Santos Silva

ORIENTADORA: Claudia Moraes de Rezende, DSc - Instituto de Química - UFRJ

CO-ORIENTADORA: Thaís Matsue Uekane, doutoranda - UFRJ

This work is part of the project I-FLORA/Faperj and involved the investigation of the chemical composition of essential oils (EO) of three aromatic species from the mountain region of Rio de Janeiro: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. which belongs to Apocynaceae family, popularly known as guatambu; *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg and *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg which belongs to Myrtaceae family and popularly known as guabiroba and cambuí, respectively. The species were collected from Serra dos Órgãos National Park (PARNASO), Teresópolis, Rio de Janeiro. Extractions through hydrodistillation were done in the fresh leaves using *Clevenger* equipment for two hours to obtain the EOs and hydrolates of each species. The EOs diluted in dichloromethane 1 % and analyzed through GC-MS (in total ion Scan) and GC-FID in chromatographic capillary column HP-5MS. EO of the specie *A. olivaceum* presented as major compounds phytol (6.1%), hexadecanoic acid (palmitic acid) (5.9%), α -eudesmol (3.7%), pentadecanal (3.2%), methyl linolenate (1.7%) and eremophylene (1.6%). In relation to the specie *C. xanthocarpa*, it was observed the presence of the following major compounds: geranyl acetate (32.1%), globulol (8.4%), bicyclogermacrene (7.0%), spathulenol (4.9%), *t*-muurolol (3.7%), *t*-cadinol (3.3%), viridiflorol (3.1%), Δ -cadinene (2.1%) and phytol (2.0%). For the specie *M. delicatula*, it was observed the presence of sesquiterpenes as the isomers β -eudesmol (11.4%) and α -eudesmol (6.1%), viridiflorol (8.6%), *t*-cadinol (6.7%), Δ -selinene (6.7%) and β -caryophyllene (4.2%). The extraction through hydrodistillation under the conditions employed was efficient to the extraction of the volatile compounds of the studied plants. Since no reports were found in literature for the chemical study of leaves EOs of *A. olivaceum* and *M. delicatula* this work is a contribution to further studies of these species. The specie *C. xanthocarpa* presented some major compounds similar to described in previous studies, with different relative abundance. Hydrolates of the three species showed few compounds compared to EOs of the species studied.

Keywords: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg.; *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg; *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg; essential oil; gas chromatography-mass spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Evolução brasileira nas importações de OEs e resinóides.
- Figura 2: Evolução brasileira nas exportações de OEs e resinóides.
- Figura 3: Brasil: relação de exportação e importação de OEs e resinóides.
- Figura 4: Rotas biossintéticas de formação de metabólitos secundários.
- Figura 5: Molécula de isopreno (C₅H₈).
- Figura 6: Formação de terpenos pela clássica via do mevalonato.
- Figura 7: Esqueleto básico de fenilpropanóides.
- Figura 8: Formação de fenilpropanóides pela via do ácido chiquímico.
- Figura 9: Esquema de um equipamento de CG-EM.
- Figura 10: Esquema de um equipamento de CG-DIC.
- Figura 11: Distribuição geográfica no Brasil da espécie *A. olivaceum*.
- Figura 12: Distribuição geográfica da espécie *C. xanthocarpa* no (a) Brasil e (b) mundo.
- Figura 13: Distribuição geográfica da espécie *M. delicatula* no (a) Brasil e (b) mundo.
- Figura 14: Hidrodestilação.
- Figura 15: Cromatograma obtido da primeira extração da espécie *A. olivaceum*, por CG-DIC, com área ampliada na parte superior.
- Figura 16: Estruturas químicas de alguns compostos majoritários no OE das folhas da espécie *A. olivaceum*.
- Figura 17: Alcalóides indólicos encontrados na espécie *A. olivaceum*.
- Figura 18: Cromatograma do hidrolato obtido da primeira extração da espécie *A. olivaceum*, por CG-EM, com área ampliada na parte superior.
- Figura 19: Cromatograma obtido da primeira extração da espécie *C. xanthocarpa*, por CG-DIC, com área ampliada na parte superior.
- Figura 20: Estruturas químicas de alguns compostos majoritários no OE das folhas da espécie *C. xanthocarpa*.
- Figura 21: Cromatograma do hidrolato obtido da primeira extração da espécie *C. xanthocarpa*, por CG-EM, com área ampliada na parte superior.
- Figura 22: Cromatograma obtido da primeira extração da espécie *M. delicatula*, por CG-DIC, com área ampliada na parte superior.
- Figura 23: Estruturas químicas de alguns compostos majoritários no OE das folhas da espécie *M. delicatula*.
- Figura 24: Cromatograma do hidrolato obtido da primeira extração da espécie *M. delicatula*, por CG-EM, com área ampliada na parte superior.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ranking dos 10 países que mais contribuíram no mercado mundial no setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosmética.

Tabela 2: Brasil: relação de exportação e importação de OEs e resinóides.

Tabela 3: Classificação dos terpenos.

Tabela 4: Percentual das áreas dos municípios que englobam o PARNASO.

Tabela 5: Composição química da espécie *A. olivaceum* considerando compostos com área relativa superior a 1 %.

Tabela 6: Atividades biológicas de algumas espécies do gênero *Aspidosperma*.

Tabela 7: Composição química da espécie *C. xanthocarpa* considerando compostos com área relativa superior a 1 %.

Tabela 8: Atividades biológicas e compostos majoritários dos OEs de algumas espécies do gênero *Campomanesia*.

Tabela 9: Composição química da espécie *M. delicatula* considerando compostos com área relativa superior a 1 %.

Tabela 10: Atividades biológicas e compostos majoritários dos OEs de algumas espécies do gênero *Myrciaria*.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABECITRUS	Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos
ABIFRA	Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Essenciais, Produtos Químicos Aromáticos, Fragrâncias, Aromas e Afins
ABRAPOE	Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais
a.C.	Antes de cristo
CG-EM	Cromatografia em Fase Gasosa com Detector Espectrômetro de Massas
CG-DIC	Cromatografia em Fase Gasosa com Detector por Ionização em Chama
DMAPP	Dimetilalil difosfato
Faperj	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FPP	Farnesil difosfato
GC-SCR	<i>Gas Chromatography coupled directly to a Single Cell Recoording</i>
GGPP	Geranilgeranil difosfato
GPP	Geranil difosfato
<i>hot spot</i>	Pontos críticos importantes
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IFRA	<i>International Fragrance Association</i>
IK	Índice de Retenção de Kovats
IOFI	<i>International Organization of the Flavour Industry</i>
IPP	Isopentenil difosfato
IQ	Instituto de Química
IRL	Índice de Retenção Linear
ISO	<i>International Standard Organization</i>
MERCOSUL	Mercado Comum do Sul
MMA	Ministério do Meio Ambiente
m/m	Relação massa / massa
<i>m/z</i>	Razão massa /carga
n.i.	Não identificado
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
OE	Óleo Essencial
PARNASO	Parque Nacional da Serra dos Órgãos
SCAN	Modo de varredura de íons totais
SFE	Extração com Fluidos Supercríticos
Sisnama	Sistema Nacional do Meio Ambiente
<i>Split</i>	Injeção com divisão de fluxo
<i>Splitless</i>	Injeção sem divisão de fluxo
t/a	Toneladas por ano
TR _A	Tempo de Retenção do Analito
TR _N	Tempo de Retenção do alcano com N carbonos
TR _{N+1}	Tempo de Retenção do alcano com N+1 carbonos
UC	Unidade de Conservação
UFF	Universidade Federal Fluminense
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 DEFINIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	13
2.2 BREVE HISTÓRICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS.....	14
2.3 ESTATÍSTICAS: IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO BRASILEIRA.....	16
2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	20
2.5 MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VOLÁTEIS.....	24
2.6 PRINCIPAIS ANÁLISES DE CONTROLE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	26
2.7 CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA.....	26
2.7.1 Cromatografia em Fase Gasosa com Detector Espectrômetro de Massas (CG-EM).....	27
2.7.2 Cromatografia em Fase Gasosa com Detector por Ionização em Chama (CG-DIC).....	28
2.8 PROJETO I-FLORA, PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS (PARNASO) E AS ESPÉCIES DE ESTUDO.....	29
3 OBJETIVOS.....	33
3.1 OBJETIVO GERAL.....	33
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	33
4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL.....	33
4.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	34

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR CG-EM E OBTENÇÃO DA ÁREA RELATIVA POR CG-DIC DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	35
4.4 CÁLCULO DO ÍNDICE DE RETENÇÃO LINEAR (IRL).....	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
5.1 PERFIL CROMATOGRÁFICO DA ESPÉCIE <i>Aspidosperma olivaceum</i>	37
5.2 PERFIL CROMATOGRÁFICO DA ESPÉCIE <i>Campomanesia xanthocarpa</i>	42
5.3 PERFIL CROMATOGRÁFICO DA ESPÉCIE <i>Myrciaria delicatula</i>	48
6 CONCLUSÃO.....	53
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

1 INTRODUÇÃO

O óleo essencial (OE) é utilizado em diversos setores industriais como perfumaria, cosméticos, produtos de limpeza e higiene, alimentos, bebidas e fármacos, sendo aplicados como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias e sabor, em composições farmacêuticas e comercializados na sua forma bruta ou beneficiada (BIZZO, 2009; GOMES, 2013; SANTOS *et al.*, 2006). Indústrias alimentícias, por exemplo, estão cada vez mais utilizando aromatizantes naturais para reproduzir sabores e odores (JAKIEMIU, 2008).

O mercado de OEs é crescente em países de grande biodiversidade e com capacidade de agregar valores as suas matérias-primas (JAKIEMIU, 2008). O Brasil é um grande exportador de OEs (GOMES, 2013) e atrai estudos nesta área com objetivo de conhecer novas fontes de matérias-primas e promover o uso sustentável de sua biodiversidade. Entretanto, este setor enfrenta problemas como a falta de padrão de qualidade e poucos investimentos (SOUZA *et al.*, 2010).

Em função da necessidade de estabelecer uma padronização para controle de qualidade de OEs, uma maior integração entre pesquisadores, empresas e produtores a fim de promover parcerias e orientações de mercado, uma maior representatividade perante aos órgãos governamentais, entre outras metas, foi criada a Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais (ABRAPOE), um centro de referência de OEs no Brasil (BIZZO, 2009). Atualmente, existe também a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Essenciais, Produtos Químicos Aromáticos, Fragrâncias, Aromas e Afins (ABIFRA) que tem como missão realizar ações para o fortalecimento da indústria nacional através da divulgação de padrões internacionais de qualidade e segurança dos produtos junto ao mercado brasileiro, seus consumidores e governo. Encontram-se associadas 44 empresas, e a ABIFRA é afiliada a dois órgãos internacionais, que financiam e implementam programas científicos que visam estabelecer as boas práticas de fabricação e garantir o uso seguro de seus produtos, a *International Fragrance Association* (IFRA) que representa o setor de fragrâncias e *International Organization of the Flavour Industry* (IOFI) que representa o setor de aromas (ABIFRA, 2013).

A atividade humana, através do avanço da fronteira agrícola, do crescimento de cidades e desmatamentos (CORTES, 2012), tem reduzido as áreas de biomas e levado espécies ao risco de extinção (SANTOS *et al.*, 2010; WALTER, 2006; KLINK, 2005). O Brasil é um país de grande diversidade vegetal e é muito importante o estudo, conhecimento, preservação e uso sustentável de todas as espécies nativas. Muitas plantas conhecidas

possuem potencial terapêutico e farmacológico comprovado (anti-inflamatória, analgésica, antimicrobiana, antiespasmódica, antitérmica, laxativas) e alguns OEs são utilizados em abordagens terapêuticas. Mas ainda existem plantas não exploradas (VUNDA, 2011) e o maior conhecimento sobre extratos e OEs dessas espécies colabora no uso racional dos recursos naturais, possibilitando futuras atividades de cultivo, no caso de identificação de possível potencial de aplicação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DEFINIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

Óleos essenciais são definidos como compostos voláteis, naturais e complexos, dotados de forte aroma, em sua maioria agradável, produzidos por metabólitos secundários encontrados em estruturas celulares específicas da planta, podendo estar presente em diversos órgãos (BAKKALI *et al.*, 2008; VITTI, 2003) e tradicionalmente extraídos pela técnica de arraste a vapor ou hidrodestilação, além da prensagem no caso de óleos cítricos.

Devido às suas características físico-químicas e seus processos específicos de extração, os óleos são confundidos por alguns autores recebendo outras denominações como óleos voláteis, essências e óleos etéreos (CORAZZA, 2002; apud JAKIEMIU, 2008; VITTI, 2003). Por apresentarem volatilidade podem ser denominados por alguns autores como óleos voláteis (VITTI, 2003); pelo aroma intenso e agradável de muitos óleos essenciais são chamados por outros de essências (apud JAKIEMIU, 2008). Já a denominação de óleos etéreos tem referência com a solubilidade dos óleos essenciais em solventes orgânicos apolares, como éter (VITTI, 2003). Essa variedade de nomenclatura para os óleos essenciais não é excludente entre si e é usada por vários autores com a mesma finalidade. Há autores que preferem o termo óleo volátil devido à associação a propriedades físico-químicas da planta (BELTRAME *et al.*, 2010; VUNDA, 2011), pois em alguns casos, o óleo essencial pode também ser designado por produtos odorantes não formados anteriormente no vegetal, obtidos, por exemplo, através da hidrólise enzimática de heterosídeos (BELTRAME *et al.*, 2010).

A *International Standard Organization* (ISO), fundada em 1947, é uma organização que desenvolve e publica normas internacionais que abrange quase todos os aspectos da

tecnologia e de negócios, garantindo a segurança, confiabilidade e qualidade dos produtos e dos serviços, possui várias normas referentes a OEs como a ISO 3218:1976 sobre princípios de nomenclatura de óleos essenciais, e a ISO 9235:1997 sobre vocabulário de matérias-primas naturais aromáticas definindo óleo essencial como “produto obtido a partir de matéria-prima natural de origem vegetal, seja por destilação com vapor de água, por destilação fracionada ou por processos mecânicos, no caso do pericarpo de frutos, com posterior separação da fase aquosa por processos físicos como a centrifugação” (ISO, 2013; MARTINS *et al.*, 2011; VITTI, 2003).

De acordo com Regulamento Técnico do Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) de Aditivos Aromatizantes (MERCOSUL/GMC/RES. N° 46/93), relatado no site do INMETRO, os óleos essenciais são os produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste a vapor d’água, destilação à pressão reduzida ou outro método adequado), e podem apresentar-se isolados ou em misturas, retificados (quando submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar componentes), desterpenados (quando submetidos a um processo de quase isenção de terpenos) ou concentrados (produtos parcialmente desterpenados).

Segundo o site da ABIFRA as definições e terminologias implementadas pelo Código de Boas Práticas da IOFI, os óleos essenciais são definidos como complexos aromatizantes naturais que entendem-se por preparações que contém substâncias aromatizantes obtidas de processos físicos como destilação e extração por solventes, por processos enzimáticos ou processos microbiológicos, a partir de matéria-prima de origem vegetal ou animal.

2.2 BREVE HISTÓRICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

As plantas aromáticas e seus respectivos OEs são utilizados desde o início da história da humanidade para conferir sabores e aromas às comidas e bebidas, para disfarçar odores desagradáveis, para atração, sedução e embelezamento entre pessoas, entre outros, contribuindo para o bem-estar e demonstrando assim uma antiga tradição sociocultural e socioeconômica da utilização destes produtos (FRANZ, 2010).

Há registros de plantas aromáticas desde as antigas civilizações, quando o homem ao queimar determinados arbustos, ervas e resinas percebeu que estas exalavam um aroma intenso e mesmo quando retiradas do recinto o aroma agradável permanecia no ambiente. Isto levou os alquimistas à busca pela quinta essência da matéria (CORAZZA, 2002). Paracelsus,

um alquimista do século XVI, usou vapor para isolar o que chamava de alma da planta, isto é, substâncias que continham aroma da planta e que não se misturavam na água, propriedade que ajudou na escolha do nome óleo essencial, ou essência, para essas substâncias (JAKIEMIU, 2008; MACHADO, 2011).

As primeiras referências do uso de plantas aromáticas e OEs provêm do Oriente, especialmente do Egito, que se destacou historicamente como o primeiro a destilar plantas com o intuito de extrair OEs. Utilizavam estes em oferendas nas cerimônias religiosas à realização de rituais fúnebres com embalsamento de múmias. Desde então, os métodos de extração de OEs diversificaram e foram se aprimorando (JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2011). Os gregos também compreenderam os efeitos milagrosos das plantas aromáticas adquirindo estes conhecimentos dos egípcios e os transmitiram aos romanos que, a partir de 45 a.C., os aperfeiçoaram e passaram a usar os OEs no corpo como perfumes, em tratamentos com fins terapêuticos, mumificações e cerimônias religiosas. Nos casamentos romanos, as noivas carregavam buquês de ervas aromáticas, no dia da cerimônia para espantar as energias negativas e agradar aos deuses. Mas com a queda do Império Romano e ascensão da Igreja Católica, as ervas foram substituídas por flores e a utilização de plantas e óleos foi proibida (JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2011). No entanto, antes da era cristã, as plantas aromáticas já eram populares na antiga China e Índia (VITTI, 2003) com uso de incensos, poções e OEs para o corpo.

Na Idade Média (séculos V ao XV), apenas os povos que não eram limitados pela religião, como o povo árabe e monges, passaram a difundir estes conhecimentos (NEVES, 2011). Na civilização árabe destacou-se o famoso alquimista Avicena, no século XII, pioneiro no método de destilação de plantas medicinais utilizando alambique. No entanto, a produção de OE limitava-se à indústria caseira, e era considerada uma atividade secundária da agricultura. Os métodos de extração foram sendo aperfeiçoados e no século XV, os OEs começaram a ser exportados como fragrâncias da Itália para toda a Europa, visando tanto a cosmética quanto a terapêutica. A peste negra, doença transmitida por ratos, matou muitos europeus nessa época e as ervas aromáticas foram queimadas pelas ruas e igrejas na tentativa de desinfetar o ambiente, disfarçar o mau cheiro, e como forma de compressas para tratar os enfermos (CORAZZA, 2002; NEVES, 2011).

Os séculos passaram e diferentes culturas utilizaram as plantas e OEs para tratar doenças através do conhecimento das civilizações antigas, mas com o surgimento da química e o desenvolvimento da medicina muitos compostos foram sintetizados, medicamentos foram

fabricados e houve um declínio do uso de produtos naturais (VITTI, 2003). Atualmente, as indústrias alimentícias estão buscando usar cada vez mais produtos de origem natural, como os aromatizantes extraídos de plantas, porém a falta de controle de qualidade, poucos critérios de avaliação das composições químicas, dos princípios ativos e da toxicidade, entre outros, impedem que estes sejam muito utilizados em escala industrial (JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2011; VITTI, 2003).

Além disso, na tentativa de aliviar o estresse, as pessoas estão buscando na natureza novas alternativas de tratamentos relaxantes, crescendo o interesse pela aromaterapia, com uso de plantas aromáticas e de OEs com propriedades terapêuticas (EDRIS, 2007; NEVES, 2011). Esta técnica é muito antiga e conhecida, sendo aplicada desde tratamentos de doenças à tratamentos estéticos utilizando o sentido do olfato e as propriedades dos OEs (CORAZZA, 2002).

Pesquisadores brasileiros iniciaram a investigação da flora brasileira na busca pela cura de doenças que foram surgindo (ALMEIDA, 2007). Estudos com OEs no Brasil foram iniciados com os trabalhos de Theodoro Peckolt, farmacêutico originário da Polônia, que chegou ao país em 1847, e publicou cerca de 170 trabalhos sobre a flora brasileira incluindo dados sobre rendimento e composição de OEs. Em 1925, as indústrias brasileiras começaram a extrair OE de pau-rosa (*Aniba rosaeodora*). Mas foi durante a Segunda Guerra Mundial que a indústria nacional de OE passou a se desenvolver e crescer no mercado exterior, visto que o mercado europeu desestabilizou e o Brasil passou a ser um fornecedor alternativo, com mão-de-obra barata e vasta diversidade de plantas, passando a exportar também óleos de sassafrás (*Ocotea odorifera*), menta (*Mentha arvensis*), eucalipto (*Eucalyptus globulus*) e laranja (*Citrus sinensis*). Atualmente o Brasil encontra-se em posição de destaque na produção de OEs devido aos óleos cítricos (BIZZO, 2009).

2.3 ESTATÍSTICAS DE ÓLEOS ESSENCIAIS: IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO BRASILEIRA

De acordo com a Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos (ABECITRUS), o Brasil, em 2007, era o quarto exportador de OEs no mundo e o décimo importador, sendo o Estado de São Paulo um dos maiores produtores brasileiros de OEs, principalmente pela grande produtividade do setor de citricultura (AMORIM, 2007). Os OEs cítricos obtidos são

subprodutos da indústria de sucos, contribuindo com 5 % do total de óleos importados (BIZZO, 2009).

Segundo dados de 2012 da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosmética (ABIHPEC) obtidos da Euromonitor, o Brasil tornou-se o terceiro maior mercado no setor de higiene pessoal, perfumaria e cosmética, conforme Tabela 1, sendo os OEs muito utilizados como matérias-primas dos produtos de indústrias desse setor (ABIHPEC, 2013). Vários fatores contribuem para o crescimento das indústrias brasileiras nesse setor como integração e acesso das classes D e E aos produtos do setor, crescente participação da mulher no mercado de trabalho, maior utilização de tecnologia de ponta pelas indústrias com consequente aumento de produtividade, entre outros (ABIHPEC, 2013).

TABELA 1: Ranking dos 10 países que mais contribuíram no mercado mundial no setor de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosmética nos últimos anos. (Fonte: ABIHPEC, 2013).

Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos	2011 US\$ Bilhões Preço ao consumidor	2012 US\$ Bilhões Preço ao consumidor	Participação (%)	Crescimento (%)
Mundo	427	433	100	1,4
1 Estados Unidos	67	69	15,9	3,3
2 Japão	47	47	10,9	0,5
3 Brasil	42	42	9,6	0,1
4 China	28	32	7,4	12,4
5 Alemanha	19	18	4,1	-5,8
6 Reino Unido	16	17	3,9	1,5
7 França	17	16	3,7	-6,5
8 Rússia	14	14	3,2	-0,3
9 Itália	13	12	2,7	-8,0
10 México	10	10	2,3	-1,5
Total (10 países)	273	276	63,7	1,1

Segundo dados da TRADE NOSIS, uma rede mundial que disponibiliza informações de comércio internacional, entre 2008 e março de 2013, no setor de produtos de OEs e resinóides para perfumaria e afins (principalmente óleos cítricos), os principais países que o Brasil importou foram Argentina, Estados Unidos e França (Figura 1).

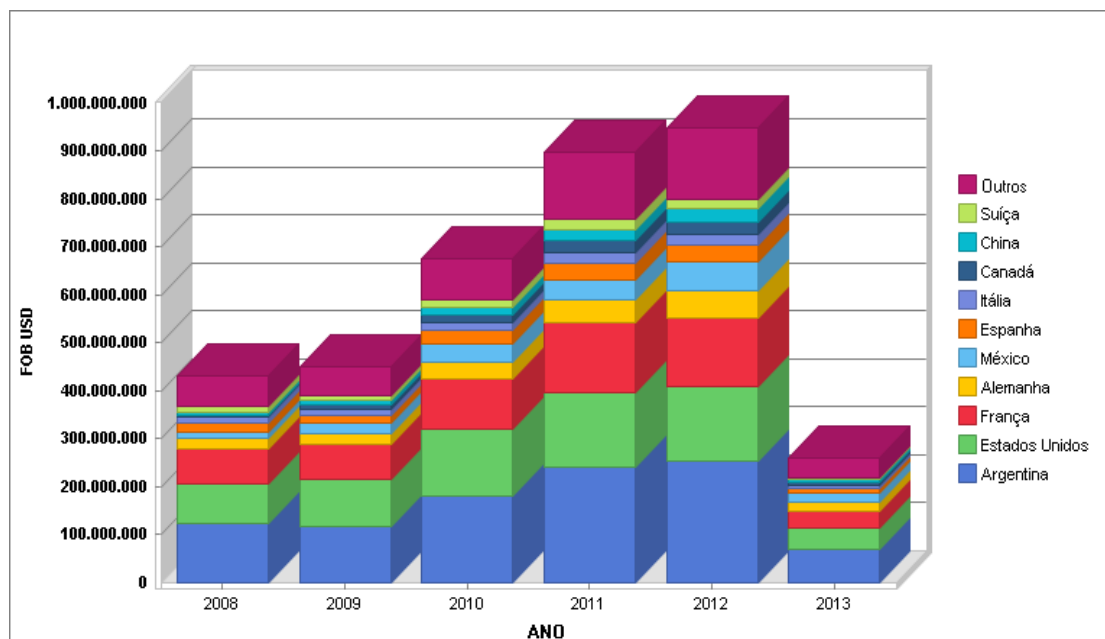


FIGURA 1: Evolução brasileira nas importações de OEs e resinóides. (Fonte: TRADE NOSIS, 2013).

Em relação aos principais mercados de destino das exportações brasileiras nos últimos anos no setor de OEs e resinóides encontram-se Argentina, Chile e Estados Unidos (Figura 2).

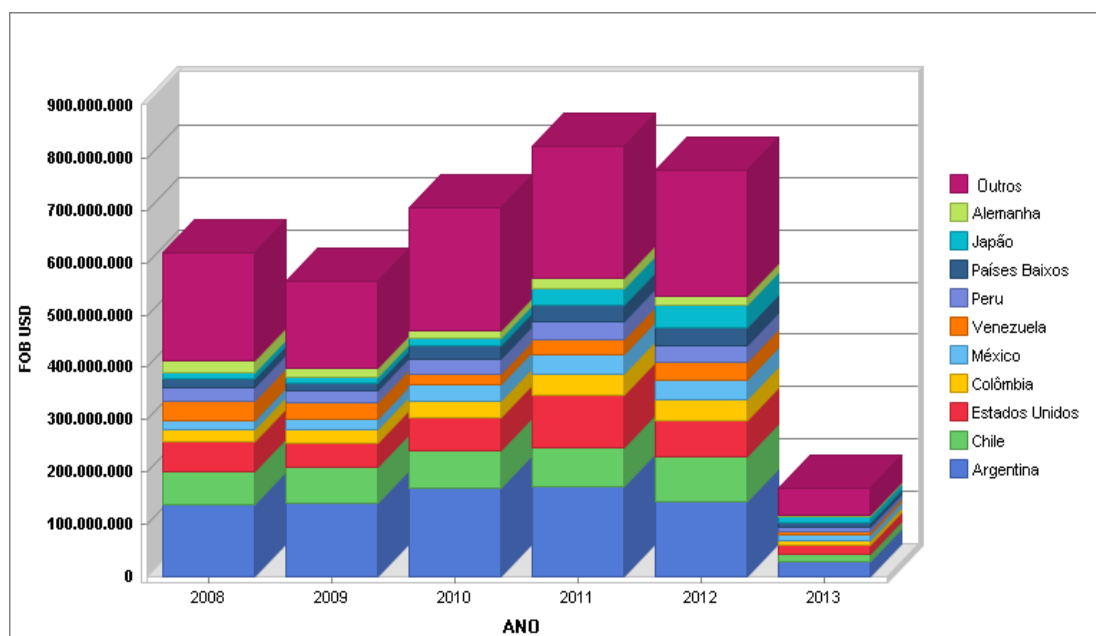


FIGURA 2: Evolução brasileira nas exportações de OEs e resinóides. (Fonte: TRADE NOSIS, 2013).

Fazendo um balanço entre exportação e importação brasileira (Figura 3), o volume de importação de produtos desse setor cresceu o dobro, embora tenha observado um aumento significativo na exportação, conforme dados da Tabela 2.

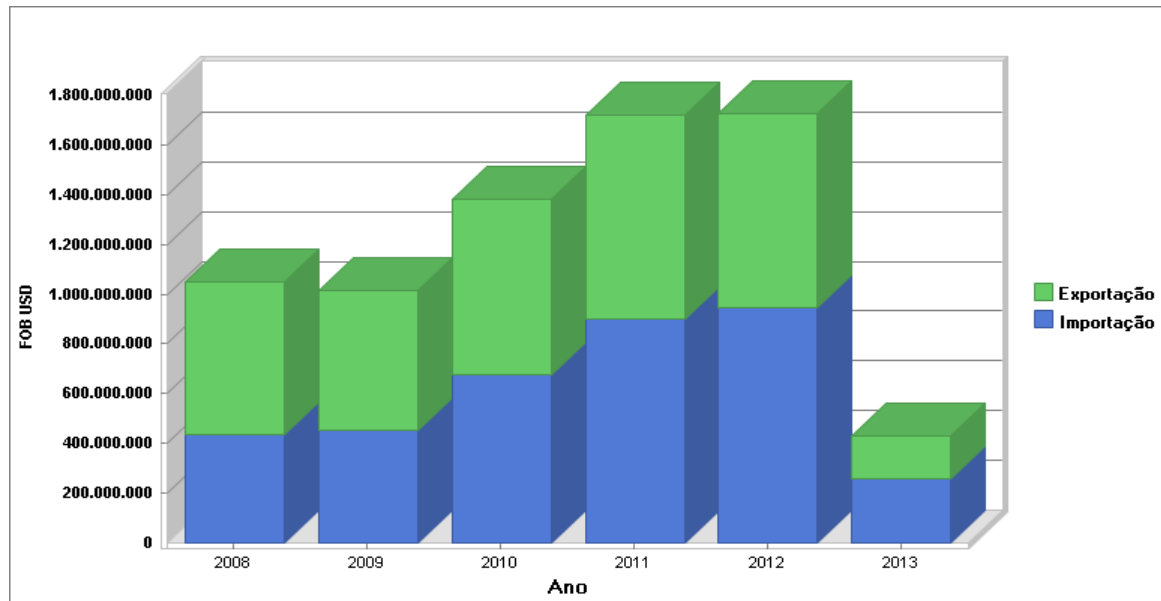


FIGURA 3: Brasil: relação de exportação e importação de OEs e resinóides. (Fonte: TRADE NOSIS, 2013).

TABELA 2: Brasil: relação de exportação e importação de OEs e resinóides. Valor anual em USD. (Fonte: TRADE NOSIS, 2013).

Países de destino/origem	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Brasil - Exportações						
Argentina	138.845.048	141.360.289	168.831.370	173.254.969	143.548.664	28.547.366
Chile	61.838.939	68.282.556	71.858.414	72.000.653	85.352.399	15.303.178
Estados Unidos	58.040.399	46.029.166	64.243.181	102.621.864	68.441.210	16.275.967
Colômbia	21.655.019	24.383.761	30.856.075	37.814.155	41.353.015	8.360.856
México	18.837.612	20.922.258	31.897.729	39.628.728	38.082.280	11.264.483
Venezuela	37.320.462	30.110.443	20.571.889	26.587.740	31.687.376	7.036.961
Peru	24.949.257	23.909.540	28.413.804	34.095.778	33.031.174	7.184.682
Países Baixos	17.886.618	15.509.879	25.321.214	34.199.922	32.964.867	7.930.423
Japão	10.958.559	11.440.685	14.093.199	29.367.035	44.142.722	11.665.661
Alemanha	23.629.578	15.121.377	13.298.312	19.934.379	18.293.589	4.485.838
Outros	204.794.688	167.503.594	234.983.818	253.507.728	239.370.250	51.890.604
Subtotal	618.756.179	564.573.548	704.369.005	823.012.951	776.267.546	169.946.019
Brasil - Importações						
Argentina	124.444.359	118.145.056	181.343.840	240.766.025	252.901.307	71.297.821
Estados Unidos	82.556.601	96.267.739	139.566.527	155.151.982	155.599.593	42.058.719
França	72.253.805	74.749.332	105.746.984	147.810.331	144.759.643	36.761.195
Alemanha	23.219.152	22.134.094	33.070.471	46.584.135	56.357.716	17.429.978
México	12.108.179	20.591.786	40.003.041	42.269.420	60.953.010	21.301.283
Espanha	20.112.257	18.503.501	27.106.448	33.213.140	34.794.964	8.332.869
Itália	11.154.679	11.835.273	16.482.355	23.355.083	20.927.444	4.603.603
Canadá	3.720.970	8.599.153	16.584.357	24.004.000	26.698.698	6.776.663
China	6.554.779	9.175.204	14.815.727	21.987.725	27.144.937	6.469.233
Suíça	10.778.945	10.318.123	14.576.384	22.713.506	18.751.887	4.380.765
Outros	66.224.922	61.620.868	85.763.928	141.452.249	149.731.554	40.282.517
Subtotal	433.128.648	451.940.129	675.060.062	899.307.597	948.620.754	259.694.646
Total	1.051.884.827	1.016.513.677	1.379.429.067	1.722.320.548	1.724.888.300	429.640.665

2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As plantas produzem centenas de metabólitos secundários, entre eles, muitos são voláteis e liberados no ambiente (ROSTELIE *et al.*, 2000). A finalidade desses compostos produzidos pelas plantas ainda não é bem definida, porém sabe-se que alguns desses compostos são uma importante (ARAUJO, 2001; PERES, 2004). A atração de insetos por compostos voláteis pode ser vantajosa para a planta, como no caso da polinização, e a liberação de certos voláteis pode servir como defesa à ataque de predadores (JAKIEMIU, 2008; ROSTELIE *et al.*, 2000).

A identificação de compostos voláteis que podem ser reconhecidos por insetos ou outros organismos é uma tarefa desafiadora e o escasso conhecimento sobre quais compostos são detectados por células receptoras olfatórias de organismos motiva muitos estudos (ROSTELIE *et al.*, 2000).

Verificar a sensibilidade de insetos a certos odorantes produzidos por plantas pode ser possível através, por exemplo, da utilização da cromatografia em fase gasosa ligada a registros eletrofisiológicos com células receptoras olfatórias únicas, (*Gas Chromatography coupled directly to a Single Cell Recoording*, GC-SCR) detectando substâncias aromáticas associadas a certos receptores olfatórios (ROSTELIE *et al.*, 2000; ULLAND *et al.*, 2006; ULLAND *et al.*, 2008a; ULLAND *et al.*, 2008b).

Os metabólitos primários são substâncias essenciais à manutenção da vida e são fontes de matéria-prima e energia para formação dos metabólitos secundários. Estes auxiliam na sobrevivência e perpetuação da espécie e são originados a partir de processos de biossínteses (metabolismo da glicose), de transporte, de produtos de estocagem e de degradação, onde muitas dessas vias de formação ainda são desconhecidas. Os metabólitos secundários podem ser classificados em três grandes grupos produzidos por diferentes rotas biossintéticas: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides (Figura 4) (ALMEIDA, 2007; PERES, 2004).

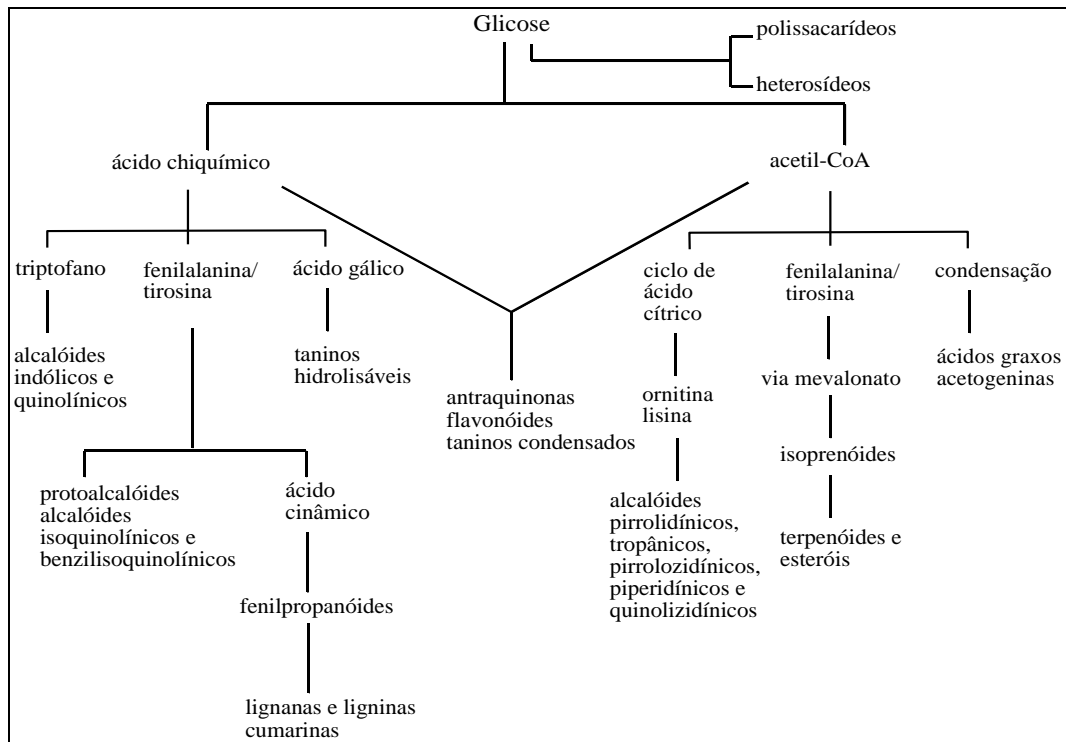


FIGURA 4: Rotas biossintéticas de formação de metabólitos secundários. (Fonte: SANTOS, 2004).

Em relação à composição química dos OEs, as duas classes químicas mais abundantes são terpenos e fenilpropanóides, metabólitos secundários de plantas que conferem características organolépticas (ARAUJO, 2001; BELTRAME *et al.*, 2010; BIZZO, 2009; JAKIEMIU, 2008). Estes podem apresentar compostos de funções químicas variadas como alcoóis (linalol, citronelol, mentol), aldeídos (citral), ácidos (benzóico), fenóis (eugenol), cetonas (cânfora), éteres (cineol, eucaliptol), ésteres (acetato de mentila) e derivados com enxofre (JAKIEMIU, 2008; SANTOS *et al.*, 2006; VITTI, 2003).

Dependendo de qual parte da planta os OEs são extraídos, podem apresentar variações no teor de componentes voláteis em uma mesma planta (GOMES, 2013). Além disso, fatores como local de coleta, época do ano, luz, condições climáticas e do solo, também podem interferir na concentração de compostos voláteis, mesmo quando comparados em partes iguais de plantas da mesma espécie (CORAZZA, 2002; JAKIEMIU, 2008; POTZERNHEIM, 2006; SIMÕES *et al.*, 1999).

Os terpenos e fenilpropanóides originam-se de metabólitos primários diferentes e são gerados por vias metabólicas distintas (BELTRAME *et al.*, 2010). O primeiro é originado a partir da via do ácido mevalônico (via do mevalonato) (JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2006; PINI, 1995) e o segundo a partir da via do ácido chiquímico (JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2006).

Os terpenos são constituídos de blocos monoméricos designados de isopreno, de fórmula molecular C_5H_8 (Figura 5). A composição química dos OEs é constituída principalmente de monoterpenos e sesquiterpenos. Os monoterpenos são constituídos pela união de duas unidades de isopreno e os sesquiterpenos por três unidades de isopreno (Tabela 3) (JAKIEMIU, 2008). Porém existem terpenos não-isoprenóides que são originados por precursores de isopreno ou por rearranjos moleculares (PINI, 1995).

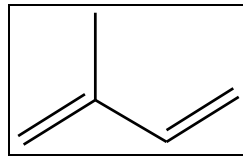


FIGURA 5: Molécula de isopreno (C_5H_8).

TABELA 3: Classificação dos terpenos. (Fonte: PINI, 1995).

Unidades de isopreno	Número de átomos de carbono	Classificação dos terpenos
n = 2	10	Monoterpeno
n = 3	15	Sesquiterpeno
n = 4	20	Diterpeno
n = 5	25	Sesterpeno
n = 6	30	Triterpeno
n = 8	40	Tetraterpeno
n > 8	$n \times 5 > 40$	Politerpeno

Os isoprenóides podem ser originados a partir da via do mevalonato, via clássica de formação de terpenos, quando três moléculas de acetil CoA são ligadas para formar o ácido mevalônico que sofre pirofosforilação, descarboxilação e desidratação produzindo o isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero o dimetilalil difosfato (DMAPP), que são as unidades com 5 átomos de carbono que se unem para formar moléculas maiores, precursoras de terpenóides, como o geranyl difosfato (GPP) de 10 carbonos, o farnesil difosfato (FPP) de 15 carbonos e o geranylgeranyl difosfato (GGPP) de 20 carbonos, como ilustrado na Figura 6 (JAKIEMIU, 2008). O IPP também pode ser originado diretamente pelo metabolismo da glicose, sem a presença do ácido mevalônico como intermediário, via duas substâncias principais, piruvato e gliceraldeído-3-fosfato (VUNDA, 2011).

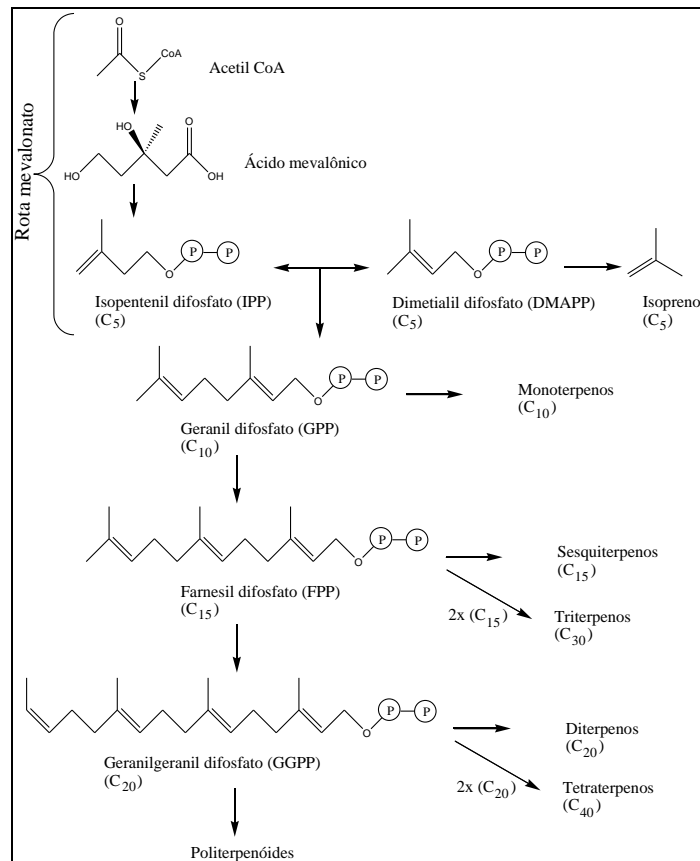


FIGURA 6: Formação de terpenos pela clássica via do mevalonato. (Fonte: apud JAKIEMIU, 2008).

Os fenilpropanóides são metabólitos secundários pertencentes à classe dos compostos fenólicos presentes em vegetais, porém se encontram em menor quantidade na composição dos OEs, quando comparados aos terpenos (JAKIEMIU, 2008). São constituídos basicamente por anel benzênico ligado a cadeia de três carbonos (Figura 7) (NEVES, 2006; SALIBA, 2001) e são derivados da via do ácido chiquímico que inicia-se através da condensação aldólica dos metabólitos fosfoenolpiruvato e eritrose-4-fosfato gerando o ácido chiquímico que se une a uma molécula de ácido 5-fosfochiquímico formando o ácido corísmico, responsável pela formação de aminoácidos aromáticos como a fenilalanina, que sofre ação enzimática gerando o ácido cinâmico e a partir deste são formados os fenilpropanóides (Figura 8) (ALMEIDA, 2007; PERES, 2004; SALIBA, 2001).

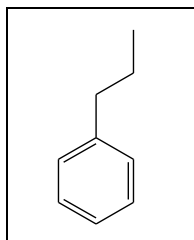


FIGURA 7: Esqueleto básico de fenilpropanóides.

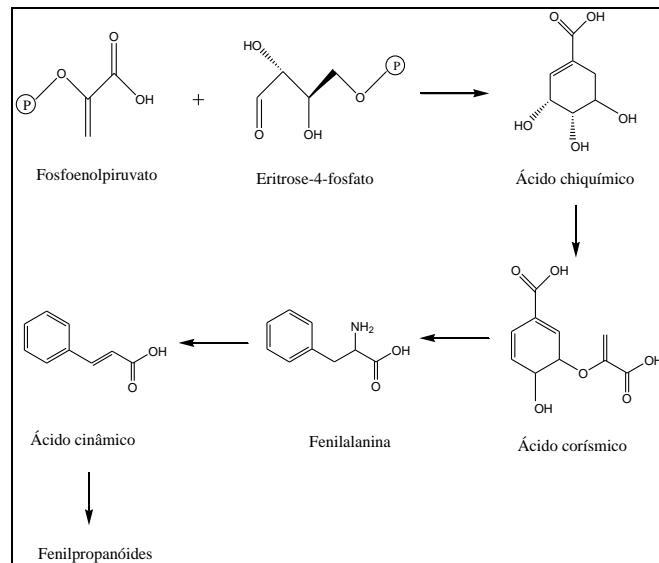


FIGURA 8: Formação de fenilpropanóides pela via do ácido chiquímico. (Fonte: apud JAKIEMIU, 2008).

2.5 MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VOLÁTEIS

Há a necessidade de técnicas de extração de óleos que sejam ecologicamente corretas, eficientes, proporcionem alta produtividade por batelada, baixo custo de produção, elevado rendimento e preservem a composição original das plantas. Dependendo das condições operacionais empregadas e do método de extração escolhido a composição química dos óleos voláteis pode ser alterada (NEVES, 2011) e conseqüentemente as propriedades terapêuticas destes também (MACHADO, 2011). Considerando a ampla classe de óleos voláteis, os métodos para extração mais citados na literatura científica são: destilação por arraste a vapor d'água, hidrodestilação, extração com fluido supercrítico (SFE), extração por solventes, prensagem e enfloração (*enfleurage*) (CORAZZA, 2002; GOMES, 2013; JAKIEMIU, 2008; MACHADO, 2011; NEVES, 2011; VUNDA, 2011).

A destilação por arraste a vapor d'água é uma técnica viável em escala industrial, pois obtém rendimentos satisfatórios de OEs, com grande aplicação no setor de perfumaria (GOMES, 2013). Uma desvantagem desse método é que durante a destilação pode ocorrer degradação dos OEs por excesso de calor, fornecendo reações indesejáveis como a hidrólise de ésteres, isomerizações, rearranjos e oxidações devido a presença de água e elevada temperatura durante a extração (SIMÕES *et al.*, 1999).

A hidrodestilação também tem como fundamento a destilação. Costuma ser muito utilizada em laboratórios de pesquisa para produções em pequena escala (GOMES, 2013) com adaptação do aparelho de *Clevenger*, mas também é utilizada industrialmente (JAKIEMIU, 2008). Além da praticidade e baixo custo da técnica, é eficiente para extração de compostos

terpênicos de plantas, porém tem desvantagens para compostos oxigenados e fenóis razoavelmente solúveis em água. O tempo passa a ser o único parâmetro que pode ser alterado (GOMES, 2013), e, como dito, trabalhar a altas temperaturas pode degradar alguns compostos voláteis presentes nos OEs (MAUL, 1996).

A extração com fluido supercrítico (SFE) de óleos voláteis possui vantagens como menor viscosidade, maior seletividade ao se controlar os parâmetros de temperatura e pressão, fácil eliminação do solvente, alto rendimento e pureza (GOMES, 2013) e como desvantagens, alto custo dos equipamentos (JAKIEMIU, 2008; MAUL, 1996) e a extração de compostos indesejáveis (GOMES, 2013). Esta técnica utiliza solvente em temperatura e pressão críticas, estes dois parâmetros são modificados para garantir que o solvente esteja na condição acima do seu ponto crítico. Assim, o solvente no estado supercrítico apresenta propriedades intermediárias entre gases e líquidos (GOMES, 2013; JAKIEMIU, 2008; MAUL, 1996). O dióxido de carbono (CO₂) é o solvente mais utilizado por ser inodoro, não causar risco ambiental, ser seguro, barato, ter temperatura crítica baixa (em torno de 31 °C) reduzindo a possibilidade de degradação dos compostos voláteis, como em algumas técnicas, e ter pressão crítica de fácil alcance (em torno de 73 atm). Há outros gases que podem ser utilizados como solventes no estado supercrítico, porém o alto custo, a elevada toxicidade e os riscos no manuseio são pouco recomendados como, por exemplo, metano, etano, etileno, óxido nitroso, dióxido de enxofre, entre outros (MAUL, 1996).

A técnica de prensagem costuma ser empregada para extração de OEs presentes em partes periféricas, como nas cascas dos frutos (CORAZZA, 2002; JAKIEMIU, 2008; VUNDA, 2011). É bem simples e não utiliza solventes. As indústrias brasileiras, grandes produtoras de frutos cítricos, utilizam muito o processo de prensagem a frio para obtenção de OEs cítricos (MACHADO, 2011; NEVES, 2011).

A técnica de enfloração (*enfleurage*) costuma ser empregada para extração de óleos voláteis de matérias-primas muito delicadas, como no caso das pétalas de flores que são sensíveis e com baixo teor de óleo (CORAZZA, 2002; JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2011; VUNDA, 2011). É um processo lento, caro, antigo, rústico e de baixo rendimento (CORAZZA, 2002; NEVES, 2011). Foi substituída pela técnica de extração por solvente para obtenção de OEs de flores (NEVES, 2011). O procedimento é realizado da seguinte maneira: as flores são colocadas em um recipiente de fundo de vidro recoberto com gordura (vegetal ou animal) inodora, absorvendo o óleo das pétalas. Após determinado tempo as pétalas são substituídas por flores mais frescas, geralmente faz-se muitas repetições até saturar a gordura

com o óleo volátil. Mistura-se a gordura saturada com etanol ou éter de petróleo (mistura de hidrocarbonetos) e realiza-se destilação, a baixa temperatura, para obtenção do óleo volátil (CORAZZA, 2002; JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2011).

A extração com solventes orgânicos é uma técnica alternativa para extração de óleos voláteis de amostras delicadas, tem como vantagem um rendimento elevado e como desvantagens a extração indesejável de outros compostos, como pigmentos e ceras, junto com os óleos. Além de gerar resíduos químicos e apresentar a dificuldade de evaporar o solvente sem perder componentes da amostra (JAKIEMIU, 2008; MAUL, 1996; NEVES, 2011). Geralmente utilizam-se solventes orgânicos apolares como diclorometano, éter, acetona e hexano (JAKIEMIU, 2008; NEVES, 2011). Este método de extração pode ser feito por infusão com solvente ou com tubo extrator tipo *Soxhlet* com solvente (SILVA *et al.*, 2005).

2.6 PRINCIPAIS ANÁLISES DE CONTROLE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Em relação a qualidade dos OEs, muitos fatores podem influenciar, sendo eles a variabilidade genética, identificação botânica e origem da planta, condições ambientais, método de extração, adulteração e/ou falsificação (BELTRAME *et al.*, 2010; VITTI, 2003).

Os testes mais realizados para a análise de OEs em geral, servindo de controle de qualidade, são os seguintes: índice de refração, atividade óptica (rotação específica), densidade relativa e teor de componente majoritário (VITTI, 2003).

Existem normas específicas recomendadas pela *International Standard Organization*, para determinação da rotação óptica de OEs, norma ISO 592:1998 e para determinação do índice de refração de OEs, norma ISO 280:1998. Alguns OEs possuem especificações recomendadas pela ISO como, por exemplo, a ISO 3140:2011 sobre os padrões de qualidade a serem seguidos para o óleo de laranja (*Citrus sinensis*), ISO 3809:2004 sobre os padrões de qualidade a serem seguidos para o óleo de lima prensado do Brasil (*Citrus aurantifolia*), entre outras normas (ISO, 2013).

2.7 CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA

O termo cromatografia foi utilizado pela primeira vez por um pesquisador russo, em 1906, que descreveu sua experiência na separação de alguns componentes de plantas (DEGANI, 1998). Esta técnica de separação se baseia na migração diferencial das substâncias

analisadas entre duas fases (móvel e estacionária) (DEGANI, 1998; JAKIEMIU, 2008; PENTEADO, 2008).

Para análises dos componentes voláteis de um OE são necessárias informações analíticas sobre sua identidade e pureza. A cromatografia em fase gasosa (CG) é a técnica mais utilizada para separar esses componentes voláteis (BELTRAME *et al.*, 2010; DEGANI, 1998; JAKIEMIU, 2008; PENTEADO, 2008). Suas maiores vantagens são o alto poder de resolução, a sensibilidade com possibilidade de detecção em escala de nanogramas (10^{-9} g) a picogramas (10^{-12} g) e efetividade em separar os componentes da amostra (DEGANI, 1998; PENTEADO, 2008). Com limitação quanto à característica do analito (volátil ou estável termicamente), amostras não voláteis ou instáveis podem ser derivatizadas quimicamente e analisadas por esta técnica (DEGANI, 1998).

A cromatografia é uma técnica eficiente para separação de analitos, com frequência ela é usada juntamente com outras técnicas (LANÇAS, 2004). Entre as publicações em torno de OEs, a maioria envolve dois detectores como os mais utilizados, independente do método de isolamento de componentes, são o detector espectrômetro de massas (EM) (DEGANI, 1998; JAKIEMIU, 2008; MACHADO, 2002; VERNIN, 1998) e o detector por ionização em chama (DIC) (DEGANI, 1998; MACHADO, 2002). Onde os dados podem ser obtidos através de um microcomputador, sendo as amostras identificadas de diversas formas (DEGANI, 1998).

2.7.1 Cromatografia em Fase Gasosa com Detector Espectrômetro de Massas (CG-EM)

A cromatografia em fase gasosa com detector espectrômetro de massas (CG-EM) é uma técnica muito precisa e eficiente para a separação e identificação estrutural de compostos através da obtenção da massa molecular e padrão de fragmentação a partir da ionização dos mesmos (JAKIEMIU, 2008). Foi desenvolvida em 1967 e posteriormente aprimorada (VERNIN, 1998). Possui como desvantagens a destruição da amostra analisada, alguns compostos podem sofrer degradação térmica, compostos com alto ponto de ebulição e termolábeis podem sofrer discriminação no injetor, não sendo indicados para análise por esta técnica (MACHADO, 2002).

Basicamente um equipamento de CG-EM é constituído de: (a) reservatório de gás com controle de vazão/pressão, (b) injetor de amostra, (c) forno com coluna cromatográfica, (d) detector, (e) amplificador de sinal, (f) registrador, conforme demonstrado na Figura 9 (DEGANI, 1998; PENTEADO, 2008).

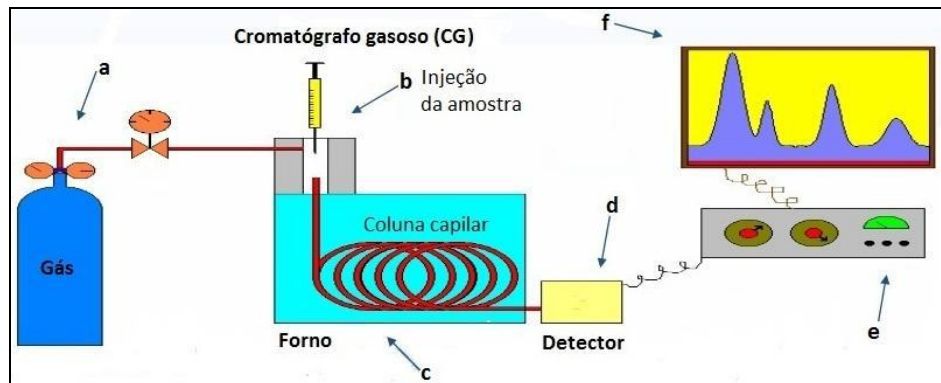


FIGURA 9: Esquema de um equipamento de CG-EM. (Fonte: adaptado de DEGANI, 1998).

As substâncias separadas saem da coluna do CG arrastadas pelo gás e chegam ao EM, que pode ionizar as moléculas por bombardeamento de elétrons. Estas sofrem fragmentações e os íons são separados de acordo com a razão m/z (massa/carga), gerando um sinal elétrico que é registrado em função do tempo em um cromatograma. Os espectros são registrados e processados em software de um microcomputador, e este software possui um banco de dados que auxilia na identificação dos componentes químicos (VERNIN, 1998), porém outros métodos devem ser considerados para aumentar a segurança na identificação dos mesmos (JAKIEMIU, 2008).

2.7.2 Cromatografia em Fase Gasosa com Detector por Ionização em Chama (CG-DIC)

A cromatografia em fase gasosa com detector por ionização em chama (CG-DIC) é usada para análise qualitativa e com fins de quantificação de compostos orgânicos voláteis, podendo usar padrão interno determinado de acordo com cada matriz, para aumentar a precisão dos resultados, minimizando as incertezas por injeção da amostra, variações de vazão e condições da coluna (PENTEADO, 2008; SILVA *et al.*, 2004).

CG-DIC é muito utilizada para detecção de compostos orgânicos em geral, e compostos inorgânicos, monóxido e dióxido de carbono não são detectados pois o principal requisito para geração de sinal captado por este detector é a capacidade de formação de hidrocarbonetos radicalares (SILVA *et al.*, 2004).

Esta técnica tem como fonte, geralmente, uma chama de hidrogênio-ar (gás de combustão). A amostra separada da coluna do CG atravessa a chama do detector, que através da combustão de compostos orgânicos da amostra produz íons. Os íons são convertidos em um sinal elétrico proporcional à quantidade de carbono que passou pela chama, a corrente

elétrica é amplificada e registrada (HOLM, 1999; SILVA *et al.*, 2004), conforme ilustrado na Figura 10, a seguir.

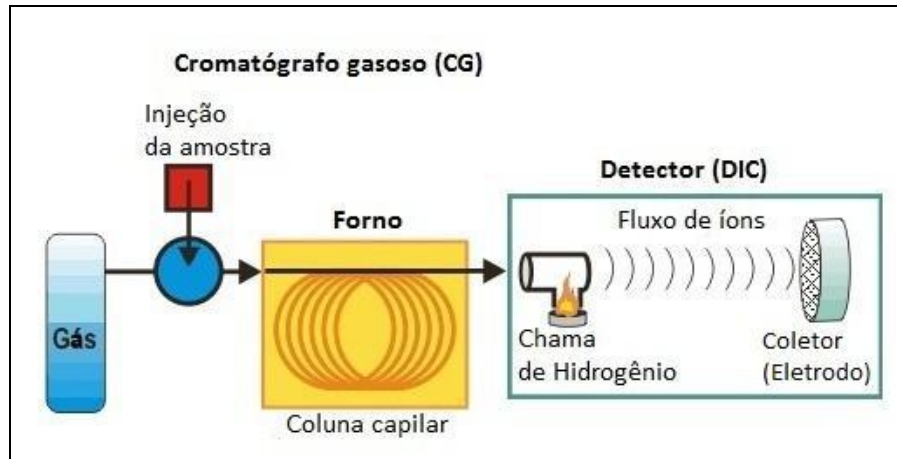


FIGURA 10: Esquema de um equipamento de CG-DIC. (Fonte: adaptado de *ETS Laboratories*).

Apresenta grande aplicabilidade, elevada sensibilidade, estabilidade, além de uma leitura rápida, precisa e contínua. Tem como desvantagens a destruição da amostra analisada e baixa seletividade (COLLINS *et al.*, 2006; HOLM, 1999; SILVA *et al.*, 2004).

2.8 PROJETO I-FLORA, PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS (PARNASO) E AS ESPÉCIES DE ESTUDO

Como parte das pesquisas científicas que visam o melhor conhecimento da flora brasileira e sua preservação, encontra-se o projeto I-FLORA/Faperj, que faz parte do Programa de Apoio ao Estudo da Biodiversidade do Estado do Rio de Janeiro - Biota RJ, vinculado a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (Faperj), e é coordenado por docentes da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e com colaboração de docentes da Universidade Federal Fluminense (UFF), pesquisadores do Jardim Botânico e Fundação Osvaldo Cruz.

O projeto I-FLORA/Faperj tem como objetivo principal investigar espécies vegetais que ocorrem no bioma Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, realizando coletas em quatro locais diferentes: Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO); Parque Nacional de Itatiaia; Parque Nacional da Tijuca (Floresta da Tijuca) e Teresópolis, e assim, agregar valor a biodiversidade da flora fluminense através de estudos químicos e biológicos. Outro objetivo deste projeto é o estudo sobre produtos naturais derivados de algas marinhas e o uso

de seus metabólitos secundários como marcadores taxonômicos, para a criação de uma *extratoteca* e criação de um banco de sementes dos frutos coletados (I-FLORA, 2013).

O Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) faz parte do bioma Mata Atlântica (BRAGAGNOLO, 2003; ICMBio, 2013). Este bioma possui mais de 20.000 espécies vegetais e metade das quais são endêmicas, sendo considerado um dos pontos críticos (*hot spots*) importantes no planeta em relação à necessidade de práticas de conservação, uma vez que apresenta abundância de espécies endêmicas e sofre com grande perda de habitat. Este bioma inclui formações florestais e não-florestais que ocorrem ao longo da costa brasileira, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul. O Brasil abriga 95 % deste domínio fitogeográfico, que corresponde a 13 % do seu território. Relacionando o bioma Mata Atlântica e o Estado do Rio de Janeiro, antigamente ocupava cerca de 98 % do território fluminense mas atualmente representa menos de 17 % da superfície florestal fluminense (FLORA DO BRASIL, 2013).

O PARNASO foi criado em 30 de novembro de 1939 e é o terceiro parque mais antigo do Brasil. É uma Unidade de Conservação (UC) Federal de Proteção Integral gerenciada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) que integra o Sistema Nacional do Meio Ambiente (Sisnama) e está vinculado ao Ministério do Meio Ambiente (MMA). Este parque ocupa uma área de aproximadamente 10.600 hectares e está localizado nas encostas mais altas da Serra do Mar (área de grande biodiversidade biológica do bioma Mata Atlântica e com maior concentração de espécies endêmicas), com topografia acidentada e muitos desníveis, com altitude variando de 300 a 2260 metros, entre os municípios de Magé, Guapimirim, Teresópolis e Petrópolis (BRAGAGNOLO, 2003; ICMBio, 2013). Embora a sede do parque esteja situada no município de Teresópolis, este município é o que apresenta menor área representativa desta UC, sendo o município de Petrópolis com maior área de vegetação no PARNASO (Tabela 4).

TABELA 4: Percentual das áreas dos municípios que englobam o PARNASO. (Fonte: ICMBio, 2013).

Município	Área do PARNASO por município (em hectares)	% do PARNASO por município	Área total de cada município (em hectares)	% de cada município no parque
Teresópolis	1.422	13,34	772.900	0,18
Petrópolis	4.600	43,18	796.100	0,58
Magé	1870	17,56	386.800	0,48
Guapimirim	2761	25,92	361.900	0,75

O PARNASO é a UC federal com o maior número de pesquisas autorizadas no país devido a alta biodiversidade de sua flora e fauna. Encontram-se no parque mais de 2.800

espécies vegetais registradas. Historicamente este parque já foi muito estudado, porém as pesquisas científicas concentravam-se, muitas vezes, nas áreas de fácil acesso. Sendo assim, possivelmente, muitas espécies de flora ainda são desconhecidas, principalmente nas florestas de elevadas altitudes e difícil acesso (BRAGAGNOLO, 2003; ICMBio, 2013).

O presente trabalho faz parte do projeto I-FLORA/Faperj, através da contribuição com a investigação da composição química de OEs e hidrolatos de três espécies aromáticas que ocorrem com frequência no PARNASO: *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg.; *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg; *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg.

A espécie *A. olivaceum* é conhecida popularmente como guatambú, peroba ou peroba-branca. É uma espécie endêmica do Brasil, Argentina e México (KRENTKOWSKI, 2012), pertence ao bioma Mata Atlântica e no Brasil está distribuída geograficamente no nordeste (Bahia), no sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Rio de Janeiro) e no sul (Paraná, Santa Catarina) conforme Figura 11 (KOCH *et al.*, 2013). O gênero *Aspidosperma* possui aproximadamente 260 espécies (ALVES, 2007), é conhecido pela boa qualidade de sua madeira e pelo uso de várias espécies do gênero na medicina popular, pertence à família Apocynaceae (PEREIRA, 2004), uma das maiores famílias de angiosperma com mais de 3600 espécies identificadas (KRENTKOWSKI, 2012).

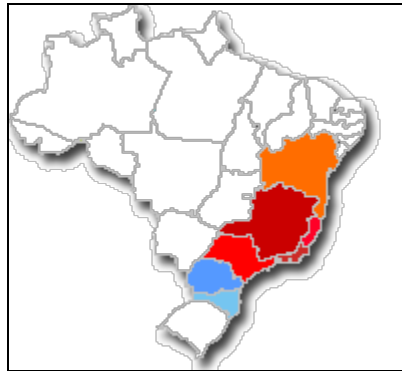


FIGURA 11: Distribuição geográfica no Brasil da espécie *A. olivaceum* (Fonte: FLORA DO BRASIL, 2013).

A espécie *C. xanthocarpa* é conhecida popularmente como gabioba, guabioba, guabioba-miúda, guabiobeira-do-mato, guavirova, guariba (ROCHA, 2011; SANTOS *et al.*, 2009; SILVA, 2011; VALLILO *et al.*, 2008). É uma espécie não endêmica do Brasil, podendo ser encontrada na Bolívia, no Paraguai, na Argentina e no Uruguai (SANTOS, 2013), pertence aos biomas Cerrado e Mata Atlântica e no Brasil está distribuída geograficamente no sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), no sudeste (Minas Gerais, Espírito Santos, Rio de Janeiro e São Paulo), no centro-oeste (Goiás, Distrito Federal

e Mato Grosso do Sul) e no nordeste (Bahia) conforme Figura 12 (SOBRAL *et al.*, 2013). O gênero *Campomanesia* pertence a família Myrtaceae (PASCOAL *et al.*, 2011; LIMA *et al.*, 2011; LOPES, 2008). As três espécies mais difundidas no Brasil do gênero *Campomanesia* são *C. adamantium*, *C. xanthocarpa* e *C. pubescens* (ROCHA, 2011).

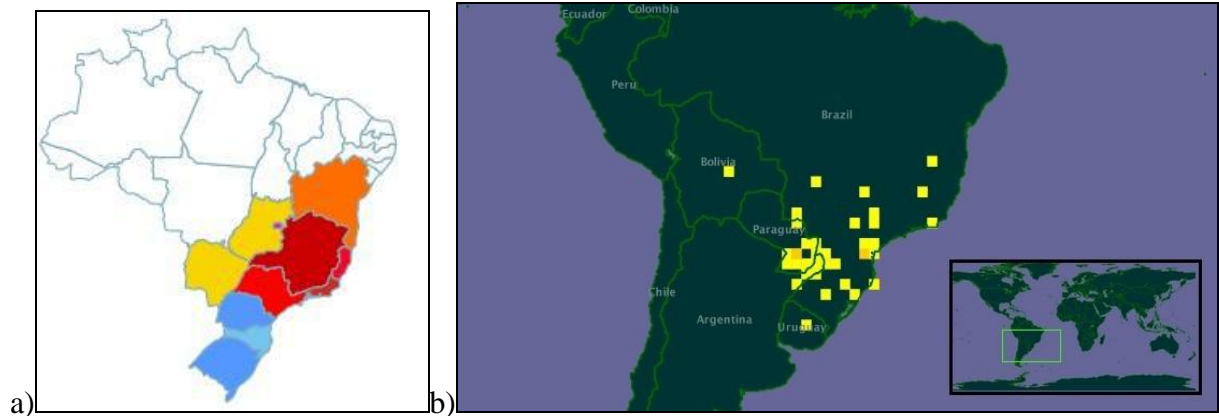


FIGURA 12: Distribuição geográfica da espécie *C. xanthocarpa* no (a) Brasil e (b) mundo. (Fontes: FLORA DO BRASIL, 2013; GLOBAL SPECIES, 2013).

A espécie *M. delicatula* conhecida popularmente como cambuí (MORAIS, 2006) é uma espécie não endêmica do Brasil, podendo ser encontrada na Bolívia, Paraguai e na Argentina, pertence aos biomas Cerrado, Mata Atlântica e Pampa e no Brasil está distribuída geograficamente no sudeste (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro) e no sul (Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul) conforme Figura 13 (SOBRAL *et al.*, 2013). O gênero *Myrciaria* pertence à família Myrtaceae (FLORA DO BRASIL, 2013; LIMA *et al.*, 2011; LOPES, 2008).

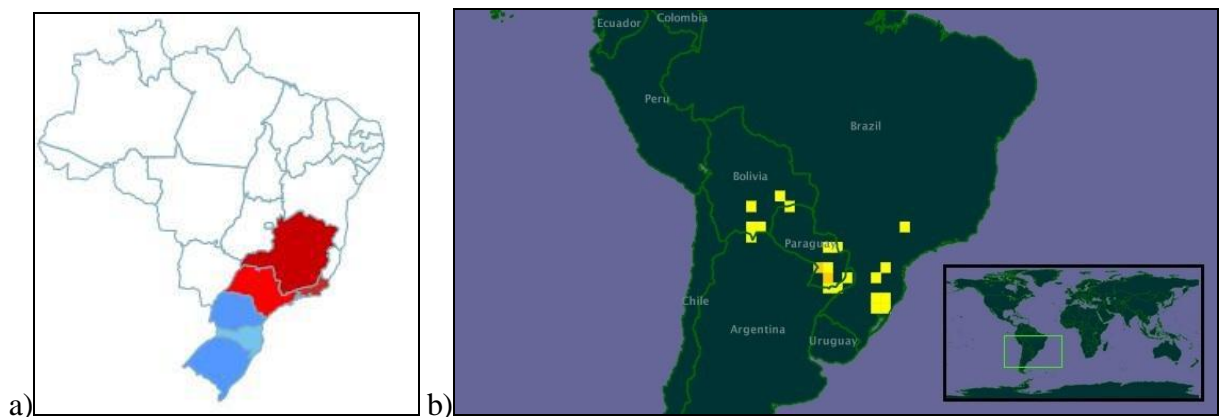


FIGURA 13: Distribuição geográfica da espécie *M. delicatula* no (a) Brasil e (b) mundo. (Fontes: FLORA DO BRASIL, 2013; GLOBAL SPECIES, 2013).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a composição química dos óleos essenciais de *Aspidosperma olivaceum* Müll. Arg. (Apocynaceae), *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg (Myrtaceae) e *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg (Myrtaceae), espécies vegetais que ocorrem com frequência no Parque Nacional da Serra dos Órgãos localizado em Teresópolis, Região Serrana do Rio de Janeiro, pela técnica de cromatografia em fase gasosa.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extração dos óleos essenciais e hidrolatos a partir de folhas frescas das espécies selecionadas utilizando técnica de hidrodestilação;
- Identificação estrutural dos componentes voláteis dos óleos essenciais presentes nas espécies por cromatografia em fase gasosa com detector espectrômetro de massas (CG-EM) e uso de mistura padrão de hidrocarbonetos (C₈-C₃₀) para cálculo dos Índices de Retenção Linear (IRLs);
- Obtenção da área relativa (% área) dos compostos voláteis dos óleos essenciais através da análise por cromatografia em fase gasosa com detector por ionização em chama (CG-DIC) e uso de mistura padrão de hidrocarbonetos (C₉-C₂₆) para cálculo dos IRLs;
- Avaliar perfil cromatográfico dos hidrolatos das espécies selecionadas.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Com as devidas autorizações governamentais exigidas pelos órgãos de controle ambiental, foram realizadas duas coletas das três espécies citadas, no PARNASO, em Teresópolis, Brasil, sob o acompanhamento de César Pardo, funcionário do parque. A primeira coleta ocorreu no final do mês de março, com dias antecedentes de muito sol. Após período de muita chuva no Estado do Rio de Janeiro, esperou-se por três dias consecutivos de estiagem para realização da segunda coleta, no início do mês de abril, ambas em 2012 no

período diurno. Parte do material foi encaminhada para especialistas em botânica, Neusa Tamaio e Genise Somner, vinculadas ao projeto I-FLORA/Faperj para identificação das espécies. Até o momento, o número de depósito das espécies no Museu do Horto do Jardim Botânico, RJ, não foi informado.

4.2 EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Foi escolhida a hidrodestilação como método de extração dos OEs deste estudo.

As folhas foram separadas dos caules, pesadas em balança analítica, com massas variando de 50 a 100 g. Essa grande variação de material vegetal entre as espécies ocorreu pelo difícil acesso a algumas espécies e por pouca repetição de amostragem na região. A extração dos OEs ocorreu por hidrodestilação das folhas frescas com uso de aparelho do tipo *Clevenger* adaptado a um condensador com um sistema de resfriamento, e uma manta de aquecimento por um período de 2 horas (Figura 14). Após a destilação, obteve-se uma mistura de hidrolato e OE. A esta mistura foi adicionado um volume aproximado de 5 mL de solvente diclorometano e a fração orgânica foi separada da aquosa através de funil de separação. Um agente dessecante, sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), foi utilizado para retirar vestígios de água presentes na fase orgânica, o solvente foi evaporado da fase orgânica em capela de exaustão, obtendo-se o OE. Os óleos obtidos foram armazenados em um congelador para posterior análise pelas técnicas de CG-EM e CG-DIC.



FIGURA 14: Hidrodestilação.

4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA POR CG-EM E OBTENÇÃO DA ÁREA RELATIVA POR CG-DIC DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Empregou-se as técnicas de CG-EM e CG-DIC para a separação, caracterização química e obtenção das áreas relativas dos componentes presentes nos OEs das espécies *A. olivaceum*, *C. xanthocarpa* e *M. delicatula*. Utilizou-se cromatógrafo gasoso Agilent 6890N equipado com detector seletivo de massas Agilent 5973N, do laboratório de Análise de Aromas localizado no Instituto de Química da UFRJ, sob a coordenação da professora Claudia Rezende e co-orientação prática da aluna de doutorado Thaís Uekane. Para segunda análise utilizou-se cromatógrafo gasoso Agilent 6890N equipado com detector por ionização em chama Agilent 7890A, do laboratório de Óleo Essencial localizado na Embrapa Agroindústrias de Alimentos, sob a coordenação do professor Humberto Bizzo e co-orientação prática da analista Paola Gama.

A coluna capilar cromatográfica utilizada foi de sílica fundida HP-5MS (5 % de fenilpolimetilsiloxano) de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm. Todas as análises foram realizadas empregando as mesmas concentrações dos OEs, que foram diluídos em diclorometano, na proporção de 1 %. Em seguida, o volume de 1 µL da solução foi injetada, com divisão de fluxo (*split*), na proporção 1:20, com exceção da espécie *A. olivaceum*, que na análise por CG-DIC, a amostra do OE foi injetada sem divisão de fluxo (*splitless*) para melhor resolução do cromatograma. O gás de arraste empregado para CG-EM foi o Hélio e para CG-DIC foi Hidrogênio, ambos com fluxo de 1,0 mL/minuto. A temperatura do injetor foi de 240 °C para o primeiro detector e de 250 °C para o segundo detector, essas temperaturas são diferentes, pois foram utilizados equipamentos de laboratórios diferentes e não houve necessidade de alterar esses valores.

O detector EM foi operado no modo de varredura de íons totais (*SCAN*), com faixa de razão massa/carga (*m/z*) 40-600, o tempo de não detecção do solvente foi de 4 minutos (solvente *delay*), a temperatura da linha de transferência foi de 290 °C, a fonte de íons 230 °C e o analisador do tipo quadrupolo 150 °C. Para o DIC a temperatura do detector foi de 280 °C.

A programação do forno cromatográfico teve temperatura inicial ajustada em 50 °C, seguiu uma taxa de aquecimento de 4 °C/minuto até a temperatura de 290 °C, permanecendo em isoterma por 5 minutos, totalizando 65 minutos de análise. Exceto para a espécie *M. delicatula*, que para obtenção de melhor separação cromatográfica foi aplicada uma rampa de temperatura diferente, iniciando com temperatura de 50 °C a uma taxa de aquecimento de 4

°C/minuto até 135 °C, reduzindo a taxa para 2 °C/minuto até 190 °C, aumentando a taxa para 5 °C/minuto até temperatura de 290 °C, totalizando 68,75 minutos de análise.

A composição percentual foi obtida por normalização através dos cromatogramas utilizando o CG-DIC.

Os espectros de massa obtidos foram analisados utilizando as seguintes bases de dados: *Wiley275* do software, livro “*Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*” (ADAMS, 1995), site *The pherobase* (EL-SAYED, 2012) e livro de química na web do *National Institute of Standards and Technology* (NIST) (*NISTWebBook*, 2011).

4.4 CÁLCULO DO ÍNDICE DE RETENÇÃO LINEAR (IRL)

O Índice de Retenção Linear (IRL) de um componente é um número obtido através do cálculo usando o tempo de retenção do analito de interesse comparado com o tempo de retenção de padrões de hidrocarbonetos eluídos antes e depois do pico do composto. Esse recurso é utilizado para auxiliar na identificação dos compostos de maneira mais precisa. Na literatura há dois índices de retenção bastante utilizados, sendo eles o Índice de retenção de Kovats (IK) e o IRL. O primeiro é calculado em função de escala logarítmica sob condições isotérmicas de temperatura e o segundo é recomendado quando se utiliza temperaturas programadas de coluna, onde a escala logarítmica não é obedecida, mas os resultados obtidos são similares ao IK (PINI, 1995; VIEGAS, 2007). E esses valores podem ser comparados e considerados válidos com uma variação de até 10 unidades para mais ou para menos.

Após análise por CG-EM para identificação estrutural e por CG-DIC para obtenção da área relativa, misturas de n-alcenos, (C₈-C₃₀) e (C₉-C₂₆), foram analisadas por essas técnicas, respectivamente, sob as mesmas condições citadas no item anterior. Para realização do cálculo do IRL, utilizou-se a seguinte equação de Van Den Dool e Kratz (ETTRE, 2003; PINI, 1995; VERNIN, 1998):

$$\text{IRL} = \frac{(\text{TR}_A - \text{TR}_N)}{(\text{TR}_{N+1} - \text{TR}_N)} * 100$$

TR_A = Tempo de Retenção do Analito

TR_N = Tempo de Retenção do alceno com N carbonos

TR_{N+1} = Tempo de Retenção do alceno com N+1 carbonos

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Muitos trabalhos de atividades biológicas de plantas são realizados com extratos e OEs, de diferentes partes de plantas. Alguns trabalhos estão sendo realizados com o hidrolato também. A análise do perfil cromatográfico da planta é importante para saber quais compostos possuem, possibilitando a melhor compreensão das rotas metabólicas envolvidas e de seus potenciais de aplicação.

Os principais compostos presentes nos OEs analisados foram identificados através dos espectros de massas obtidos da espectroteca do CG-EM, considerando os compostos com probabilidade superior a 85 % e através da comparação dos IRLs obtidos com os índices de retenção relatados na literatura. Mesmo assim, compostos não puderam ser identificados devido a discrepâncias nos valores de IRLs e/ou discrepâncias dos espectros de massas, mesmo a espectroteca indicando probabilidade de até 99 % para alguns compostos. Os compostos identificados tiveram os IRLs com variação máxima de 10 unidades, sendo valores considerados confiáveis.

Não foram realizadas duplicatas de prospecção das espécies devido a pouca quantidade de amostra vegetal obtida nas coletas. Foram realizadas apenas triplicas de injeção.

5.1 PERFIL CROMATOGRÁFICO DA ESPÉCIE *Aspidosperma olivaceum*

O OE das folhas de *A. olivaceum* obtido apresentou uma coloração incolor, com aroma persistente e um rendimento médio de 0,01 % comparando a massa do óleo bruto obtido com a massa de folhas utilizada (m/m). As análises por CG-DIC mostraram alguns picos proeminentes conforme pode ser observado no cromatograma da Figura 15.

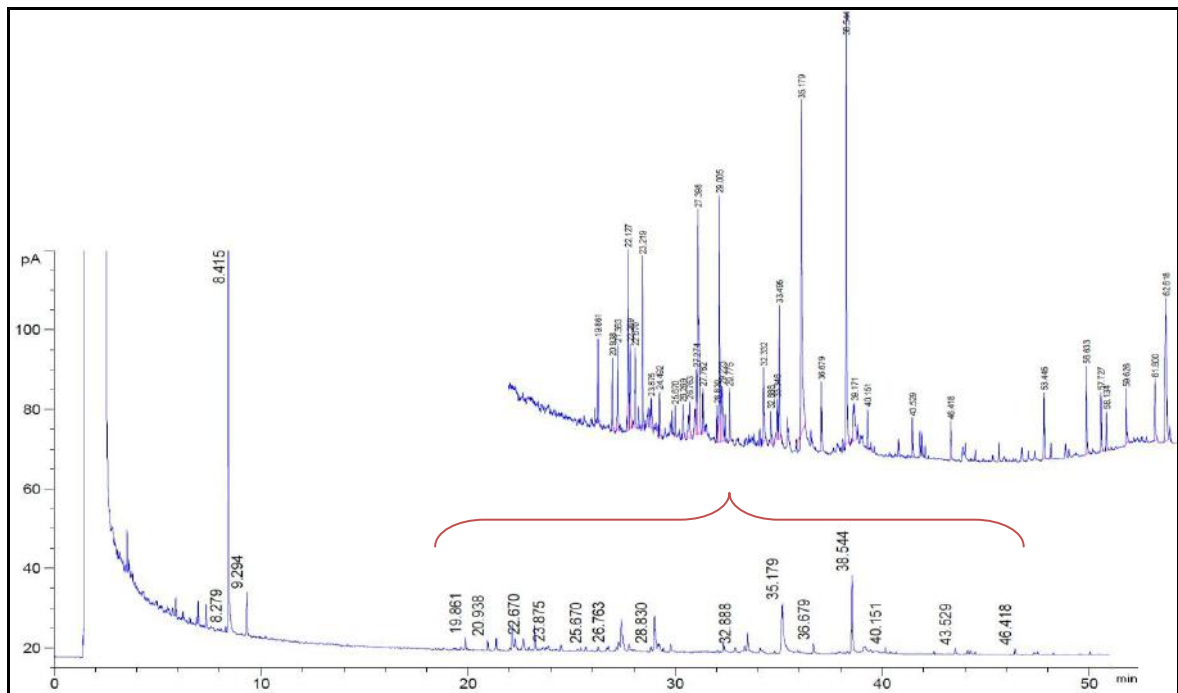


FIGURA 15: Cromatograma obtido da primeira extração da espécie *A. olivaceum*, por CG-DIC, com área ampliada na parte superior.

Foram realizadas triplicatas de injeção da mesma amostra de OE e o perfil cromatográfico obtido foi semelhante. Em relação aos diferentes extratos, provenientes de coletas variando somente o clima, o perfil cromatográfico entre elas foi um pouco diferente e a abundância relativa dos picos também, confirmando que as condições ambientais interferem na composição química dos OEs, mesmo que seja coletado o mesmo exemplar de uma espécie da mesma região e o OE seja extraído da mesma parte da planta.

A composição química obtida do OE das folhas de *A. olivaceum* encontra-se na Tabela 5, considerando apenas os compostos com área relativa superior a 1 % pela técnica CG-DIC. Apenas 6 compostos foram identificados entre os 14 compostos com maior área relativa.

TABELA 5: Composição química da espécie *A. olivaceum* considerando compostos com área relativa superior a 1 % (n.i.= não identificado).

Tempo de retenção (min) CG-EM	Tempo de retenção (min) CG-DIC	Área relativa (%) CG-DIC	Compostos	Fórmula Molecular	IRL Obtido CG-EM	IK Literatura (Adams/NIST WebBook*, The Pherobase**)	Variação entre IRL e IK ($\Delta_{\text{máx.}} = \pm 10$) CG-EM
-	9,294	2,189	n.i.	-	-	-	-
24,215	22,127	2,025	n.i.	-	1468	-	-
24,768	22,269	1,046	n.i.	-	1486	-	-
-	22,670	1,109	n.i.	-	-	-	-
25,454	23,219	1,590	Eremofilemo	$C_{15}H_{24}$	1508	1503*	+5
29,750	27,398	3,698	α -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	1658	1652	+6
31,262	29,005	3,216	Pentadecanal	$C_{15}H_{30}O$	1713	1714	-1
-	29,223	1,388	n.i.	-	-	-	-
35,888	33,495	1,698	Linolenato de	$C_{19}H_{32}O_2$	1892	1893**	-1

			metila				
37,572	35,179	5,935	Ácido hexadecanóico (ácido palmítico)	$C_{16}H_{32}O_2$	1961	1962*	-1
41,077	38,544	6,047	Fitol	$C_{20}H_{40}O$	2112	2114*	-2
-	39,171	1,119	n.i.	-	-	-	-
-	56,633	1,031	n.i.	-	-	-	-
-	62,618	3,510	n.i.	-	-	-	-

A composição do OE presente nas amostras das folhas de *A. olivaceum* apresentou como componentes principais identificados: diterpeno fitol (6,0 %), ácido hexadecanóico (ácido palmítico) (5,9 %), sesquiterpenos α -eudesmol (3,7 %) e eremofileno (1,6 %), pentadecanal (3,2 %) e linolenato de metila (1,7 %), representados estruturalmente na Figura 16. Os compostos com os tempos de retenção 9,294 min, 22,270 min, 29,223 min, 39,171 min, 56,633 min e 62,618 min só foram observados na técnica CG-DIC e por isso não foi possível à identificação destes. Outros compostos não foram identificados devido às discrepâncias nos valores de IRLs e/ou às discrepâncias dos espectros de massas. O composto com o tempo de retenção 8,415 minutos, observado no cromatograma da Figura 15, possivelmente é o solvente diclorometano ou contaminação do solvente.

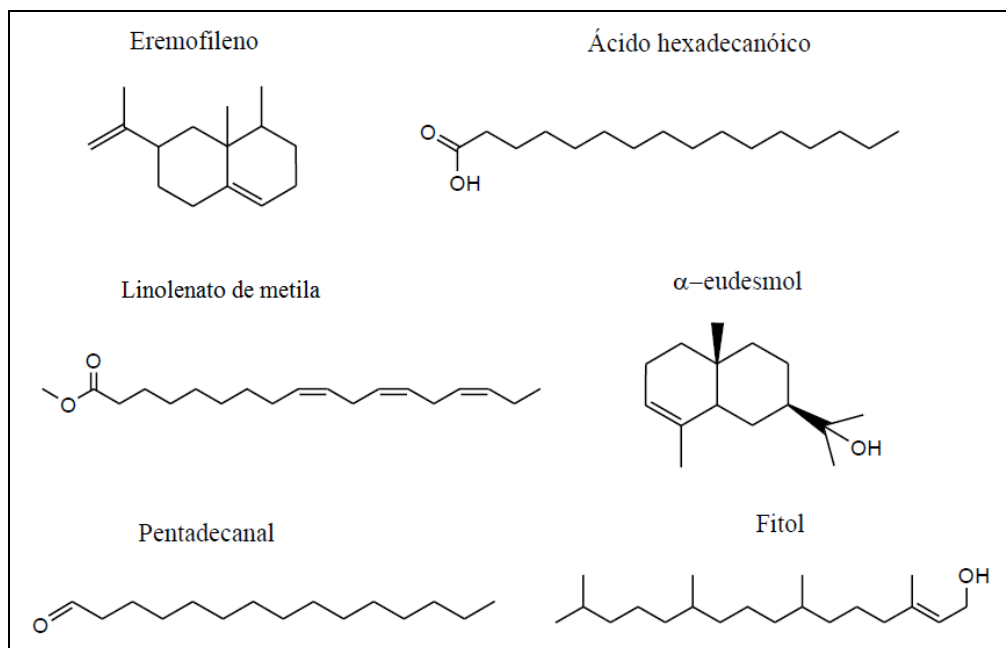


FIGURA 16: Estruturas químicas de alguns compostos majoritários no OE das folhas da espécie *A. olivaceum*.

Foram reportadas diversas atividades biológicas o gênero *Aspidosperma* como antimalárica, antibiótica, antitumoral, eficácia para tratamento de diabetes mellitus, entre outras. E o mesmo nome popular guatambú para várias espécies deste gênero causa problemas na identificação das espécies utilizadas como plantas medicinais (ALVES, 2007). A Tabela 6,

a seguir, relaciona algumas espécies desse gênero com algumas aplicações na medicina popular.

TABELA 6: Atividades biológicas de algumas espécies do gênero *Aspidosperma*.

Espécies	Atividades biológicas/uso popular	Referências
<i>A. album</i>	Antimalárica.	Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007
<i>A. cylindrocarpon</i>	Antimalárica.	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. discolor</i>	Antimalárica.	Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007
<i>A. excelsum</i>	Antimalárica, antimicrobiana contra <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007 OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. marcgravianum</i>	Atividades antimicrobiana e citotóxica.	Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007
<i>A. nitidum</i>	Antimalárica, anticonceptiva, anticancerígena, anti-inflamatória (útero e ovário), tratamento contra <i>diabetes mellitus</i> , antitérmica e antireumática.	Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007 OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. olivaceum</i>	Atividade antibiótica, antimalárica.	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. parvifolium</i>	Antimalárica.	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. polyneuron</i>	Antimalárica, antipirético, antidiarréico, antimicrobiano (folhas, caules e raiz), antifúngica contra <i>Cladosporium herbarium</i> , <i>Proteus mirabilis</i> .	KRENTKOWSKI, 2012 Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007 OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. pyrifolium</i>	Atividade hipotensora.	Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007
<i>A. ramiflorum</i>	Atividade leishmanicida, antimalárica, antifúngica, antibacteriana para <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> .	ALVES, 2007 Apud PEREIRA <i>et al.</i> , 2007 OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. spruceanum</i>	Antimalárica.	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. subincanum</i>	Tratamento contra <i>diabetes mellitus</i> .	ALVES, 2007
<i>A. tomentosum</i>	Antimalárica.	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2010
<i>A. ulei</i>	Atividade contra disfunção erétil.	ALVES, 2007

A família Apocynaceae apresenta perfil químico com muitos alcalóides. E as plantas do gênero *Aspidosperma* possuem muitos alcalóides indólicos, considerados bons marcadores quimiotaxonômicos para classificação botânica do gênero. Estudos com marcação isotópica

de precursores indicam que os alcalóides indólicos são derivados do triptofano (Figura 4) (apud PEREIRA *et al.*, 2007).

Muitas propriedades são atribuídas à presença desses alcalóides, como por exemplo, hipotensor, analgésico, diurético, vasoconstrictor, estimulante das vias respiratórias, anestésico, sedativo, relaxante muscular e alucinógenos (apud PEREIRA *et al.*, 2007). São conhecidos mais de 200 alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* e, destes, apenas 6 foram isolados na espécie *A. olivaceum* Müll. Arg. (Figura 17): (+)-*Aspidocarpina*, *Olivacina*, *N-Metiltetraidroolivacina* ou (+)-*Guatambuína*, (+)-*Uleína*, 3-*epi-Uleína*, (-)-*Aparicina* (PEREIRA *et al.*, 2007).

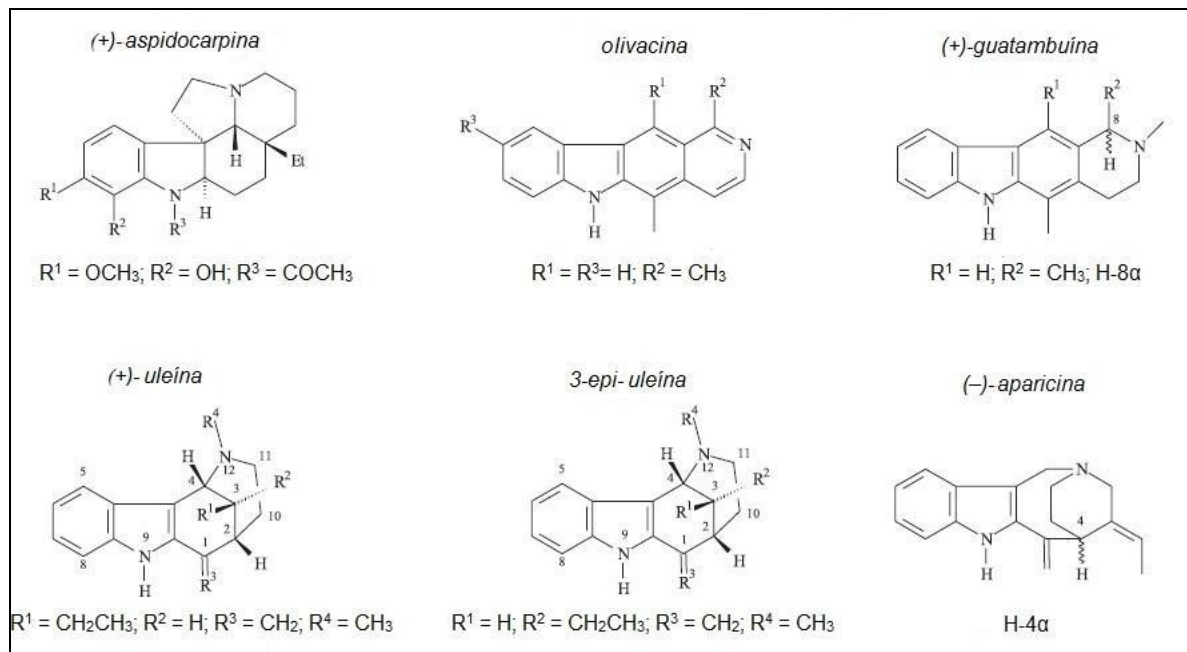


FIGURA 17: Alcalóides indólicos encontrados na espécie *A. olivaceum* Müll. Arg.. (Fonte: PEREIRA *et al.*, 2007)

Nos poucos artigos encontrados sobre OEs do gênero *Aspidosperma*, segundo (CORNÉLIO *et al.*, 2004) o OE da espécie *A. polyneuron* possui como constituintes majoritários pentadecanal (6,3 %) e caureno (73,7 %). Segundo estudos do mesmo grupo de pesquisadores no ano seguinte (CORNÉLIO *et al.*, 2005) o OE da espécie *A. cylindrocarpon* apresentou monoterpenos (6,4 %), hidrocarbonetos sesquiterpênicos (45,6 %) e compostos alifáticos (35,9 %) e os compostos majoritários foram β -cariofileno (14,3 %), biciclogermacreno (14,2 %) e nonodecanal (22,9 %).

Não foram encontrados relatos na literatura sobre OEs da espécie *A. olivaceum*. Comparando com estudos de OEs de espécies do gênero *Aspidosperma*, o composto

pentadecanal identificado majoritariamente nas folhas de *A. polyneuron* também foi um dos compostos principais identificados nas folhas de *A. olivaceum* desse estudo.

Neste estudo também foi observado o perfil cromatográfico do hidrolato obtido da hidrodestilação das folhas de *A. olivaceum*, aplicando as mesmas condições cromatográficas do OE dessa espécie, para verificar se este apresentaria composição química semelhante. O perfil observado foi pobre, com poucos compostos voláteis conforme observado na Figura 18. O composto identificado no hidrolato de *A. olivaceum* foi cis-3-hexenol ($C_6H_{12}O$) no tempo de retenção 4,858 min, um derivado de ácido graxo usualmente observado na trituração ou injúria de folhas frescas (dados não publicados). Sendo observado com a ampliação do cromatograma uma co-eluição de dois picos majoritários, mas o segundo pico não teve identificação confirmada.

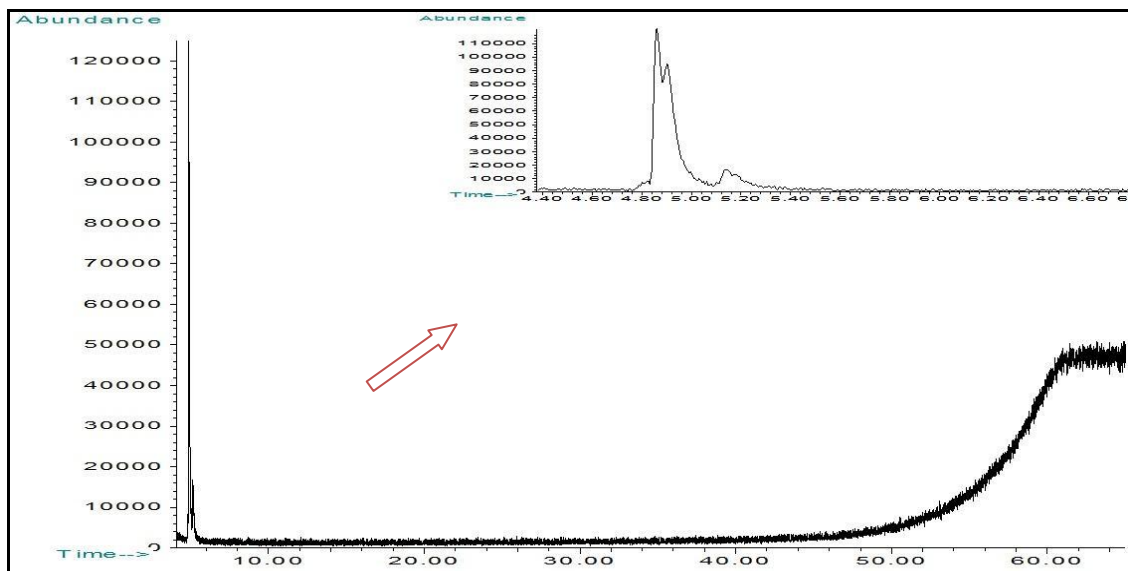


FIGURA 18: Cromatograma do hidrolato obtido da primeira extração da espécie *A. olivaceum*, por CG-EM, com área ampliada na parte superior.

5.2 PERFIL CROMATOGRÁFICO DA ESPÉCIE *Campomanesia xanthocarpa*

O OE das folhas de *C. xanthocarpa* obtido apresentou coloração amarelada, com aroma agradável e rendimento médio de 0,04 % (m/m). A seguir, encontra-se um cromatograma da amostra por CG-DIC (Figura 19).

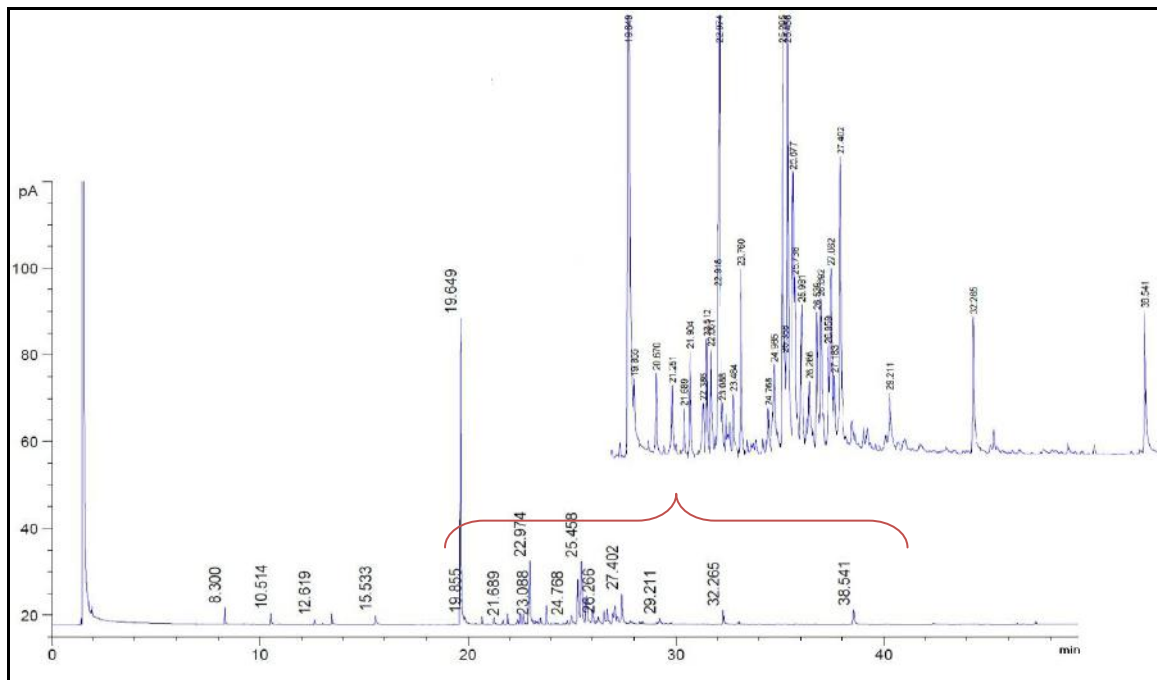


FIGURA 19: Cromatograma obtido da primeira extração da espécie *C. xanthocarpa*, por CG-DIC, com área ampliada na parte superior.

Foram realizadas triplicatas de injeção da mesma amostra de OE das folhas de *C. xanthocarpa* e o perfil cromatográfico foi semelhante, rico em sesquiterpenos, assim como muitas espécies do gênero *Campomanesia*. Em relação aos OEs extraídos das folhas coletadas em meses diferentes, foram verificados praticamente os mesmos compostos em ambas as amostras com algumas alterações na abundância relativa dos picos.

A composição química do OE das folhas de *C. xanthocarpa* pode ser observada na Tabela 7, considerando apenas os compostos com área relativa superior a 1 % pela técnica CG-DIC. Foram contabilizados 29 compostos com maior abundância relativa, o que representou 94,7 % do total de óleo. Destes compostos, 19 foram identificados.

TABELA 7: Composição química da espécie *C. xanthocarpa* considerando compostos com área relativa superior a 1 % (n.i.= não identificado).

Tempo de retenção (min) CG-EM	Tempo de retenção (min) CG-DIC	Área relativa (%) CG-DIC	Compostos	Fórmula Molecular	IRL Obtido CG-EM	IK Literatura (Adams/NIST WebBook*)	Varição entre IRL e IK ($\Delta_{\text{máx.}} = \pm 10$) CG-EM
9,711	8,300	1,297	Limoneno	C ₁₀ H ₁₆	1028	1031	+3
12,045	10,514	1,108	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	1099	1098	+1
15,177	13,441	1,292	α -terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1190	1189	+1
17,325	15,533	1,458	Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	1253	1255	-2
21,665	19,649	32,075	Acetato de geranila	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1386	1383	+3
21,970	19,855	1,194	β -elemeno	C ₁₅ H ₂₄	1395	1390	+5
24,118	21,904	1,084	Alloaromadendreno	C ₁₅ H ₂₄	1465	1461	+4
24,734	22,512	1,215	Germacreno D	C ₁₅ H ₂₄	1485	1480	+5
24,900	22,661	1,028	β -selileno	C ₁₅ H ₂₄	1490	1485	+5
25,052	22,918	1,062	n.i.	-	1495	-	-

25,236	22,974	6,958	Biciclogermacreno	C ₁₅ H ₂₄	1501	1494	+7
25,973	23,760	2,127	Δ-cadineno	C ₁₅ H ₂₄	1526	1524	+2
27,289	24,985	1,356	n.i.	-	1571	-	-
27,619	25,285	4,853	Espatuleno	C ₁₅ H ₂₄ O	1582	1576	+6
-	25,358	1,086	n.i.	-	-	-	-
27,829	25,458	8,367	Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	1589	1583	+6
28,045	25,677	3,085	Viridiflorol	C ₁₅ H ₂₆ O	1597	1590	+7
28,196	25,736	2,076	n.i.	-	1601	-	-
28,336	25,981	2,432	n.i.	-	1604	-	-
28,604	26,266	1,245	n.i.	-	1617	-	-
28,877	26,539	1,644	n.i.	-	1626	-	-
29,017	26,692	1,818	n.i.	-	1632	-	-
29,297	26,959	1,189	Isoespatuleno	C ₁₅ H ₂₄ O	1642	1639*	+3
29,385	27,062	3,276	T-cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	1645	1640	+5
29,507	27,183	1,111	n.i.	-	1649	-	-
29,773	27,402	3,744	T-muurolo	C ₁₅ H ₂₆ O	1659	1654*	+5
31,489	29,211	1,193	n.i.	-	1721	-	-
34,609	32,265	1,810	Acetato de farnesila	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	1841	1843	-2
41,084	38,541	1,962	Fitol	C ₂₀ H ₄₀ O	2113	2114*	-1

A composição do OE presente nas amostras das folhas de *C. xanthocarpa* apresentou como componentes principais identificados: acetato de geranila (32,1 %), globulol (8,4 %), biciclogermacreno (7,0 %), espatuleno (4,9 %), *t*-muurolo (3,7 %), *t*-cadinol (3,3 %), viridiflorol (3,1 %), Δ-cadineno (2,1%) e fitol (2,0 %), representados estruturalmente na Figura 20. O composto com o tempo de retenção 25,358 min foi observado apenas na técnica CG-DIC e sua identificação não foi possível. Outros compostos não foram identificados devido às discrepâncias nos valores de IRLs e/ou às discrepâncias dos espectros de massas.

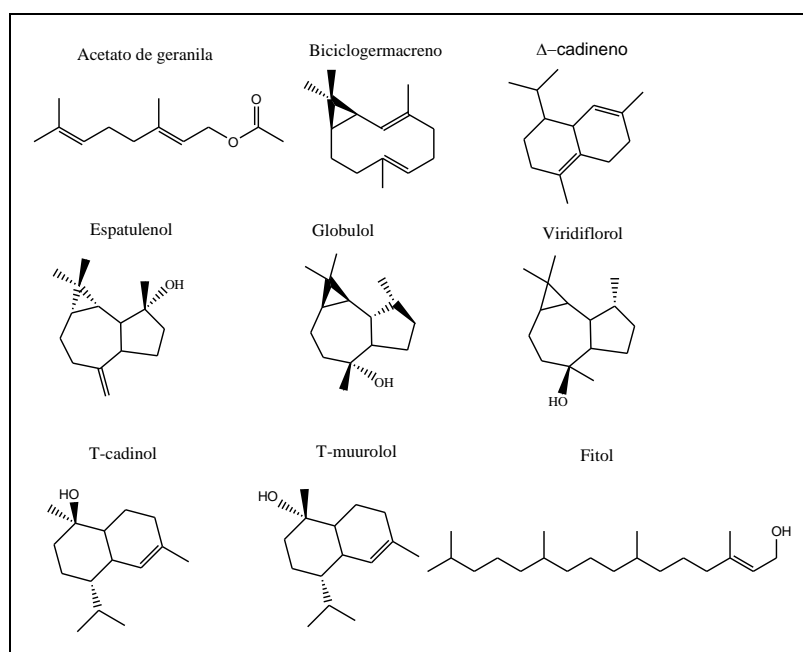


FIGURA 20: Estruturas químicas de alguns compostos majoritários no OE das folhas da espécie *C. xanthocarpa*.

Muitas espécies da família Myrtaceae são utilizadas na medicina popular, principalmente como antidiarréico, antimicrobiano, agente antioxidante, antireumático, agente anti-inflamatório e para reduzir o colesterol no sangue (STEFANELLO, 2011). Especificamente sobre o gênero *Campomanesia*, muitas são utilizadas na medicina popular como medicamentos para problemas digestivos, febre, tosse, gripe, diabetes, doenças na bexiga, doenças cardíacas e doenças hepáticas (PASCOAL *et al.*, 2011).

Os estudos com OEs de espécies do gênero *Campomanesia* revelaram que os OEs são ricos em terpenos, principalmente mono e sesquiterpenos, e possuem propriedades comuns a algumas espécies desse gênero (PASCOAL *et al.*, 2011) conforme demonstrado na Tabela 8. Os OEs da espécie *C. xanthocarpa* apresentaram atividades à redução de colesterol (KLAFKE *et al.*, 2008), redução de glicemia (BIAVATTI *et al.*, 2004) e eficácia na prevenção de úlceras gástricas em testes preliminares em ratos (MARKMAN, 2004). Os OEs das folhas dessa espécie mostraram-se ricos em sesquiterpenos e os OEs dos frutos apresentaram 62 componentes identificados, sendo os majoritários α -pineno (15,0 %) *o*-cimeno (10,8 %), e β -pineno (10,5 %) (VALLILO *et al.*, 2008). Outro estudo com OEs dos frutos de *C. xanthocarpa* indicou como compostos majoritários o limoneno (10,9 %) e β -cariofileno (21,8 %) (MARIN *et al.*, 2008).

TABELA 8: Atividades biológicas e compostos majoritários dos OEs de algumas espécies do gênero *Campomanesia*.

Espécies	Atividades biológicas/uso popular	Compostos majoritários	Referências
<i>C. adamantium</i>	Antioxidante, atividade antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Escherichia coli</i> .	OEs dos frutos: α -pineno Limoneno β -(z)- <i>o</i> -cimeno β -cariofileno Ledeno Globulol OEs das folhas: Geraniol Espatuleno OEs das flores: Ledol	ROCHA, 2011, VALLILO <i>et al.</i> , 2006 STEFANELLO <i>et al.</i> , 2008 COUTINHO, 2008
<i>C. aurea</i>	---	OEs das folhas: (Muitos monoterpenos) α -pineno Mirceno	LIMBERGER <i>et al.</i> , 2001
<i>C. guaviroba</i>	Antioxidante.	OEs das folhas: Mirtenal Mirtenol Trans-pinocarveol Óxido de allooromadendreno	PASCOAL <i>et al.</i> , 2011

		Óxido de cariofileno Espatulenol	
<i>C. guazumifolia</i>	---	OEs das folhas: (Muitos sesquiterpenos) Óxido de β -cariofileno Espatulenol	LIMBERGER <i>et al.</i> , 2001
<i>C. lineatifolia</i>	Atividade antimicrobiana contra <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	OEs das folhas e dos frutos: Ésteres, β -tricetonas, 1,8-cineol, α -pineno β -cariofileno	VALLILO <i>et al.</i> , 2008 OSORIO <i>et al.</i> , 2006
<i>C. phaea</i>	Antioxidante.	OEs das folhas: Linalol Óxido de cariofileno β -cariofileno β -selineno α -cadinol	ADATI, 2001
<i>C. pubescens</i>	Antioxidante, atividade antimicrobiana para <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>S. setúbal</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> e <i>Escherichia coli.</i> , infusão das folhas usada para aliviar dores musculares, no tratamento de diarreia e doenças na bexiga.	OEs das folhas: Limoneno α -pineno Sabineno Biciclogermacreno Linalol OEs dos frutos: Criptomeridiol Espatulenol Globulol α -cadinol β -cariofileno OEs das flores: Ledol, globulol α -cadinol Epi- α -muurolol	VALLILO <i>et al.</i> , 2008 ROCHA, 2011 SILVA <i>et al.</i> , 2009
<i>C. rhombea</i>	---	OEs das folhas: (Muitos sesquiterpenos) Biciclogermacreno Globulol Linalol	LIMBERGER <i>et al.</i> , 2001
<i>C. sessiliflora</i>	Uso popular no tratamento de diarreia e doenças na bexiga.	OEs das folhas: (E)-salveno (Z)- β -o-cimeno Mírtanal Viridifloreno α -tujopsan-2-ol OEs das folhas: Bicilogermacreno Espatulenol GermacrenoD OEs das flores: Ledol	CARDOSO <i>et al.</i> , 2010 CARDOSO, 2010a CARDOSO, 2010b

<i>C. xanthocarpa</i>	Depurativo, antidiarréico, antireumático, antioxidante, tratamento de úlceras, folhas com atividade antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella cholerasuis</i> , <i>Candida albicans</i> .	OEs das folhas: (Muitos sesquiterpenos) Linalol β -cariofileno Globulol Espatulenol Epi-globulol OEs dos frutos: Limoneno β -cariofileno OEs dos frutos: α -pineno <i>o</i> -cimeno β -pineno OEs das flores: Ledol Globulol	SANTOS <i>et al.</i> , 2009 ROCHA, 2011 VALLILO <i>et al.</i> , 2008 CARDOSO <i>et al.</i> , 2010 MARIN <i>et al.</i> , 2008 CARDOSO, 2010b
-----------------------	--	---	--

Comparando os resultados da composição química obtida com relatos da literatura para OE de folhas de *C. xanthocarpa* verificou-se a presença do monoterpeneo linalol, dos sesquiterpenos globulol e espatulenol, e ausência do β -cariofileno, compostos descritos como majoritários por outros autores para esta espécie, conforme Tabela 8.

No óleo obtido de *C. xanthocarpa* foi verificou-se a presença de acetato de geranila como principal composto volátil majoritário, porém não foram encontrados relatos na literatura da presença deste composto em espécies do gênero em OEs de folhas, flores ou frutos. O sesquiterpeno biciclogermacreno foi o terceiro composto majoritário identificado e embora não tenha relato de sua presença em estudos anteriores de *C. xanthocarpa*, é um composto comum em OEs de folhas de outras espécies do gênero como *C. pubescens* (SILVA *et al.*, 2009), *C. rhombea* (LIMBERGER *et al.*, 2001) e *C. sessiliflora* (CARDOSO, 2010b). O sesquiterpeno espatulenol, quarto composto majoritário identificado, está presente em muitos óleos do gênero *Campomanesia* analisados, além dos OEs de folhas de *C. xanthocarpa* está presente em *C. adamantium* (STEFANELLO *et al.*, 2008), *C. guaviroba* (PASCOAL *et al.*, 2011), *C. guazumifolia* (LIMBERGER *et al.*, 2001) e *C. sessiflora* (CARDOSO, 2010b). O monoterpeneo linalol embora presente entre os compostos identificados não foi um dos majoritários como em estudo da literatura para OEs de folhas de *C. xanthocarpa* (VALLILO *et al.*, 2008).

Comparando os resultados obtidos com estudos de OEs de frutos e de flores de *C. xanthocarpa*, os compostos encontrados não foram os mesmos, conforme descrito na Tabela 8, com exceção do globulol, relatado como um dos compostos majoritários das flores (CARDOSO, 2010b), e do limoneno, relatado como um dos compostos majoritários dos frutos (MARIN *et al.*, 2008). O limoneno é um composto muito comum em frutas cítricas e a

presença deste composto no óleo pode ser um dos responsáveis pelo aroma agradável que apresenta, assim como a presença do acetato de geranila.

Outra análise realizada foi verificar o perfil cromatográfico do hidrolato obtido da hidrodestilação das folhas de *C. xanthocarpa*, aplicando as mesmas condições cromatográficas do OE dessa espécie. Foi observado poucos compostos voláteis conforme mostrado na Figura 21, com uma ampliação na região dos picos para melhor visualização. Os compostos identificados no hidrolato de *C. xanthocarpa* foram linalol ($C_{10}H_{18}O$), α -terpineol ($C_{10}H_{18}O$), acetato de geranila ($C_{12}H_{20}O_2$), espatulenol ($C_{15}H_{24}O$), globulol ($C_{15}H_{26}O$) e viridiflorol ($C_{15}H_{26}O$) nos tempos de retenção 12,037 min, 15,169 min, 21,543 min, 27,573 min, 27,758 min, 27,793 min, respectivamente.

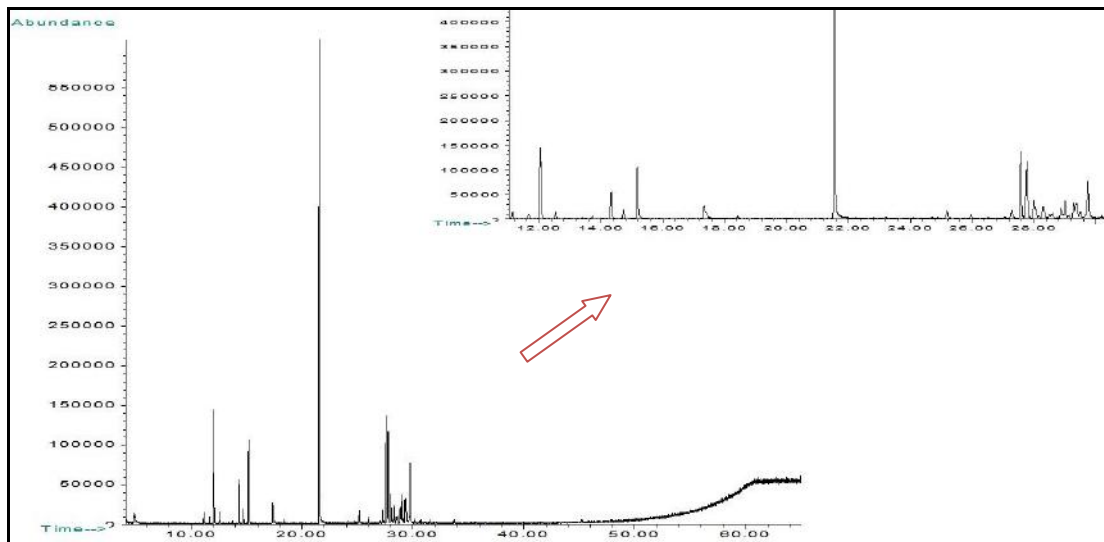


FIGURA 21: Cromatograma do hidrolato obtido da primeira extração da espécie *C. xanthocarpa*, por CG-EM, com área ampliada na parte superior.

5.3 PERFIL CROMATOGRÁFICO DA ESPÉCIE *Myrciaria delicatula*

O OE das folhas da espécie *M. delicatula* obtido apresentou coloração ligeiramente amarelada e um rendimento médio de 0,04 % (m/m). O cromatograma obtido por CG-DIC pode ser observado na Figura 22, a seguir.

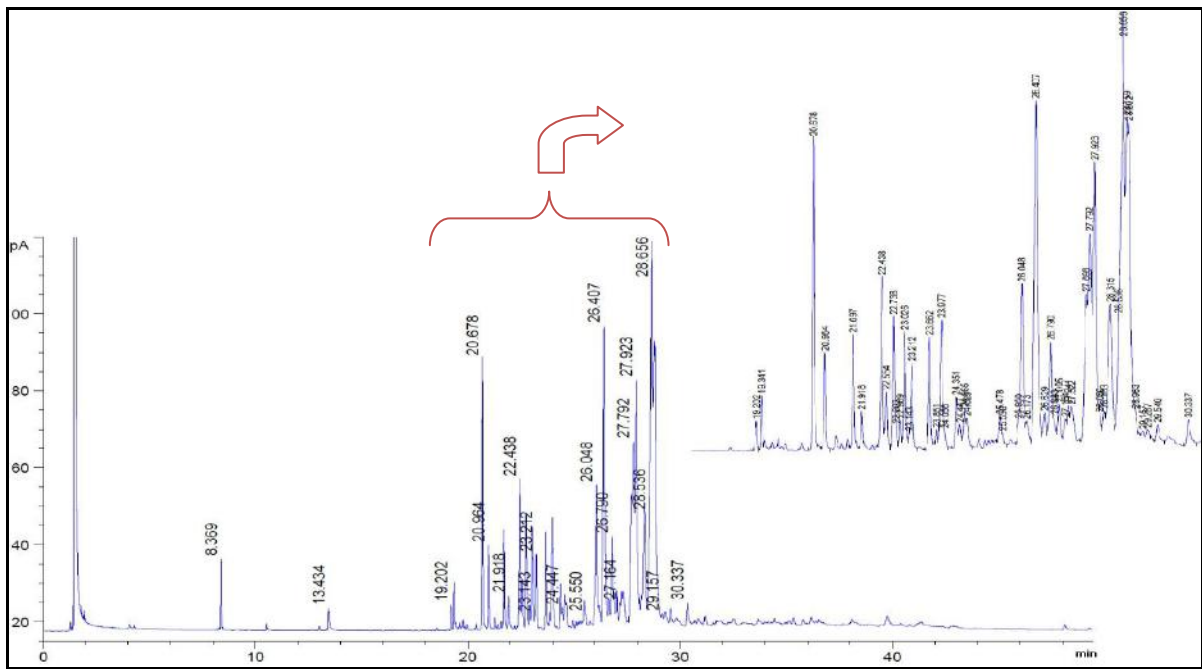


FIGURA 22: Cromatograma obtido da primeira extração da espécie *M. delicatula*, por CG-DIC, com área ampliada na parte superior.

Foram realizadas triplicatas de injeção da amostra de OE e o perfil cromatográfico obtido foi semelhante. As duas extrações de OEs realizadas foram de material vegetal referente apenas à coleta do mês de abril. No mês de março não foi possível coletar material vegetal dessa espécie na região do PARNASO.

Na Tabela 9 encontra-se a composição química obtida do OE das folhas de *M. delicatula*, onde 23 compostos foram listados considerando apenas os compostos com área relativa superior a 1 % pela técnica CG-DIC, correspondendo a 83,7 % dos compostos presentes no óleo, e 12 compostos foram identificados.

TABELA 9: Composição química da espécie *M. delicatula* considerando compostos com área relativa superior a 1 % (n.i.= não identificado).

Tempo de retenção (min) CG-EM	Tempo de retenção (min) CG-DIC	Área relativa (%) CG-DIC	Compostos	Fórmula Molecular	IRL Obtido CG-EM	IK Literatura (Adams/ NIST WebBook*, The Pherobase**)	Varição entre IRL e IK ($\Delta_{\text{máx.}} = \pm 10$) CG-EM
9,788	8,369	1,001	1,8-cineol (eucaliptol)	$C_{10}H_{18}O$	1031	1033	-2
22,884	20,678	4,183	β -cariofileno	$C_{15}H_{24}$	1420	1418	+2
23,145	20,964	1,307	n.i.	-	1428	-	-
23,920	21,697	1,555	α -humuleno	$C_{15}H_{24}$	1449	1454**	+5
24,613	22,438	2,855	n.i.	-	1469	-	-
24,937	22,738	1,927	Δ -selineno	$C_{15}H_{24}$	1478	1485**	-7
25,324	23,026	1,870	α -muuroleno	$C_{15}H_{24}$	1504	1499**	+5
25,521	23,212	1,374	n.i.	-	1511	-	-
25,774	23,662	1,708	n.i.	-	1519	-	-
26,030	23,977	2,487	Δ -cadineno	$C_{15}H_{24}$	1528	1524	+4
27,771	26,048	3,562	Óxido de	$C_{15}H_{24}O$	1587	1581	+6

			cariofileno				
28,107	26,407	8,626	Viridiflorol	C ₁₅ H ₂₆ O	1599	1590	+ 9
28,393	26,790	2,270	n.i.	-	1609	-	-
28,527	27,005	1,005	n.i.	-	1614	-	-
28,794	27,322	1,331	n.i.	-	1623	-	-
-	27,698	3,412	n.i.	-	-	-	-
29,092	27,792	5,654	n.i.	-	1634	-	-
29,258	27,923	6,719	T-cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	1640	1640	0
29,493	28,315	4,923	Torreiol	C ₁₅ H ₂₆ O	1649	1645	+4
-	28,536	2,363	n.i.	-	-	-	-
29,861	28,656	11,375	β-eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	1660	1654**	+6
29,931	28,759	6,082	α-eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	1662	1652	+10
-	28,802	6,097	n.i.	-	-	-	-

Os compostos majoritários identificados no óleo de *M. delicatula* foram β-eudesmol (11,4 %), viridiflorol (8,6 %), *t*-cadinol (6,7 %), Δ-selineno (6,7 %), α-eudesmol (6,1 %), torreiol (4,9 %), β-cariofileno (4,2 %), óxido de cariofileno (3,6 %) e Δ-cadineno (2,5 %) representados estruturalmente na Figura 23. Os compostos com os tempos de retenção 27,698min, 28,536 min e 28,802 min foram observados apenas na técnica CG-DIC e a identificação destes não foi possível. Outros compostos não foram identificados devido às discrepâncias nos valores de IRLs e/ou às discrepâncias dos espectros de massas.

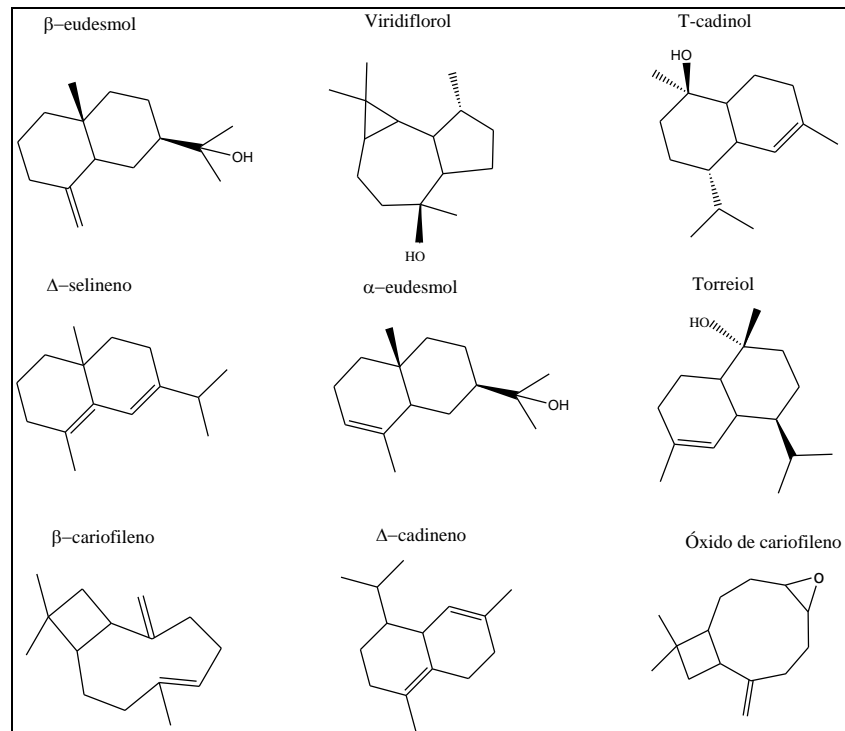


FIGURA 23: Estruturas químicas de alguns compostos majoritários no OE das folhas da espécie *M. delicatula*.

A maioria dos estudos com OEs da família Myrtaceae são caracterizados pela predominância de sesquiterpenos, e alguns OEs do gênero *Myrciaria* apresentam importantes propriedades biológicas (STEFANELLO, 2011), que são destacadas na Tabela 10.

TABELA 10: Atividades biológicas e compostos majoritários dos OEs de algumas espécies do gênero *Myrciaria*.

Espécies	Atividades biológicas/uso popular	Compostos majoritários	Referências
<i>M. cauliflora</i>	Tratamento de pele, asma, anti-diarréico. Extrato etanólico da folha com atividade antimicrobiana contra <i>Streptococcus</i> .	OEs das folhas: Germacreno D β -eudesmol α -eudesmol γ -eudesmol β -cariofileno Biciclogermacreno Elemol OEs dos frutos: γ -eudesmol α -eudesmol	DUARTE <i>et al.</i> , 2010 FORTES <i>et al.</i> , 2011
<i>M. dubia</i>	Antioxidante, possível potencial cardiovascular e tratamento de câncer.	OEs das folhas e dos frutos: α -pineno Limoneno β -cariofileno	PINO <i>et al.</i> , 2008 AKTER <i>et al.</i> , 2011 LIM, 2012
<i>M. floribunda</i>	Atividade antitumoral, antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	OEs das folhas: Limoneno 1,8-cineol OEs das flores: (Muitos monoterpenos) 1,8-cineol OEs dos caules: (Muitos sesquiterpenos) (2E,6E)- acetato de farnesila	TIETBOHL, <i>et al.</i> , 2012 RAMOS <i>et al.</i> , 2010 APEL <i>et al.</i> , 2006
<i>M. glazioviana</i>	Atividade antimicrobiana moderada contra <i>Escherichia coli</i> e <i>Bacillus cereus</i> .	OEs das folhas: Germacreno B Óxido de cariofileno Aromadendreno β -cariofileno	LOPES, 2008
<i>M. tenella</i>	Atividade antimicrobiana contra <i>Enterobacter sp.</i> e <i>Shigella flexneri</i> , anti-inflamatória.	OEs das folhas (Nordeste brasileiro): β -cariofileno Espatuleno OEs das folhas (Sudeste brasileiro): α -pineno β -pineno	ANDRADE, 2006 SCHNEIDER <i>et al.</i> , 2008 APEL <i>et al.</i> , 2010
<i>M. trunciflora</i>	---	OEs das folhas: Curcumeno Cis-calameneno α -humuleno	Apud DUARTE <i>et al.</i> , 2010

O óleo obtido de *M. delicatula* apresentou composição química rica em sesquiterpenos, assim como muitas espécies da família Myrtaceae. Não foram encontrados relatos na literatura para OEs de *M. delicatula*, mas comparando a composição química obtida com os OEs de espécies do gênero *Myrciaria* observou-se que alguns compostos identificados também são relatados nos OEs de folhas, flores e/ou frutos de algumas espécies.

O β -eudesmol foi o composto principal identificado no óleo obtido e também foi citado no OE de folhas de *M. cauliflora* (DUARTE *et al.*, 2010). O sesquiterpeno β -cariofileno é o composto mais relatado nos OEs de folhas de espécies *M. cauliflora* (DUARTE *et al.*, 2010), *M. tenella* (ANDRADE, 2006; APEL *et al.*, 2010), *M. glazioviana* (LOPES, 2008) e *M. dubia* (PINO *et al.*, 2008). O sesquiterpeno α -eudesmol também foi descrito nos OEs de folhas (DUARTE *et al.*, 2010) e frutos (FORTES *et al.*, 2011) de *M. cauliflora*, conforme verificado na Tabela 10.

Foi verificado também o perfil cromatográfico do hidrolato da hidrodestilação das folhas de *M. delicatula*, aplicando as mesmas condições cromatográficas do OE dessa espécie. Pela análise do cromatograma obtido (Figura 24) observou-se poucos compostos voláteis, assim como para os hidrolatos das outras duas espécies analisadas anteriormente. Os compostos identificados no hidrolato de *M. delicatula* foram 1,8-cineol ($C_{10}H_{18}O$), α -terpineol ($C_{10}H_{18}O$), β -eudesmol ($C_{15}H_{26}O$) e α -eudesmol ($C_{15}H_{26}O$) nos tempos de retenção 9,769 min, 15,164 min, 31,825 min, 31,871 min, respectivamente.

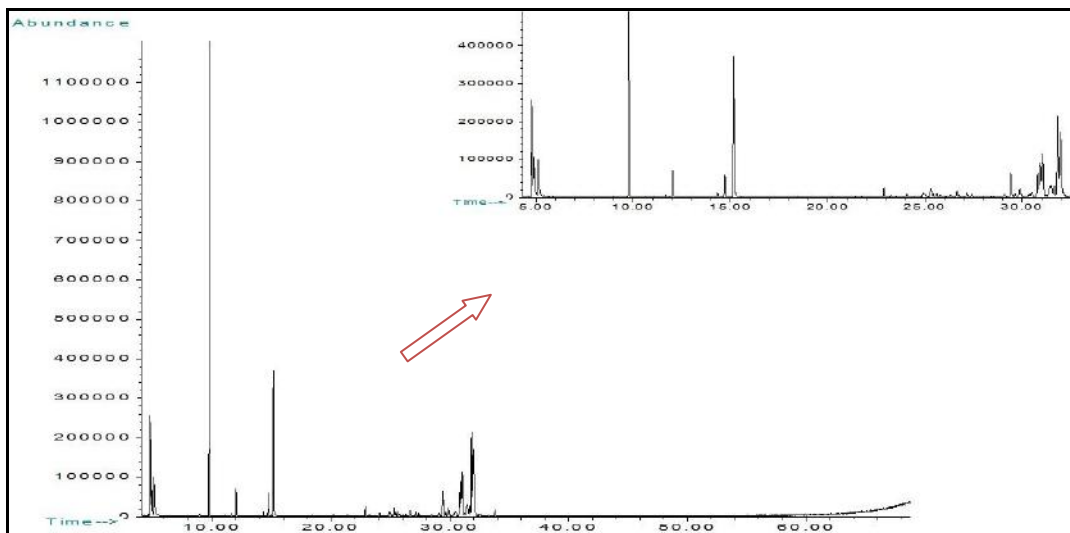


FIGURA 24: Cromatograma do hidrolato obtido da primeira extração da espécie *M. delicatula*, por CG-EM, com área ampliada na parte superior.

6 CONCLUSÃO

A hidrodestilação utilizando as condições empregadas apresentou facilidade na aplicação e foi eficiente para obtenção dos OEs e hidrolatos das espécies estudadas. O rendimento obtido para os óleos foram 0,01 % (m/m) para *A. olivaceum* e 0,04 % (m/m) para *C. xanthocarpa* e *M. delicatula*.

As técnicas CG-EM e CG-DIC foram importantes para identificação e obtenção das abundâncias relativas das áreas, respectivamente, de grande parte dos compostos dos OEs. Maiores investigações são necessárias para os compostos que não tiveram sua identidade confirmada.

Os estudos químicos dos OEs das espécies *A. olivaceum*, *C. xanthocarpa* e *M. delicatula* da região do PARNASO, Rio de Janeiro, são uma contribuição para o projeto I-FLORA/Faperj com o melhor conhecimento das plantas da região fluminense, visto que na literatura foram encontrados apenas relatos referentes à análise dos OEs relativos às folhas, flores e/ou frutos de diferentes regiões das espécies em questão ou de algumas espécies de seus respectivos gêneros.

Uma vez que não foram encontrados na literatura relatos sobre OEs das espécies *A. olivaceum* e *M. delicatula*, esse é um dado interessante para futuros estudos dessas espécies.

Em relação a espécie *C. xanthocarpa* verificou-se diferenças na composição química e abundância relativa do óleo obtido com relatos da literatura, indicando que o conteúdo de componentes voláteis nos OEs são dependentes da procedência da amostra vegetal e de vários fatores climáticos. Muito embora uma mesma espécie botânica apresente essas variações em relação a sua composição química, as rotas biossintéticas não se alteram, e o perfil de classes de compostos encontrados na espécie continua semelhante.

O perfil cromatográfico dos hidrolatos das três espécies estudadas foi pobre em compostos voláteis e comparando cada hidrolato com seus respectivos OEs apresentou alguns compostos majoritários comuns entre si.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

(ABIFRA, 2013) **Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Essenciais Produtos Aromáticos, Fragrâncias, Aromas e Afins**. Disponível em: <<http://www.abifra.org.br/wp/>>. Acesso em: 31/05/2013.

(ABIHPEC, 2013) **Associação Brasileira das Indústrias de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumaria**. Disponível em: <<http://www.abihpec.org.br/wp-content/uploads/2013/04/Panorama-do-setor-PORT-05Abr2013.pdf>>. Acesso em: 18/07/2013.

(ADAMS, 1995) ADAMS, R. **Identification of Essencial Oil Componentes by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. 469f. 1995.

(ADATI, 2001) ADATI, R. T. **Estudo biofarmagnóstico de *Campomanesia phaea* (O.Berg.) Landrum. Myrtaceae**. 2001. 128f. Dissertação (Mestrado em Farmacognosia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

(AKTER et al., 2011) AKTER, S.; SEJONG, O.; JONG-BANG, E.; AHMED, M. **Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review**. Food Research International, v.44, n.7, p. 1728-1732, 2011.

(ALMEIDA, 2007) ALMEIDA, M. R. **Pereirina: O primeiro alcalóide isolado no Brasil? Caracterização de alcalóides em extratos etanólicos de *Geissospermum vellossi* por CLAE e EM-IES**. 2007. 120f. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2007.

(ALVES, 2007) ALVES, N. M. **Estudo farmacognóstico e da toxicidade experimental (aguda e subaguda) do extrato etanólico da casca do guatambu (*Aspidosperma subincanum* Mart.)**. 2007. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

(AMORIM, 2007) AMORIM, A. C. L. **Pitangueira (*Eugenia uniflora* L.): fitoquímica e avaliação farmacológica do óleo essencial bruto e frações**. 2007. 216f. Dissertação (Doutorado em Química Orgânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2007.

(ANDRADE, 2006) ANDRADE, E. H. A.; SILVA, A. C. M.; ZOGHBI, M. G. B. **Constituents of the essential oil of *Myrciaria tenella* (DC.) O. Berg**. Journal of Essential Oil Research, v.18, n.1, p. 93-94, 2006.

(APEL *et al.*, 2010) APEL, M.A.; LIMA, M. E. L.; SOBRAL, M.; YOUNG, M. C. M.; CORDEIRO, I.; SCHAPOVAL, E. E. S.; HENRIQUES, A. T.; MORENO, P. R. H. **Anti-inflammatory activity of essential oil from leaves of *Myrciaria tenella* and *Calycorectes sellowianus***. Pharmaceutical Biology, London, v.48, n.4, p. 433-438, 2010.

(APEL *et al.*, 2006) APEL, M. A.; LIMA, M. E. L.; SOUZA, A.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; SOBRAL, M. E. G.; SUFFREDINI, I. B.; MORENO, P. R. H. **Screening of the biological activity from essential oils of native species from the Atlantic rain forest (São Paulo - Brazil)**. Pharmacology online, v.3, p. 376-383, 2006.

(ARAUJO, 2001) ARAUJO, A. J.; LORDELLO, A. L. L.; MAIA, B. H. L. N. S. **Análise comparativa dos óleos essenciais de folhas e galhos de Ocotea puberula (Lauraceae)**. Revista Visão Acadêmica, Curitiba, v. 2, n. 2, p. 81-84, 2001.

(BAKKALI *et al.*, 2008) BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IADOMAR, M. **Biological effects of essential oils – A review**. Food and Chemical Toxicology, v.46, p. 446–475, 2008.

(BELTRAME *et al.*, 2010) BELTRAME, J. M.; LOBO, V.S.; DOTTO, F.; MARQUES, K. B.; ANGNES, R.A. **Estudo de obtenção de óleos essenciais e fatores de influência em sua composição**. Anais do II ENDICT – Encontro de Divulgação Científica e Tecnológica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, p. 32-35, 2010.

(BIAVATTI *et al.*, 2004) BIAVATTI, M. W.; FARIAS, C.; CURTIUS, F.; BRASIL, L. M.; HORT, S.; SCHUSTER, L.; LEITE, S. N.; PRADO, S. R. **Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. F. Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters**. Journal of Ethnopharmacology, Shannon, v. 93, n. 2/3, p. 385-389, 2004.

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

(BRAGAGNOLO, 2003). BRAGAGNOLO, C.; PINTO-DA-ROCHA, R. PARNASO **Diversidade de opiliões do parque nacional da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro, Brasil (Arachnida: Opiliones)**. Biota Neotropica, Campinas, v.3, n.1, 2003.

(CARDOSO *et al.*, 2010) CARDOSO, C. A. L.; SALMAZZO, G. R.; HONDA, N. K.; PRATES, C. B.; VIEIRA, M. C.; COELHO, R. G. **Antimicrobial activity of the extracts and fractions of hexanic fruits of *Campomanesia* Species (Myrtaceae)**. Journal of Medicinal Food, v.13, p.1273-1276, 2010.

(CARDOSO, 2010a) CARDOSO, C. L.; KATAOKA, V. M. F.; RÉ-POPPI, N. **Leaf oil of *Campomanesia sessiliflora* O. Berg**. Journal of Essential Oil Research, v.22, n.4, 2010.

(CARDOSO, 2010b) CARDOSO, C. L.; KATAOKA, V. M. F.; RÉ-POPPI, N. **Identification of the volatile compounds of flowers of *Campomanesia sessiliflora* O. Berg and *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg**. Journal of Essential Oil Research, v.22, n.3, 2010.

(COLLINS, 2006) COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2006. 452p.

(CORAZZA, 2002) CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros**. Editora Senac São Paulo, 2002.

(CORNÉLIO *et al.*, 2005) CORNÉLIO, M. L.; LAGO, J. H. G.; MORENO, P. R. H.; APEL, M. A.; HENRIQUES, A. T. **Volatile oil composition of *Aspidosperma cylindrocarpon* Muell. Arg. leaves**. Journal of Essential Oil Research, v.17, n.3, p.310-311, 2005.

(CORNÉLIO *et al.*, 2004) CORNÉLIO, M. L.; LAGO, J. H. G.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T.; LIMBERGER, R. P. **Essential oil from *Aspidosperma polyneuron* Muell. Arg. leaves**. Journal of Essential Oil Research, v.16, n.3, p.246-247, 2004.

(CORTES, 2012) CORTES, J. M. **Desenvolvimento de espécies nativas do Cerrado a partir do plantio de mudas e da regeneração natural em uma área em processo de recuperação, Planaltina-DF**. 2012. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais). Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

(COUTINHO, 2008) COUTINHO, I. D.; RÉ-POPPI, N.; CARDOSO, C. L. **Identification of the Volatile Compounds of Leaves and Flowers in Guavira (*Campomanesia adamantium* O. Berg.)**. Journal of Essential Oil Research, v.20, n.5, p.405-407, 2008.

(DEGANI, 1998) DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. **Cromatografia: um breve ensaio**. Química Nova na Escola, n.7, 1998.

(DUARTE *et al.*, 2010) DUARTE, A. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHINB, J. C.; FERRI, P. H. **Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves**. Journal of the Brazilian Chemical Society, v.21, n.9, p.1672-1680, 2010.

(EDRIS, 2007) EDRIS, A. E. **Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review**. Phytotherapy Research, v. 21, n. 4, p. 308- 23, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17199238>>. Acesso em: 31/05/2013.

(EL-SAYED, 2012) EL-SAYED, A. M. **The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals**, 2012. Disponível em: <<http://www.pherobase.com/>>. Acesso em: 06/04/2013.

(ETS) **ETS Laboratories**. Disponível em: <<http://www.etslabs.com/>> Acesso em: 14/06/2013.

(ETTRE, 2003) ETTRE, L. S. **Retention Index Expressions**. Chromatographia, v.58, n.7/8, p.491-494, 2003.

(FLORA DO BRASIL, 2013) **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/ConsultaPublicaUC/ConsultaPublicaUC.do>>. Acesso em: 14/04/2013.

(FORTES *et al.*, 2011) FORTES, G. A. C.; NAVES, S. S.; GODOI, F. F. F.; DUARTE, A. R.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. **Assessment of a maturity index in jaboticaba fruit by the evaluation of phenolic compounds, essential oil components, sugar content and total acidity**. American Journal of Food Technology, v.6, n.11, p. 974-984, 2011.

(FRANZ, 2010) FRANZ, C. M. **Essential oil research: past, present and future**. Flavour Fragrance Journal, v. 25, p. 112-113, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/ffj.1983>>. Acesso em: 31/05/2013.

(GLOBAL SPECIES, 2013) Site Global Species. Disponível em: <<http://www.globalspecies.org/>>. Acesso em: 08/08/2012.

(GOMES, 2013) GOMES, F. **Estudo dos compostos voláteis do alecrim utilizando as técnicas de Microextração em fase sólida (SPME), hidrodestilação e extração com fluido supercrítico (SFE)**. 2013.68f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Curitiba, 2013.

(HOLM, 1999) HOLM, T. **Aspects of the mechanism of the flame ionization detector**. Journal of Chromatography A, v.842, n.1/2, p.221–227, 1999.

(ICMBio, 2013) **Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade**. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/parnaserradosorgaos/quem-somos/historia.html>>. Acesso em: 14/06/2013.

(I-FLORA) **Projeto I-FLORA**. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://www.i-flora.iq.ufrj.br/index.html>>. Acesso em: 14/06/2013.

(INMETRO) **Regulamento técnico MERCOSUL de aditivos, aromatizantes/saborizantes. (MERCOSUL/GMC/RES. N° 46/93)**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/PDF/GMC_RES_1993-046.pdf>. Acesso em: 05/01/2013.

(ISO, 2013) **International Organization for Standardization**. Disponível em: <<http://www.iso.org/iso/home.htm>>. Acesso em: 08/05/2013.

(JAKIEMIU, 2008) JAKIEMIU, E. A. R. **Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de toumilho (*Thymus vulgaris* L.)**. 2008. 90f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal do Paraná, Porto Alegre, 2008.

(KLAFKE *et al.*, 2008) KLAFKE, J. Z.; PANIGAS, T. F.; RICHTER, C. M.; DIPP, T.; BELLI, K. C.; BÜNDCHEN, D. C.; SILVA, M. A.; CORACINI, J. C. H.; BIANCHI, P.; VIECILLI, P. R. N. **The effect of *Campomanesia xanthocarpa* “Guabiroba” in Hypercholesterolemic subjects.** *Circulation*, v. 118, p. 382, 2008.

(KLINK, 2005) KLINK, C. A; MACHADO, R. B. **A conservação do Cerrado brasileiro.** *Revista Megadiversidade*, Brasília, Brasil, v.1, n.1, 2005.

(KOCH *et al.*, 2013) KOCH, I.; RAPINI, A.; KINOSHITA, L. S.; SIMÕES, A. O.; SPINA, A. P. 2013. ***Apocynaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB4528>>. Acesso em: 14/04/2013.

(KRENTKOWSKI, 2012) KRENTKOWSKI, F. L.; DUARTE, M. R. **Morpho-anatomical analysis of *Aspidosperma olivaceum* and *Aspidosperma polyneuron*, Apocynaceae.** *Revista Brasileira Farmacognosia*. Curitiba , v.22, n.5, 2012.

(LANÇAS, 2004) LANÇAS, F. M. **Extração em Fase Sólida (SPE).** 2004. 96f. São Carlos, editora RiMa. 2004.

(LIM, 2012) Lim, T. K. ***Myrciaria dubia*.** *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants*, v.3, p. 631-638, 2012.

(LIMA, 2011) LIMA, D. F.; GOLDENBERG, R.; SOBRAL, M. **O gênero *Campomanesia* (Myrtaceae) no estado do Paraná, Brasil.** *Revista do Jardim Botânico do Rio de Janeiro-Rodriguésia*, v.62, n.3, p.683-693. 2011

(LIMBERGER *et al.*, 2001) LIMBERGER, R. P.; APEL, M. A.; SOBRAL, M.; MORENO, P. R. H.; HENRIQUES, A. T.; MENUT, C. **Chemical composition of essential oils from some *Campomanesia* species (Myrtaceae).** *Journal of Essential Oil Research*, v.13, n.2, 2001.

(LOPES, 2008) LOPES, M. M. **Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (kiaersk) G. M. Barroso & Sobral (Myrtaceae).** 2008. 48f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

(MACHADO, 2011) MACHADO, B. F. M. T.; FERNANDES Jr, A. **Óleos essenciais: aspectos gerais e usos em terapias naturais.** *Cad. acad.*, Tubarao, v. 3, n. 2, p. 105-127, 2011.

(MACHADO, 2002). MACHADO, D. G. **Estudo comparativo da composição química e atividade biológica de amostras de própolis búlgara e brasileira através da cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas.** 2002. 118f.

Dissertação (Mestrado em Química Orgânica). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro. 2002.

(MARIN *et al.*, 2008) MARIN, R.; APEL, M. A.; LIMBERGER, R. P.; RASEIRA, M. C. B.; PEREIRA, J. F. M.; ZUANAZZI, J. A. S.; HENRIQUES, A. T. **Volatile components and antioxidant activity from some Myrtaceous fruits cultivated in southern Brazil**. Latin American Journal of Pharmacy, v.27, n.2, p.172-7, 2008.

(MARKMAN, 2004) MARKMAN, B. E. O.; BACCHI, E. M.; KATO, E. T. M. **Antiulcerogenic effects of *Campomanesia xanthocarpa***. Journal of Ethnopharmacology, Shannon, v. 94, n. 1, p. 55–57, 2004.

(MARTINS *et al.*, 2011) MARTINS, A. P.; NOGUEIRA, M. T.; COSTA, M. C.; SALGUEIRO, L. **Requisitos de qualidade em óleos essenciais: a importância das monografias da farmacopéia européia e das normas ISO**. Revista de Fitoterapia, v.11, n.2, p. 133-145, 2011.

(MAUL, 1996) MAUL, A. A.; WASICKY, R.; BACCHI, E. M. **Extração por fluido supercrítico**. Revista Brasileira de Farmacognosia. São Paulo, v.5, n.2, 1996. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X1996000200006>>. Acesso em: 07/06/2013.

(MORAIS, 2006) MORAIS, P. O.; LOMBARDI, J. A. **A Família Myrtaceae na Reserva Particular do Patrimônio Natural da Serra do Caraça**. Catas Altas, Minas Gerais, v.7, p. 3-32, 2006.

(NEVES, 2006) NEVES, J.M.; CUNHA, S. **Plantas Medicinais**. Revista da Faculdade de Ciências da Saúde. Porto, v.3, p. 50-57, 2006.

(NEVES, 2011) NEVES, J. S. **Aromaterapia: um tema para o ensino de química**. 2011. 28f. Dissertação (Licenciatura em Química), Universidade de Brasília, Brasília, 2011. Disponível em: <<http://bdm.bce.unb.br/handle/10483/1728>>. Acesso em: 31/05/2013.

(NISTWebBook, 2011) **Base de dados do livro de química do National Institute of Standards and Technology (NIST) na Web**. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry/>>. Acesso em: 06/04/2013.

(OLIVEIRA *et al.*, 2010) OLIVEIRA, A. J. B.; KOIKE, L.; REIS, F. A. M.; EUGUCHI, S. Y.; ENDO, E. H.; NAKAMURA, C. V.; DIAS FILHO, B. P. **Preliminary studies on the antibacterial activity of crude extracts and alkaloids from species of Aspidosperma**. Pharmaceutical Biology, v.47, n.11, p. 1085-1089, 2010.

(OSORIO *et al.*, 2006) OSORIO, C.; ALARCON, M.; MORENO, C.; BONILLA, A.; BARRIOS, J.; GARZON, C.; DUQUE, C. **Characterization of odor-active volatiles in champa (*Campomanesia lineatifolia*)**. Journal Agricultural and Food Chemistry, v.54, n.2, p.509-516, 2006.

(PASCOAL *et al.*, 2011) PASCOAL, A.; LOURENÇO, C. L.; SODEK, L.; TAMASHIRO, J. Y.; FRANCHI Jr., G. F.; NOWILL, A. E.; STEFANELLO, M. E. A.; SALVADOR, M. J. **Essential oil from the leaves of *Campomanesia guaviroba* (DC.) Kiaersk. (Myrtaceae): chemical composition, antioxidant and cytotoxic activity.** Journal of Essential Oil Research, v.23, n.5, p.34-37, 2011.

(PENTEADO, 2008) PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D. ; MASINI, J. C. **Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental.** Química Nova, v.31, n.8, p. 2190-2193, 2008.

(PEREIRA, 2004) PEREIRA, K. A. R.; OLIVEIRA, P. E. **Ecologia morfofuncional de plântulas de espécies arbóreas da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, Minas Gerais.** Revista Brasileira Botânica, v.27, n.2, p.313, 2004.

(PEREIRA *et al.*, 2007) PEREIRA, M. M.; JÁCOME, R. L. R.P.; ALCÂNTRA, A. F. C.; ALVEZ, R. B.; RASLAN, D. S. **Alcalóides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae).** Química Nova, v.30, n.4, p.970-983, 2007.

(PERES, 2004) PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário.** Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, p.1-10, 2004.

(PINI, 1995) PINI, G. F. **Estudo da classificação de óleos essenciais com uso combinado de cromatografia gasosa e métodos quimiométricos.** 1995. 62f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, São Paulo, 1995.

(PINO, 2008) PINO, J. A.; QUIJANO, C. E. C.; **Volatile constituents of camu-camu (*Myrciaria dubia*) leaves.** Journal of Essential Oil Research, v.20, n.3, p.205-207, 2008.

(POTZERNHEIM, 2006) POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; VIEIRA, R. F. **Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica).** Revista Brasileira de Farmacognosia, Rio de Janeiro, v.16, n.2, p. 246-251, 2006.

(RAMOS *et al.*, 2010) RAMOS, M. F. S.; MONTEIRO, S. S.; SILVA, V. P.; NAKAMURA, M. J.; SIANI, A. C. **Essential oils from Myrtaceae species of the Brazilian southeastern maritime forest (Restinga).** Journal of Essential Oil Research, v.22, n. 2, p. 109-113, 2010.

(ROCHA, 2011) ROCHA, E. O. **Avaliação dos constituintes fenólicos e voláteis, atividade antioxidante e antimicrobiana *Campomanesia pubescens* (DC.) O. Berg (Gabirola).** 2011. 81f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Química, Minas Gerais, 2011.

(ROSTELIE *et al.*, 2000) ROSTELIEN, T.; BORG, A. K.; FÄLDT, J.; JACOBSSON, U.; MUSTAPARTA, H. **The plant sesquiterpene germacrene D specifically activates a major type of antennal receptor neuron of the Tobacco Budworm Moth, *Heliothis virescens*.** Chemical Senses, v.25, p.141-148, Suécia, 2000.

(SALIBA, 2001) SALIBA, E. O. S.; RODRIGUEZ, N. M.; MORAIS, S. A. L.; PILO-VELOSO, D. **Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química.** Ciência Rural, Santa Maria, v.31, n.5, p.917-928, 2001.

(SANTOS *et al.*, 2006) SANTOS, A. S.; ANTUNES, A. M. S.; BIZZO, H. R.; D'AVILA, L. A.; **Análise técnica, econômica e de tendências da indústria brasileira de óleos essenciais.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v.8, n.14, 2006.

(SANTOS *et al.*, 2010) SANTOS, M. A.; BARBIERI, A. F.; CARVALHO, J.A.M.; MACHADO, C.J. **O Cerrado brasileiro: notas para estudo.** 15f. 2010. Universidade Federal de Minas Gerais, Cedeplar, Minas Gerais, 2010. Disponível em: <<http://web.cedeplar.ufmg.br/cedeplar/site/pesquisas/td/TD%20387.pdf>>. Acesso em: 11/05/2013.

(SANTOS *et al.*, 2009) SANTOS, M. S.; CARNEIRO, P. I. B.; WOSIACKI, G.; PETKOWICZ, C. L. O.; CARNEIRO, E. B. B. **Caracterização físico-química, extração e análise de pectinas de frutos de *Campomanesia Xanthocarpa* B. (Gabirola).** Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v.30, n.1, p.101-106, 2009.

(SANTOS *et al.*, 2013) SANTOS, M. S.; LIMA, J. J.; PETKOWICZ, C. L. O.; CANDIDO, L. M. B. **Chemical characterization and evaluation of the antioxidant potential of gabirola jam (*Campomanesia xanthocarpa* Berg).** Acta Scientiarum, Agronomy, v.35, n.1, p.73-82, 2013.

(SANTOS, 2004) SANTOS, R. I. **Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários.** In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2004.

(SCHNEIDER *et al.*, 2008) SCHNEIDER, N. F. Z.; MOURA, N. F.; COLPO, T.; MARINS, K.; MARANGONI, C.; FLACH, A. **Study of volatile compounds and antimicrobial activity of *Myrciaria tenella*.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.89, n.2, p. 131-132, 2008.

(SILVA *et al.*, 2004) SILVA, J. C. R.; BELVEDERE, P.; RUSSO, P.; CONTADORI, A. S.; LEITE, D. W.; LANÇAS, F. M. **Desenvolvimento de um mini detector de ionização em chama.** Revista Analytica, v.10, 2004.

(SILVA *et al.*, 2005) SILVA, L. V.; CONSTANCIO, S.C. M.; MENDES, M.F.; COELHO, G.L.V. **Extração do óleo essencial da Pimenta rosa (*Schinus molle*) usando**

hidrodestilação e soxhlet. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005. Disponível em: <<http://www.feq.unicamp.br/~cobeqic/top14.pdf>>. Acesso em: 14/06/2013.

(SILVA, 2009) SILVA, J. R. M.; CARDOSO, A. L.; RE-POPPI, N. **Essential oil composition of the leaves of *Campomanesia pubescens*.** Chemistry of Natural Compounds, v.45, n.4, p.565-567, 2009.

(SILVA, 2011) SILVA, R. O. **Avaliação da toxicidade, atividades antioxidante e antibacteriana e teores de fenóis e flavonóides de extratos das folhas de *Campomanesia xanthocarpa*.** 2011. 34f. Dissertação (Licenciatura em Química). Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2011.

(SIMÕES *et al.*, 1999) SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G; MELLO, J. P. C.; MENTZ, L. A.; PETROVIK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Rio Grande do Sul: editora da UFSC, 821f., 1999.

(SOBRAL *et al.*, 2013) SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F.; LUCAS, E. 2013. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB10335>>. Acesso em: 14/04/2013.

(SOUZA *et al.*, 2010) SOUZA, S. A. M.; MEIRA, M. R.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R. **Óleos essenciais: aspectos econômicos e sustentáveis.** Enciclopédia Biosfera, Goiânia, v.6, n.10, p.1, 2010. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2010b/oleos.pdf>>. Acesso em: 05/01/2013.

(STEFANELLO *et al.*, 2008) STEFANELLO, M. E. A.; CERVI, A. C.; WISNIEWSKI Jr, A.; SIMIONATTO, E. L. **Essential oil composition of *Campomanesia adamantium* O. Berg.** Journal of Essential Oil Research, v.20, p.424-425, 2008.

(STEFANELLO *et al.*, 2011) STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. **Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties.** Chemistry & Biodiversity, v.8, n.1, p.73-94, 2011.

(TIETBOHL *et al.*, 2012) TIETBOHL, L. A. C.; LIMA, B.A G.; FERNANDES, C. P.; SANTOS, M. G.; SILVA, F. E. B.; DENARDIN, E. L. G.; BACHINSKI, R.; ALVES, G. G.; SILVA-FILHO, M. V.; ROCHA, L. **Comparative study and anticholinesterasic evaluation of essential oils from leaves, stems and flowers of *Myrciaria floribunda* (H.West ex Willd.) O. Berg.** Latin American Journal of Pharmacy, v.31, n.4, p.637-641, 2012.

(TRADE NOSIS) **Importação e exportação de óleos essenciais e resinóides no Brasil.** Disponível em: <<http://trade.nosis.com/pt/Comex/Importacao-Exportacao/Brasil/Essential-oils-resinoids-perfumery-cosmetic-toilet-preparations/BR/33>>. Acesso em: 07/07/2013.

(ULLAND *et al.*, 2006) ULLAND, S.; IAN, E.; BORG, A. K.; MUSTAPARTA, H. **Discrimination between enantiomers of linalool by olfactory receptor neurons in the Cabbage Moth *Mamestra brassicae* (L.)**. *Chemical Senses*, Suécia, 31: 325-334, 2006.

(ULLAND *et al.*, 2008a) ULLAND, S.; IAN, E.; BORG, A. K.; MUSTAPARTA, H. **Plant volatiles activating specific olfactory receptor neurons of the Cabbage Moth *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera, Noctuidae)**. *Chemical Senses*, Suécia, v.33, p.509-522, 2008.

(ULLAND *et al.*, 2008b) ULLAND, S.; IAN, E.; MOZURAITIS, R.; BORG, A. K.; MEADOW, R.; MUSTAPARTA, H. **Methyl salicylate, identified as primary odorant of a specific receptor neuron type, inhibits oviposition by the moth *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera, Noctuidae)**. *Chemical Senses*, Suécia, v.33, p. 35-46, 2008.

(VALLILO *et al.*, 2008) VALLILO, M. I.; HRITHOWITSCH, P. R. M.; OLIVEIRA, E.; LAMARDO, L. C. A.; GARBELOTTI, M. L. **Composição química dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* Berg-Myrtaceae**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.28, p. 231-237, 2008.

(VALLILO *et al.*, 2006) VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. **Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambesséde) O. Berg**. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, n.4, p.725-955, 2006.

(VERNIN, 1998) VERNIN, G.; LAGEOT, C.; PÁRKÁNYI, C. Elsevier Science B.V. **GC-MS(EI, PCI, NCI, SIM, ITMS) Data Bank Analysis of Flavors and Fragrances. Kovats índices**. *Instrumental Methods in Food and Beverage Analysis*, p.245-301, 1998.

(VIEGAS, 2007) VIEGAS, M. C.; BASSOLI, D. G. **Utilização do índice de retenção linear para caracterização de compostos voláteis**. *Química Nova*, v.30, n.8, p.2031-2034, 2007.

(VITTI, 2003) VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. **Óleo essencial de Eucalipto**. *Documentos Florestais*, Nº 17, Agosto de 2003, São Paulo. Disponível em: <<http://www.ipef.br/publicacoes/docflorestais/df17.pdf>>. Acesso em: 31/05/2013.

(VUNDA, 2011) VUNDA, S. L. L. **Estudo químico e biológico de espécies de Croton (Euphorbiaceae) nativas do Rio Grande do Sul**. 2011. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

(WALTER, 2006) WALTER, B. M. T. **Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas**. 2006. 373f. Dissertação (Doutorado em Ecologia). Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Brasília, 2006.