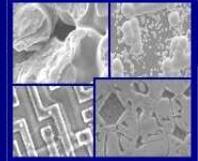




PUCRS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia
Faculdade de Física
Faculdade de Química



PGETEMA

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS POR DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR EM ESCALA LABORATORIAL E INDUSTRIAL

ANDRÉIA HOELTZ STEFFENS
LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM
ENGENHARIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Porto Alegre

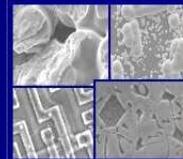
Março, 2010



PUCRS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia
Faculdade de Física
Faculdade de Química



PGETEMA

ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS POR DESTILAÇÃO POR ARRASTE A VAPOR EM ESCALA LABORATORIAL E INDUSTRIAL

ANDRÉIA HOELTZ STEFFENS
LICENCIATURA PLENA EM QUÍMICA

ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO CASSEL

Dissertação realizada no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais (PGETEMA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

**Porto Alegre
Março, 2010**

*O conhecimento torna a alma
jovem e diminui a amargura da
velhice. Colhe, pois, a sabedoria.
Armazena suavidade para o
amanhã.*

Leonardo da Vinci

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus exemplares pais, Pedro e Tânia Steffens, ao meu amado irmão, Fabrício Hoeltz Steffens e à minha dedicada avó, Eunice Lilian Hoeltz.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter iluminado meu caminho ao longo desta jornada.

Aos meus pais, meu irmão e minha avó, pelo carinho, apoio e confiança a mim dedicados. Ao meu noivo, Rafael Formoso Ribeiro, pelo incentivo.

À minha grande amiga “irmã” Danna Rodrigues Moreira, que em todos os momentos esteve presente ao meu lado, sempre me auxiliando, sem medir esforços. Ao meu amigo Fernando Cidade Torres. Às minhas amigas Fabiana de Araújo Ribeiro e Marta Macalós, que me proporcionaram alegrias e me acolheram nos momentos difíceis.

Um agradecimento especial aos professores Eduardo Cassel, por ter me aberto às portas do LOPE e pela credibilidade a mim confiada; Eleani Maria da Costa pela oportunidade; Rubem Mario Figueiró Vargas pelo auxílio na elaboração deste trabalho. Sem eles nada seria possível.

Agradeço, por último, a CAPES, por ter financiado meu estudo de Pós-Graduação.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	4
AGRADECIMENTOS	5
SUMÁRIO	6
LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS	12
2 OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo Geral	16
2.2. Objetivos Específicos	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. Plantas Aromáticas.....	18
3.2. Óleos Essenciais	20
3.2.1. Composição Química dos Óleos Essenciais	23
3.2.1.1. Fenilpropanóides	23
3.2.1.2. Terpenóides	23
3.3. Capim Citronela (<i>Cymbopogon winterianus J.</i>)	24
3.4. Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis L.</i>)	26
3.5. Destilações por Arraste a Vapor	30
3.6. Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC/MS)	32
3.6.1. Cromatografia Gasosa (GC)	33
3.6.2. Espectrômetro de Massa (MS)	35
3.7. Análise dos Componentes Principais (PCA)	37
4. MATERIAIS E MÉTODOS	39
4.1. Destilação por Arraste a Vapor – Escala Laboratorial	39
4.2. Destilação por Arraste a Vapor – Escala Industrial	40
4.3. Análises Cromatográficas	44
4.4. Análise dos Componentes Principais (PCA)	45

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	46
5.1. Extração por arraste a vapor em escala laboratorial	46
5.2. Extração por arraste a vapor em escala industrial	48
5.2.1. Capim Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>)	48
5.2.2. Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	52
5.2.3. Análise dos Principais Componentes (PCA)	56
6. CONCLUSÕES	61
7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS.....	62
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Planta aromática Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>)	25
Figura 3.2. Planta aromática Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	29
Figura 3.3. Planta aromática Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.).....	30
Figura 3.4. Equipamento GC/MS (Marca Agilent Technologies)	37
Figura 4.1. Unidade Laboratorial de Destilação por Arraste a Vapor	40
Figura 4.2. Fluxograma do Processo Industrial	41
Figura 4.3. Gerador de vapor da unidade industrial – caldeira	42
Figura 4.4. Vasos de extração da unidade industrial	42
Figura 4.5. Condensador de serpentina da unidade industrial	43
Figura 4.6. Vaso separador da unidade industrial - vaso florentino	43
Figura 5.1. Curva de Extração do Óleo Essencial de Citronela: Rendimento x Tempo.....	50
Figura 5.2. Curva de Extração do Óleo Essencial de Alecrim: Rendimento x Tempo.....	54
Figura 5.3 Gráfico resultante do PCA para as análises cromatográficas do óleo essencial de citronela	57
Figura 5.4. Dendograma obtido através do PCA de compostos químicos presentes no óleo essencial de citronela	58
Figura 5.5. Gráfico resultante do PCA para as análises cromatográficas do óleo essencial de alecrim	59
Figura 5.6. Dendograma obtido através do PCA de compostos químicos presentes no óleo essencial de alecrim	60

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1. Média dos Resultados Obtidos pela Análise no GC/MS para o Óleo de Citronela	47
Tabela 5.2. Média dos Resultados Obtidos pela Análise no GC/MS para o Óleo de Alecrim	47
Tabela 5.3 – Dados experimentais de volume versus tempo da extração do óleo essencial de citronela	48
Tabela 5.4. Análise Cromatográfica por GC/MS do Óleo Essencial de Citronela obtido em Escala Industrial	51
Tabela 5.5. Dados experimentais de volume versus tempo da extração do óleo essencial de alecrim.	52
Tabela 5.6. Análise Cromatográfica por GC/MS do Óleo Essencial de Alecrim obtido em Escala Industrial	56

RESUMO

STEFFENS, Andréia Hoeltz. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial.** Porto Alegre. 2010. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

A produção de óleos essenciais tem aumentado a cada ano devido, principalmente, ao crescente consumo destes em atividades tradicionais como na indústria alimentícia e cosmética, e às novas aplicações organolépticas e biológicas que estão surgindo. Associado a este fato, o investimento no desenvolvimento tecnológico do setor através da definição de sistemas de produção da matéria-prima, do desenvolvimento dos processos extrativos, bem como a garantia de um controle de qualidade eficiente, é um incentivo para a pesquisa nesta área. Um gargalo na produção de óleos essenciais é a carência tecnológica dos processos extrativos, justificando assim o objetivo deste estudo em direcionar seus esforços para avaliar o processo produtivo. Este trabalho baseia-se na obtenção dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus* J.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em escala laboratorial e industrial, via destilação por arraste a vapor, e estuda o efeito da variável tempo na composição química dos mesmos. A técnica analítica empregada é a cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massa (GC/MS) e os resultados obtidos são interpretados pelo o método *Principal Components Analysis* (PCA), onde fica comprovada estatisticamente a significativa variação da composição dos óleos essenciais de citronela e alecrim com o tempo de extração, tanto em escala industrial como em escala laboratorial.

Palavras-chave: óleos essenciais, citronela, alecrim, extração por arraste a vapor, PCA, GC/MS.

ABSTRACT

STEFFENS, Andréia Hoeltz. **Study of the chemical composition of essential oils obtained by steam distillation in a laboratorial and industrial scale.** Porto Alegre. 2010. Masters. Pos-Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The production of essential oils has continuously been growing due to their increasing use in common activities such as food and cosmetic industry and most recently to new organoleptic and biologic used associated to it is the investment in the technological development of the area through the definition of production systems of the raw material, development of the extraction process as well as the guaranty of efficient quality control, which encourage research in the area. The lack of technology for extraction process is a limitation in the production of essential oils, thus justifying the objective of this study, which is to concentrate its efforts to evaluate the production process. This essay focuses on the extraction of essential oils of citronella (*Cymbopogon winterianus* J.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in large and small scale by steam distillation. It analyses the effect of the time variable in their chemical composition. Gas chromatography mass spectroscopy (GC/MS) is used for analysing them and then results are interpreted by Principal Components Analysis (PCA). It's statistically proved the meaningful variation of the composition of essential oils of citronella and rosemary and the time of extraction, both in laboratorial and industrial scale.

Key-words: Essential oils, Citronella, Rosemary, Steam Distillation, PCA, GC/MS.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS

Os óleos essenciais apresentam grande importância econômica para diversos ramos da indústria mundial. Estes são utilizados como matéria-prima principalmente na produção de alimentos e bebidas, como aromatizantes, e com crescente utilização na área farmacêutica, principalmente na produção de cosméticos, devido às suas propriedades medicinais comprovadas cientificamente, assim como conhecidas pela medicina popular.

Devido ao uso destes compostos aromáticos, pesquisas incentivando o desenvolvimento de novos produtos, baseados nestas matérias-primas, estão sendo cada vez mais difundidas no meio científico, comprovando suas propriedades como moléculas biologicamente ativas. A partir disso, nota-se a necessidade: do aumento da demanda das plantas aromáticas produtoras de óleos essenciais; da garantia de qualidade desses produtos; de maior disponibilidade comercial dos óleos essenciais e, conseqüentemente, uma sistematização da produção em larga escala, observando que a maioria das pesquisas sobre óleos essenciais ainda são realizadas com óleos obtidos em laboratório.

A indústria de óleos essenciais no Brasil, apesar da forte demanda, ainda está em processo de desenvolvimento. Várias tentativas de uma melhor organização das destilarias de óleos essenciais, através da criação de cooperativas e redes de cooperação entre universidades e produtores, estão sendo implementadas. Estes projetos têm como objetivo fornecer maior visibilidade à cadeia produtora de óleos essenciais e tornar o processo de comercialização mais rápido, mais eficiente energeticamente e com um maior controle de qualidade.

Os fatores citados anteriormente se tornam ainda mais severos quando se trata de um país com as dimensões do território brasileiro. Além das diversidades

econômicas e culturais que o país apresenta, criar sistemas para produção de óleos essenciais que sejam realmente eficientes torna-se um pouco mais complicado, visto que a garantia de controle de qualidade desses produtos deve ser realizada de acordo com a região na qual este produtor está inserido, pois a dimensão territorial faz com que a diversidade de clima e solo seja caracteristicamente diferente de um local para outro.

Atualmente, existem diversos trabalhos analisando e comparando as composições químicas dos óleos essenciais obtidos das mais diversas fontes vegetais. Estes trabalhos, geralmente, são baseados nas pesquisas em nível laboratorial, ficando explícita a escassez de estudos na área industrial ou em escala piloto. Observa-se também que a diversidade das espécies de plantas aromáticas e o desenvolvimento de novos métodos para obtenção dos óleos produzem uma série de obstáculos para esta sistematização.

No presente trabalho, será realizado um estudo sobre a influência do tempo de extração na composição química dos óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus* J.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), associado a um tratamento estatístico dos resultados relacionando as variações na composição dos óleos essenciais em função do tempo de extração, tanto para a escala piloto como para a escala industrial.

Os óleos essenciais foram obtidos pela técnica de extração por arraste a vapor, um dos métodos mais utilizados pela indústria essencieira, cuja matéria-prima foi às partes aéreas das plantas aromáticas.

A identificação e a quantificação dos componentes minoritários e majoritários presentes nas diferentes frações dos óleos essenciais de citronela e alecrim foram realizadas através da análise de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (GC/MS; do inglês, *Gas Chromatography with Mass Spectrometer*).

O tratamento de um grande número de dados tem exigido o uso de ferramentas matemáticas que permitam interpretações mais consistentes. O método de análise dos componentes principais PCA (*Principal Components Analysis*) tem

sido apontado na literatura como uma ferramenta que permite identificar correlações significativas a partir de combinações lineares de variáveis independentes, gerando um novo sistema com variações significativas. É uma maneira de identificar padrões em dados e, expressar os dados de modo a evidenciar suas semelhanças e diferenças (Smith, 2002).

A análise de componentes principais é uma técnica estatística poderosa que pode ser utilizada para a redução do número de variáveis e para fornecer uma visão estatisticamente privilegiada do conjunto de dados. A análise de componentes principais fornece as ferramentas adequadas para identificar as variáveis mais importantes no espaço dos componentes principais.

Os fundamentos da análise dos componentes principais necessitam da descrição de operações matemáticas e estatísticas, a partir das necessidades de interpretação adequada de uma matriz de dados.

A técnica consiste em reescrever as variáveis originais em novas variáveis, denominadas componentes principais, através de uma transformação de coordenadas. A transformação de coordenadas é um processo trivial quando feito usando matrizes. A transformação matemática das coordenadas pode ser feita de diversas maneiras, conforme o interesse. Para a transformação das variáveis originais em componentes principais são necessárias algumas especificidades. E estes são as novas variáveis geradas através de uma transformação matemática especial realizada sobre as variáveis originais. Esta operação matemática está disponível em diversos softwares estatísticos especializados. Cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais (Prado et al., 2002).

As variáveis originais têm a mesma importância estatística, enquanto que os componentes principais têm importância estatística decrescente. Ou seja, os primeiros componentes principais são tão mais importantes que se pode até desprezar as demais (Neto, 2004).

A outra vantagem do PCA é que, depois de encontrado os padrões nos dados, será possível comprimir esses dados, isto é, reduzindo-se assim, o número de dimensões, sem muita perda de informação. Esta técnica utiliza a compressão de imagem (Neto, 2010).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O presente trabalho tem como objetivo identificar e quantificar os componentes dos óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas como citronela (*Cymbopogon winterianus* J.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), para diferentes tempos em um processo de extração por arraste a vapor, através de análises com cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (GC/MS) e avaliar estatisticamente, através da Análise de Componentes Principais (PCA), as variações na composição dos óleos essencial ao longo do processo de extração em escala laboratorial e industrial.

2.2. Objetivos Específicos

Como objetivos específicos podem-se, elencar os seguintes:

- avaliação de estudos que levem em consideração a variação da composição química dos óleos essenciais com os tempos de extração;
- realização de experimentos de extração de óleos essenciais por arraste a vapor em unidades de laboratório e industrial;
- análise de identificação e quantificação das composições químicas dos óleos essenciais de citronela e alecrim, para amostras obtidas em diferentes tempos de extração por GC/MS;

- análise estatística dos resultados, empregando a técnica do PCA, para os óleos essenciais das duas plantas aromáticas previamente citadas;

- avaliação do efeito da variável tempo na composição química dos óleos essenciais, visando analisar a viabilidade de eliminar uma operação unitária de fracionamento pós-extração, através de um fracionamento prévio durante o processo extrativo.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Plantas Aromáticas

Desde as duas últimas décadas do século XX, o mundo reclama cada vez mais por produtos naturais, tanto para uso alimentício como para produtos medicinais, cosméticos e de perfumaria. O cultivo de plantas aromáticas fornece matéria-prima para tais produtos, justificando o crescente interesse pelo desenvolvimento do conhecimento nesta área.

O universo das plantas aromáticas é muito maior quando se considera sua origem biológica e seu significado comercial. A variabilidade genética das plantas é uma de suas valiosas virtudes, ao aportar uma quase infinita riqueza de possibilidades. A esta variabilidade devem somar-se fatores ecológicos, culturais, metodológicos, agrícolas e industriais, concernentes a qualquer intenção de querer estimar em um número a quantidade de plantas aromáticas.

As plantas são fontes importantes de produtos naturais biologicamente ativos, sendo que muitos dos quais se constituem em modelos para síntese de um grande número de fármacos. Alguns dos constituintes isolados de folhas, raízes, flores e frutos (flavonóides, taninos, alcalóides, cumarinas e terpenos) são os principais responsáveis pelas ações analgésicas, antiinflamatórias, antivirais, hipoglicemiantes, antiespasmódicas e antialérgicas das plantas (Nodari e Guerra, 2000).

Plantas aromáticas são definidas como aquelas que podem gerar, por algum processo físico-químico, um produto aromático. Entenda-se por produtos aromáticos os que têm odor ou um sabor determinado, sem avaliar sua qualidade comercial ou estética (Bandoni, 2008). Ainda, as plantas têm sido importante fonte de substâncias químicas com diferentes estruturas e com diversas atividades biológicas contra

insetos, porém o seu uso direto ou de seus extratos brutos se limita a aplicações domésticas (Vieira, 2000).

Existem inumeráveis espécies vegetais com propriedades aromáticas, desde plantas superiores até algas ou líquens (Kajiwara, 1993; Rodriguez Avalos e Rodriguez Espejo, 1991). Segundo autores, o número aproximado de plantas com óleos essenciais é de 3000, das quais se comercializam somente em torno de 250. Lawrence (1995) cita um número muito superior: 17500. Arctander (1960) cita ao redor de 400 produtos naturais aromáticos usados na fabricação de fragrâncias e sabores. Fenaroli (1963) estima em torno de uns 200 produtos. Atualmente, esses valores são muito superiores.

Estima-se que aproximadamente 65% do mercado de óleos essenciais provêm de espécies cultivadas, 1% de espécies silvestres e 33% de árvores, na maioria explorações florestais (pinhos, cedros, ylang-ylang, eucaliptos, pau-rosa). Tais valores se apresentam significativos, demonstrando a imperiosa necessidade de a indústria dispor de produtos em quantidade e qualidade homogênea, algo muito difícil de obter-se através de exploração de material silvestre. Em alguns casos, os custos de produção, a disponibilidade de matérias-primas ou simplesmente a ausência de um desenvolvimento industrial ou tecnológico adequado fazem com que a exploração de materiais silvestres seja uma alternativa possível (Bandoni, 2008).

De acordo com a base de dados americana CONTRADE (*United Nations Commodity Trade Statistics Database*), os maiores consumidores de óleos essenciais no mundo são os EUA (40%), a União Européia - UE 15 milhões/ano, apresentando crescimento aproximado de 11% por ano.

O Brasil aparece entre os principais países fornecedores dos óleos essenciais de laranja, limão, lima e outros cítricos, contribuindo com 5% do total de óleos importados e encontra-se entre os grandes exportadores internacionais. Têm lugar de destaque na produção de óleos essenciais, ao lado da Índia, China e Indonésia, que são considerados os quatro grandes produtores mundiais.

No cômputo geral dos principais países fornecedores de óleos essenciais para a União Européia ano 2004, a distribuição foi: EUA (19%), França (10%), China (6%), Brasil (5%) e Reino Unido (5%).

As exportações de óleos essenciais brasileiros representaram 2% do total importado pelos EUA. Verificou-se um crescimento suave nas exportações brasileiras, diferentemente da Índia e da Argentina, que apresentaram aumento significativo no período.

O Brasil destaca-se na produção mundial de óleo essencial, mas sofre de problemas crônicos como falta de manutenção do padrão de qualidade dos óleos, representatividade nacional e baixos investimentos governamentais no setor, que levam ao quadro estacionário (Bizzo, 2009).

3.2. Óleos Essenciais

Os óleos essenciais podem ser definidos como material volátil presente em plantas e, geralmente, de odor e fragrância característica. São misturas complexas de terpenos, terpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados. Também podem conter pequenas quantidades de diterpenos e outros componentes em função da planta aromática (Serafini et al., 2001). Além disso, eventualmente pode-se encontrar fenilpropanóides, acrescidos de moléculas menores, como alcoóis, aldeídos, cetonas de cadeias curtas e o perfil terpênico, podendo apresentar substâncias constituídas de moléculas de dez e de quinze carbonos (Siani, 2000).

Os constituintes químicos encontrados no reino vegetal são sintetizados e degradados por inúmeras reações anabólicas e catabólicas, que compõem o metabolismo das plantas. A síntese de compostos essenciais para a sobrevivência das espécies vegetais tais como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e seus polímeros derivados, faz parte do metabolismo primário das plantas. Por outro lado, os compostos sintetizados por outras vias e que aparentam não ter grande utilidade na sobrevivência das espécies fazem parte do metabolismo secundário, porém estes garantem vantagens para sua sobrevivência e perpetuação de sua espécie em seu ecossistema (Simões et al., 1999). Nas células, certos

mecanismos bioquímicos garantem a condução dos compostos aos compartimentos de estocagem apropriados: os metabólitos mais hidrofílicos tendem a ser armazenados nos vacúolos; os lipofílicos acumulam-se em dutos de células mortas ou ligam-se aos componentes celulares lipofílicos, como membranas, ceras cuticulares e lignina (Santos, 2000).

Os óleos essenciais são encontrados nos órgãos das plantas, nos aparelhos secretores e estão associados a várias funções relacionadas à sobrevivência do vegetal em seu ecossistema, tendo então um papel fundamental na sua defesa contra os microorganismos e predadores, assim como na atração de insetos e outros agentes fecundantes. As bolsas secretoras encontram-se, com frequência, nas folhas, no limbo, nas raízes e caules, na casca, medula e líber, ainda no pericarpo. Os canais se dispõem ao longo do eixo, no córtex, periciclo, medula, lenho, raiz e caule. A forma e a localização dos aparelhos secretores constituem caracteres próprios de determinados grupos naturais de plantas (Huet, 1991). A volatilidade e a insolubilidade dos óleos essenciais em água e a solubilidade em solventes orgânicos permitem caracterizá-los e promover o seu isolamento. Apresentam-se sob a forma de líquidos oleosos, de aroma agradável e intenso, mas existem também os de aroma desagradáveis e ainda inodoros (Costa, 1994).

As substâncias odoríferas em plantas atuam como inibidores da germinação, na proteção contra predadores, na atração de polinizadores, na proteção contra perda de água e aumento de temperatura (Bruneton, 1991; Simões e Spitzer, 2000).

O composto químico d-limoneno, obtido nos óleos essenciais cítricos, possui atividade anticancerígena (age induzindo a morte natural das células cancerosas e/ou inibindo o seu crescimento celular), herbicida, inseticida e, ainda apresenta diversas aplicações, tais como: solvente industrial, matéria-prima na fabricação de outros compostos químicos, solvente de resinas e borrachas, na produção de pigmentos e tintas, na fabricação de adesivos. Além disso, ele é usado pela indústria farmacêutica e alimentícia como componente aromático e para dar sabor, sendo usado, por exemplo, na obtenção de sabores artificiais de menta e hortelã, na fabricação de doces, balas e gomas de mascar (Abecitrus, 2008).

Propriedades inseticidas têm sido reconhecidas no óleo de muitas frutas cítricas, em anos recentes. Muitos produtos contendo d-limoneno, linalol ou extratos de óleo cru de cítricos têm tomado seu lugar no mercado mundial. Dois destes compostos, d-limoneno e linalol, são amplamente utilizados como aditivos em alimentos. Estes produtos são também utilizados em xampus para controle de moscas em cães e gatos (Hooser, 1990).

Na indústria de vitaminas, o linalol é um importante intermediário na produção de vitamina E e constitui, como o geranial, ponto de partida para a produção de vitamina A (Bauer e Garbe, 1985). O linalol pode ser sintetizado por diferentes rotas químicas, a partir do α -pineno ou do isopreno (2-metil-buta-1,3-dieno). A molécula de isopreno é a base estrutural dos óleos essenciais.

O conteúdo do óleo essencial nas plantas aromáticas pode variar consideravelmente de espécie para espécie, parâmetros climáticos e fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, colheita e especialmente a fase de desenvolvimento da planta na data da colheita. Muitas plantas existem diferindo na sua aparência e diversidade, tanto qualitativa como quantitativa, e isto geralmente manifesta-se em diferentes composições químicas do óleo essencial obtido (Kerrola et al., 1994). Geralmente a concentração de óleo presente em espécies vegetais é muito baixa, normalmente inferior a 1%; porcentagens mais elevadas são encontradas, por exemplo, em botões florais de cravos, os quais contêm 15% de óleo essencial (Bruneton, 1991).

O aroma é usualmente resultado de complexas interações que ocorrem entre os diversos componentes presentes nos vegetais, sendo difícil a correta reprodução, em um extrato, da fragrância natural. A presença de componentes termolábeis e a possibilidade de hidrólise e de hidrossolubilização são os principais problemas na reprodução de fragrâncias naturais.

Entre os fatores que influenciam a qualidade da produção dos óleos essenciais estão os genéticos, os ambientais (temperatura, luz, solo, latitude, altitude) e os fatores técnicos (época e forma de colheita, espaçamento, transporte, secagem, armazenamento) (Borsato, 2007).

3.2.1. Composição Química dos Óleos Essenciais

Quimicamente, a grande maioria dos óleos essenciais é constituída de derivados fenilpropanóides ou de terpenóides, sendo que estes últimos predominam (Simões e Spitzer, 2000).

3.2.1.1. Fenilpropanóides

Os fenilpropanóides formam-se a partir do ácido chiquímico, que forma as unidades básicas dos ácidos cinâmico e p-cumárico. Esses últimos, por meio de reduções enzimáticas produzem propenilbenzenos e/ou alilbenzenos e, por meio de oxidações com degradação das cadeias laterais, geram aldeídos aromáticos. Ciclizações enzimáticas intramoleculares produzem cumarinas (Simões e Spitzer, 2000).

3.2.1.2. Terpenóides

Terpenos, hidrocarbonetos e derivados oxigenados terpenóides são os principais constituintes dos óleos essenciais. Estes compostos são formados por unidades do isopreno (05 carbonos). Os monoterpenos são compostos por duas unidades do isopreno (10 carbonos), os sesquiterpenos, por sua vez, são compostos por três unidades do isopreno (15 carbonos), os diterpenos por 20 unidades de carbonos, os triterpenos por 30 unidades de carbono e os tetraterpenos por 40 unidades de carbono (Bruneton, 1991). Dentre eles, os terpenos são a principal classe, ou seja, são os principais componentes, sendo que um exemplo é o d-limoneno, um monoterpeno presente na maioria dos óleos essenciais já relatados (Lanças e Cavichioli, 1990).

Outros terpenóides, como os diterpenos, são encontrados apenas em óleos extraídos com solventes orgânicos (Steinegger e Hansel, 1992).

Os monoterpenos podem, ainda, ser divididos em três grupos: acíclicos, monocíclicos e bicíclicos. Em cada um desses subgrupos há ainda outras classificações (quanto à função dos grupamentos): hidrocarbonetos insaturados (por

exemplo, o d-limoneno), alcoóis (linalol), aldeídos (geranial) ou cetonas, lactonas e tropolonas. As variações estruturais dos sesquiterpenos são da mesma natureza que as precedentes, podendo ser acíclicos (nerol), monocíclicos ou bicíclicos (β -selineno) ou lactonas sesquiterpênicas (Bruneton, 1991; Simões e Spitzer, 2000).

3.3. Capim Citronela (*Cymbopogon winterianus* J.)

Dentre as plantas medicinais e aromáticas amplamente utilizadas, encontra-se o capim citronela, que ocorre basicamente sob duas formas: *Cymbopogon nardus*, conhecida também como Lenabatu ou Citronela do Ceilão, e *Cymbopogon winterianus* Jowitt, conhecida como Maha pengiri ou Citronela de Java. Acredita-se que ambas as formas originaram-se no Ceilão e sul da Índia, sendo a primeira cultivada principalmente nessa ilha da Indonésia, enquanto a segunda é mais encontrada em Java, Haiti, Honduras, Taiwan, Guatemala e República da China. Provavelmente todos os tipos de citronela cultivados originaram-se de *Cymbopogon onfertiflorus* Stapf, conhecida por “maragrass” e que ocorre naturalmente no Sri Lanka (Sahoo e Debata, 1995).

Até o início do século XIX, a Citronela do Ceilão era a mais utilizada na produção de óleo da planta, mas gradativamente a Citronela de Java dominou o cenário graças a sua maior concentração de óleo. Essa é cultivada comercialmente no Pacífico Sul, América Central e África Tropical. A planta possui hábito de crescimento ereto, sendo as folhas longas e mais largas que as do capim limão (*Cymbopogon citratus* D.C. Stapf), podendo ser facilmente reconhecida pelo forte e agradável aroma de eucalipto limão. O óleo extraído de suas folhas é rico em aldeído citronelal, aproximadamente 40%, e possui também pequenas quantidades de geraniol, citronelol e ésteres. O citronelol é excelente aromatizante de ambientes e repelentes de insetos, além de apresentar ação antimicrobiana local e acaricida (Bremness, 1993).

Conhecida por ser uma planta muito resistente (Figura 3.1), que pode crescer em solos de características muito variadas, mas com preferência pelos solos bem drenados e ricos em nutrientes (Tanu e Adholeya, 2004).



Figura 3.1. Planta aromática Citronela (*Cymbopogon winterianus* J.)

Muito antes do advento de sprays e inseticidas químicos a Citronela do Ceilão já era utilizada. Mosquitos e outros insetos não fazem distinção entre as espécies de citronela, sua aversão é ao citronelal, constituinte que, descobriu-se, está presente em mais altos níveis na Citronela de Java (Sahoo e Debata, 1995). Esta espécie é largamente cultivada na Ásia e em alguns países da América Central. Mostrou-se facilmente cultivável em regiões de clima tropical, adaptando-se muito bem em diversas regiões do Brasil. É conhecida popularmente como repelente para mosquitos, inclusive o *Aedes aegypti* (Tawatsin, 2001). É importante salientar que a grande utilização da planta é realmente como repelente de insetos e por repelente deve-se entender: afasta os insetos e não os mata e nem envenena o ambiente, não afetando de maneira alguma o equilíbrio ecológico, fatos que a sabedoria oriental já havia descoberto há séculos (Tanu e Adholeya, 2004).

Devido à sua associação como repelente de insetos, a citronela era desconhecida pela aromaterapia. No instante em que terapeutas passaram a pesquisar suas qualidades e propriedades ativas em nível físico e mental a citronela começou a fazer parte do mercado de cosméticos (Buchbauer, 1996).

As principais aplicações do óleo essencial extraído da citronela são (Fepagro, 2003):

- planta aromática para fins de perfumaria;

- afugentar insetos do lar e de grãos armazenados;
- desinfetante do lar e bactericida laboratorial;
- matéria-prima para a síntese de outros aromas.

Além das aplicações citadas, a citronela é também utilizada na culinária chinesa e seu bagaço é aproveitado na produção de ração animal, sendo comprovado que animais que se alimentam deste bagaço desenvolvem uma maior resistência a doenças (Fepagro, 2003).

Suas principais propriedades sensoriais são o frescor, intensidade cítrica e o aroma levemente frutal, semelhante ao óleo de capim- limão (Corazza, 2002).

3.4. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

A taxonomia do gênero *Rosmarinus Linnaeus* é até agora determinada satisfatoriamente nas espécies, sendo este gênero representado por somente uma única espécie, *Rosmarinus officinalis Lamiaceae*. Entretanto, as variedades e as formas sistemáticas parecerem incertas e confusas, existem numerosos cultivos de plantas que crescem de maneira selvagem em países Mediterrâneos. A área selvagem na qual existe o cultivo do *Rosmarinus officinalis Lamiaceae* inclui Europa, Ásia e África, somente nas áreas em torno do mar Mediterrâneo e nas ilhas, particularmente Sicília, Sardenha, Córsega, Baleari e Ilha de Elba. Sardenha é a única ilha em que o *Rosmarinus* é igualmente encontrado longe das costas, mas seu habitat sempre ocorre em entorno do Mediterrâneo (Pintore, 2002).

O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) ocupa lugar de destaque entre os óleos essenciais utilizados pelas indústrias farmacêuticas, de alimentos, de cosmética e de higiene, pois em sua composição química são encontrados princípios ativos terapêuticos, antioxidantes, aromatizantes, entre outros, de ampla utilização. Toda a planta exala um aroma forte e agradável. Utilizada com fins culinários, medicinais, religiosos, a sua essência também é

utilizada em perfumaria, como por exemplo, na produção da água-de-colônia, pois contém tanino, óleo essencial, pineno, cânfora e outros princípios ativos que lhe conferem propriedades excitantes, tônicas e estimulantes. A medicina popular recomenda o alecrim como um estimulante para todas as pessoas atacadas de debilidade, sendo empregado também para combater as febres intermitentes e a febre tifóide. Uma tosse pertinaz desaparecerá com infusões de alecrim, que também se recomendam a todas as pessoas cujo estômago seja preguiçoso para digerir. Também apresenta propriedades carminativas, emenagogas, desinfectantes e aromáticas (Corrêa Jr., 1994; Hertwig, 1991).

O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) é um arbusto comum na região do Mediterrâneo, ocorrendo dos 0 a 1500 m de altitude, preferencialmente em solos de origem calcária. A família *Labiatae* inclui muitas espécies em comum, algumas tão similares que dificultam a sua diferenciação. Uma espécie extensamente difundida da família *Labiatae* é o alecrim (*Rosmarinus officinalis Lamiaceae*). O nome *Rosmarinus* vem do Latim *ros-roris*, que significa orvalho; também chamado na Grécia antiga de 'antos', cujo significado é a 'flor da excelência' ou 'libanotis' devido ao seu cheiro de incenso. Devido ao seu aroma característico, os romanos designavam-no como *rosmarinus*, que em latim significa *orvalho do mar*.

O alecrim é utilizado na forma de planta fresca (*in natura*), seca ou como o óleo essencial. Os óleos são extraídos das folhas, flores, hastes e raízes da planta aromática. Contém uma grande quantidade de óleo essencial, podendo alcançar concentrações acima de 1,0% v/p. O óleo essencial tem propriedades de tônico estimulante; é usado como um anti-séptico pulmonar. Tem igualmente propriedades anti-reumáticas e digestivas. É utilizado na perfumaria, fitos cosméticos e em licores. A composição química do óleo de alecrim tem sido assunto de estudo considerável (Englberger, 1998).

O processo de secagem é muito importante para as espécies medicinais, aromáticas e condimentares, pois estabiliza o metabolismo da planta, imobilizando a ação enzimática degradadora dos princípios ativos existentes (Corrêa Jr., 1994; Hertwig, 1991). As plantas produtoras de óleo essencial possuem substâncias

químicas altamente voláteis (Hertwig, 1991), responsáveis pela determinação da composição química do óleo essencial.

Os óleos essenciais de alecrim podem ser classificados quanto à concentração de seus componentes principais: óleos com concentração de 1,8 cineol acima de 40% (Marrocos, Tunísia, Turquia, Grécia, Iugoslávia, Itália e França) e óleos com concentrações aproximadamente iguais de 1,8-cineol, α -pineno e de cânfora, em torno de 20 a 30% (França, Espanha, Itália, Grécia e Bulgária). Outra forma de classificação do óleo essencial de alecrim a partir da composição química pode ser definida de acordo com a quantidade de mirceno, como ocorre na Argentina, Portugal e Espanha. A literatura igualmente revelou algumas composições químicas incomuns para óleos essenciais de alecrim como são os casos dos óleos onde predominaram a cânfora, o 1,8-cineol e o borneol originário de Cuba e 1,8-cineole, borneol, p-cimeno originários da Turquia (Perez-Alonso, 1995).

O alecrim que cresce de forma selvagem em Córsega e na Sardenha produz um óleo que parece ser atrativo para aromaterapia e exhibe uma composição diferente, com quantidades raramente elevadas de α -pineno, verbenona e acetato de bornil. A especificidade e a qualidade dos óleos de alecrim de Córsega e da Sardenha são reconhecidas há muito tempo.

Em 1973 e 1980, Granger e Falchi Delitala, usando o GC, identificaram 05 compostos nos óleos de alecrim de Córsega e 12 compostos nos óleos de alecrim da Sardenha. Ambos os resultados, os componentes principais encontrados foram o α -pineno (34-27%) e acetato de bornil (9-12%). Índices elevados de verbenona (29% e 37%) foram encontrados nos óleos de Córsega. Recentemente, óleos isolados das plantas de alecrim com crescimento selvagem ou cultivados, na Sardenha foram investigados por GC e GC/MS e algumas peculiaridades, tais como a área de crescimento, o estágio vegetativo, características pedológicas (propriedades do solo, irrigação, micro-nutrientes), foram observadas como fatores para a variação da composição desses óleos essenciais. Na análise do óleo de alecrim, extraído via laboratório por destilação a vapor, de plantas colhidas ao sul de Córsega, foi possível encontrar, também, os compostos 1,8-cineol, α -pineno e cânfora (Pintore, 2002).

Um grande número compostos poli-fenólicos com atividade antioxidante foram identificados no óleo extraído da planta aromática de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). A atividade antioxidante dos extratos do alecrim depende de sua composição fenólica (Hopia, 1996; Frankel, 1996; Cuvelier, 2000).

Os óleos essenciais de alecrim são usados na medicina como agentes antiinflamatórios, antivirais e anti-microbiais. Apresentam propriedades carminativas (desintoxicam, estimulam a digestão e absorção), antioxidantes, emenagogas e aromáticas (Aruoma, 1996).



Figura 3.2. Planta aromática Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Fonte: <http://escolaambiente.faccat.br/alecrim.html>



Figura 3.3. Planta aromática Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Fonte: <http://escolaambiente.faccat.br/alecrim.html>

3.5. Destilações por Arraste a Vapor

Um grande número de espécies de plantas contém compostos voláteis que podem ser extraídos na forma de óleo essencial. Diferentes métodos são usados para separar esses óleos de várias partes das plantas. Embora pareça relativamente simples isolar tais óleos, a composição do óleo pode variar em grande parte dependendo do método da extração usado. As vantagens e as desvantagens de alguns métodos foram discutidas por Scheffer (1993) e Cassel e Vargas (2006). Estes últimos modelaram o processo de extração do óleo essencial, em escala laboratorial, de *Cymbopogon winterianus*, visando à predição de um processo em escala industrial.

Os processos tradicionais empregados para obter óleos essenciais são a hidrodestilação e a destilação com arraste a vapor (via laboratorial e industrial). A destilação utilizando vapor de água é uma operação unitária baseada na diferença de volatilidade de determinados compostos presentes na matéria-prima vegetal. A indústria prefere a destilação com arraste a vapor devido à sua maior simplicidade e economia, pois permite tratar de uma única vez quantidades significativas de material vegetal (Guenther, 1976).

A destilação por arraste a vapor é um processo tradicional na obtenção dos óleos essenciais, a partir das folhas e caules de plantas aromáticas. A destilação por arraste a vapor é muito usada pela indústria por ser barata e, quando comparada com os métodos tecnológicos mais avançados, como, por exemplo, a extração com fluido supercrítico (Cassel e Vargas, 2006). Consiste na vaporização a temperaturas inferiores das de ebulição de cada um dos componentes voláteis por efeito de uma corrente direta de vapor de água.

Os vapores gerados na caldeira permeiam pelo material vegetal contido no extrator e são resfriados no condensador, onde ocorre a liquefação e finalmente a separação em um decantador, conhecido como vaso florentino. A distribuição de matéria-prima no extrator deve ser feita de maneira que permita o maior contato superficial entre esta e o vapor.

Os processos tradicionais de extração, como o de arraste a vapor, apresentam alguns inconvenientes e limitações. No caso da destilação por arraste a vapor, os constituintes dos óleos essenciais podem sofrer degradação térmica ou então hidrólise, o que pode alterar o aroma do extrato, conseqüentemente afetar na reprodução das fragrâncias características das plantas aromáticas. No caso dos processos com extração por solvente orgânico, a limitação está relacionada ao uso de solventes tóxicos, já que os óleos essenciais são utilizados em alimentos e em produtos farmacêuticos e cosméticos. Além disso, os processos de remoção de solvente, após a extração dos óleos essenciais, geram custos energéticos ao processo, assim como existe uma forte possibilidade de perder os compostos voláteis. Também, na maioria das vezes, é impossível a remoção completa dos solventes (Bandoni, 2000).

Quando comparado os dois tipos de processos de obtenção de óleos essenciais, destilação por arraste de vapor e extração com solventes, a destilação apresenta grandes vantagens em relação à extração com solventes orgânicos, tais como:

- o vapor de água é muito econômico em comparação aos custos dos solventes orgânicos;
- assegura que o óleo essencial não seja reaquecido;
- não requer equipamentos sofisticados.

O tempo de destilação é determinado por fatores técnicos e econômicos. Os fatores técnicos estão relacionados à composição do óleo essencial que é função do tempo de extração. Se a extração for rápida, o produto apresentará uma maior concentração de compostos voláteis, porém destituído das características aromáticas da planta original. Se a extração for prolongada, o custo do óleo essencial será mais elevado em função do consumo de energia (Cassel e Serafini, 2001).

3.6. Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (GC/MS)

Durante as duas últimas décadas, demonstrou-se que um dos métodos mais eficientes para o estudo da composição dos óleos essenciais é a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG/MS). É um método muito adequado para a identificação devido aos componentes do óleo ser compostos voláteis de baixo peso molecular (< 300 Dalton; aproximadamente $4,98 \times 10^{-25}$ Kg/mol). O óleo essencial é injetado no cromatógrafo, sem nenhum tratamento prévio, o qual elimina possíveis modificações na composição da amostra ou na estrutura de seus constituintes devido ao pré-tratamento. Não se eliminam as alterações ocasionadas pela temperatura da análise, que pode afetar componentes termossensíveis. No cromatógrafo, os componentes do óleo essencial se separam e, em seguida, penetram no espectrômetro de massas, que permite registrar o correspondente espectro de cada uma das substâncias separadas. Os constituintes do óleo essencial são identificados por comparação aos diferentes padrões de fragmentação que se observam em seus espectros de massas presentes em bibliotecas de espectros, onde se relaciona os espectros obtidos das análises com

os do banco de dados das bibliotecas. Existem bases de dados, como a biblioteca Adams, com os espectros de massas de muitos componentes (Serafini, 2002).

A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa permite realizar em uma só operação, para uma amostra da ordem de 1µL, uma análise qualitativa junto com uma indicação das proporções em que se encontram os componentes. Quando se dispõe de substância padrão, a calibração do equipamento permite uma análise quantitativa exata da amostra (Bandoni, 2008).

3.6.1. Cromatografia Gasosa (GC)

A cromatografia gasosa consiste numa fase móvel e uma fase estacionária, onde a fase móvel é um gás (geralmente He, N₂ ou H₂) e a fase estacionária é geralmente um líquido não-volátil, podendo ser também um sólido. Na cromatografia gasosa, o constituinte gasoso (ou líquido volátil) é transportado pela coluna por uma fase móvel gasosa, chamada gás de arraste. A escolha do gás de arraste depende do detector e da eficiência e velocidade de separação desejada. De maneira geral, a cromatografia gasosa é aplicável para a separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis.

Uma amostra líquida volátil ou gasosa é injetada por um septo (disco de borracha ou de silicone) dentro de uma câmara aquecida, na qual ela se evapora rapidamente. O vapor é arrastado na coluna pelo gás de arraste e os constituintes separados fluem pelo detector, cuja resposta é mostrada num computador ou registrador. A coluna deve estar aquecida o bastante para proporcionar uma pressão de vapor suficiente para que os constituintes sejam eluídos num tempo razoável. O detector é mantido numa temperatura superior à da coluna, logo todos os constituintes serão gasosos (Harris, 2001).

Existem diferentes tipos de colunas cromatográficas, mas a grande maioria das análises usa colunas capilares feitas de sílica fundida (SiO₂) e cobertas com poliimida, um plástico capaz de resistir até 350°C, para suportar e proteger da

umidade atmosférica. Os diâmetros internos da coluna normalmente são de 0,10 a 0,53 mm e os comprimentos normais são de 15 a 100 m. A estrutura capilar oferece maior resolução, menor tempo de análise e maior sensibilidade que as colunas recheadas, mas estas possuem uma menor capacidade para a amostra. As colunas capilares estreitas proporcionam maior resolução do que as colunas capilares mais largas, mas necessitam de maior pressão para operar e possuem menor capacidade para a amostra. A coluna capilar se caracteriza por um filme de espessura de 0,1 a 5 μm de fase estacionária líquida na parede interna da coluna. A escolha da fase líquida para um dado problema está baseada na regra “semelhante dissolve semelhante”. As colunas apolares são melhores para os solutos apolares, assim como, as colunas de polaridade intermediária são melhores para solutos de polaridade intermediária e as colunas fortemente polares são melhores para solutos fortemente polares. Com o tempo de uso a fase estacionária da coluna capilar se decompõe e os grupos silanol da superfície ($\text{Si} - \text{O} - \text{H}$) ficam expostos, aumentando a cauda do pico no cromatograma. A exposição ao oxigênio em altas temperaturas também leva à degradação e à formação de cauda no cromatograma, o que prejudica e interfere na interpretação do cromatograma. Para reduzir a tendência da fase estacionária de “sangrar” da coluna em temperaturas elevadas, ela pode estar ligada covalentemente à superfície da sílica ou a ela mesma. Entre os sólidos usados como camada porosa de colunas capilares está a alumina (Al_2O_3) (Harris, 2001).

O tempo de retenção – tempo decorrido entre a injeção de uma amostra e o ápice do pico cromatográfico – é relativo às substâncias polares e apolares com a mudança na polaridade da fase estacionária. Os compostos eluídos de uma fase estacionária apolar se encontram em ordem crescente do ponto de ebulição. O determinante principal da retenção da coluna é a volatilidade das substâncias. Quanto mais fortemente polar for à fase estacionária, mais fortemente a coluna irá reter as substâncias polares (Harris, 2001).

A temperatura de uma coluna é elevada durante a separação para aumentar a pressão de vapor do soluto e assim diminuir os tempos de retenção dos últimos componentes a serem eluídos. Com a elevação da temperatura é possível uma melhor resolução dos picos, pois estes se tornam mais finos. Mas, é importante

salientar que, elevando-se muito a temperatura poderá ocorrer decomposição térmica dos constituintes da análise ou da fase estacionária (Harris, 2001).

Muitos cromatógrafos são equipados com um controle eletrônico programável do gás de arraste que entra na coluna. Aumentando a pressão de entrada aumenta-se a vazão da fase móvel e assim o tempo de retenção diminui. Em alguns casos, a pressão programada pode ser usada em vez da temperatura programada para reduzir os tempos de retenção dos últimos componentes que saem da coluna. No final de uma corrida, a pressão pode ser reduzida ao seu valor inicial de uma forma muito rápida para a próxima corrida. Dessa forma não há perda de tempo com a espera do esfriamento da coluna quente antes da próxima injeção. A pressão programada é muito útil para constituintes termolábeis que não suportam altas temperaturas. A pressão programada pode economizar muito tempo entre as injeções se a temperatura permanecer constante (Harris, 2001).

3.6.2. Espectrômetro de Massa (MS)

O espectrômetro de massa (Figura 3.4) é um detector potente para as análises qualitativa e quantitativa de constituintes em cromatografia gasosa ou líquida. Na espectrometria de massa, as moléculas gasosas são ionizadas, geralmente para formar cátions, aceleradas por um campo elétrico e separadas de acordo com a sua massa. O processo de ionização, geralmente, confere energia suficiente para quebrar a molécula numa variedade de fragmentos. Um espectro de massa é um gráfico que mostra a abundância relativa de cada fragmento que atinge o detector do espectrômetro de massa.

O eluato do cromatógrafo passa diretamente dentro do espectrômetro de massa, que registra a corrente total de todos os íons de todas as massas numa ampla faixa selecionada.

Um pico num cromatograma é identificado por meio do registro de seu espectro de massa assim que ele é eluído. Num cromatograma o eixo vertical de um espectro de massa é (m/z) , onde: m é a massa do íon (em unidades de massa atômica) e z o número de carga que ele transporta. A maioria dos íons transporta

uma carga, então m/z geralmente é equivalente à massa do íon em unidades de massa atômica. O eixo horizontal indica o tempo de retenção que, normalmente, é indicado em minutos.

Uma molécula ionizada que não se quebra em nenhum fragmento é chamada de íon molecular, sendo representada por M^+ . O íon molecular, M^+ , pode ser formado por reações como $CH_4 + M \rightarrow CH_4 + M^+$

O espectrômetro de massa quadrupolar é conectado a uma coluna cromatográfica capilar com o objetivo de registrar um espectro de cada pico que está sendo eluído. O eluato passa por um conector aquecido dentro da câmara de ionização de impacto de elétron do espectrômetro, que é bombeada rapidamente para manter um bom vácuo. Os íons são acelerados por um potencial de 5-15 eV antes de entrarem no separador de massa quadrupolar.

O separador consiste em quatro bastões metálicos paralelos aos quais são aplicados um potencial constante e um potencial de radiofrequência oscilante. O campo elétrico desvia os íons numa trajetória complexa assim que eles migram da câmara ionizadora para o detector e admite que íons com somente uma determinada razão massa/carga (m/z) alcancem o detector. Outros íons (íons não-ressonantes) colidem com os cilindros e são perdidos antes de alcançarem o detector. Variando rapidamente os potenciais aplicados, íons de massas diferentes são selecionados para alcançarem o detector. Os separadores de massa quadrupolares são examinados, rapidamente, de modo a registrarem de dois a oito espectros por segundo, cobrindo 800 unidades de massa. De outra forma, um detector cromatográfico de espectro de massas pode ser incumbido de controlar a seleção dos íons ou a corrente total de todos os íons (Harris, 2001).



Figura 3.4. Equipamento GC/MS (Marca Agilent Technologies)

3.7. Análise dos Componentes Principais (PCA)

Os componentes principais são novas variáveis geradas através de uma transformação matemática especial realizada sobre as variáveis originais. Esta operação matemática está disponível em diversos softwares estatísticos especializados, como, por exemplo, o software “Statistics 7”, utilizado neste trabalho para agrupar/reorganizar os componentes químicos de cada amostra de citronela e de alecrim. Cada componente principal é uma combinação linear de todas as variáveis originais. Por exemplo, um sistema com oito variáveis, após a transformação, terá oito componentes principais. Cada um destes componentes principais, por sua vez, será escrito como uma combinação linear das oito variáveis originais. Nestas combinações, cada variável terá uma importância ou peso diferente.

Duas são as características dos componentes principais que os tornam mais efetivos que as variáveis originais para a análise do conjunto das amostras. As variáveis podem guardar entre si correlações que são suprimidas nos componentes principais. Ou seja, os componentes principais são ortogonais entre si. Deste modo, cada componente principal traz uma informação estatística diferente das outras. A segunda característica importante é decorrente do processo matemático-estatístico

de geração de cada componente que maximiza a informação estatística para cada uma das coordenadas que estão sendo criadas. As variáveis originais têm a mesma importância estatística, enquanto que os componentes principais têm importância estatística decrescente. Ou seja, os primeiros componentes principais são tão mais importantes que podemos até desprezar as demais (Prado, 2002).

Destas características podemos compreender como a análise de componentes principais: a) podem ser analisadas separadamente devido à ortogonalidade, servindo para interpretar o peso das variáveis originais na combinação dos componentes principais mais importantes; b) podem servir para visualizar o conjunto da amostra apenas pelo gráfico de dois primeiros componentes principais, que detêm maior parte da informação estatística (Neto, 2004).

A regressão linear múltipla também é uma técnica multivariada cuja finalidade principal é obter uma relação matemática entre uma das variáveis (a variável dependente) e o restante das variáveis que descrevem o sistema (variáveis independentes). Sua principal aplicação, após encontrar a relação matemática é produzir valores para a variável dependente quando se têm as variáveis independentes. Ou seja, ela pode ser usada na predição de resultados.

Obviamente, a soma das contribuições de diversas variáveis para uma determinada predição pode também ser feita usando os componentes principais, pois as mesmas técnicas têm a vantagem de poder ser tratadas de modo completamente independente. Portanto, é possível também fazer regressão linear múltipla dos componentes principais (Neto, 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo da composição de óleos essenciais extraídos pelo processo de arraste a vapor em diferentes tempos de extração é importante no sentido de verificar a viabilidade de realizar um fracionamento prévio dos óleos visando atender interesses de aplicações específicas. Neste trabalho foram avaliadas as composições dos óleos essenciais de citronela e alecrim em função do tempo de extração para processos em duas escalas: laboratorial e industrial.

4.1. Destilação por Arraste a Vapor – Escala Laboratorial

Os óleos essenciais da citronela e do alecrim foram obtidos através da extração no destilador por arraste a vapor no Laboratório de Operações Unitárias (LOPE), situado na Faculdade de Engenharia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

O processo de extração dos óleos essenciais via destilação por arraste a vapor em escala laboratorial, utilizado neste estudo, consiste em uma caldeira dotada de uma resistência elétrica e com volume aproximadamente de 5 litros e um vaso extrator de capacidade em torno de 4 litros de volume. As etapas de condensação e separação das fases líquida são processadas em um clewenger. O fluido de refrigeração é água à temperatura ambiente e sem reciclo. O vapor permeia a matéria-prima e, nesse estado, o solvente tem maior capacidade de penetrar nos poros das folhas, solubilizando maior quantidade de óleo em um menor tempo. A unidade de arraste a vapor utilizada é representada na Figura 4.1.



Figura 4.1. Unidade Laboratorial de Destilação por Arraste a Vapor

4.2. Destilação por Arraste a Vapor – Escala Industrial

Os óleos essenciais da citronela e do alecrim foram obtidos através da extração no destilador por arraste a vapor da Empresa Tekton Óleos Essenciais LTDA, localizada na cidade de Viamão – Rio Grande do Sul, região metropolitana de Porto Alegre. O experimento consistiu em adicionar 507 kg de planta aromática citronela e, 457 kg da planta aromática alecrim, ambas *in natura*, no destilador de capacidade 3540 litros. As condições operacionais do processo na unidade industrial foram às seguintes: a matéria-prima vegetal foi adicionada no vaso extrator de dimensões 1,4 m de diâmetro e 2,5 m de altura, de maneira que formasse um leito fixo compactado. Seu estado poderia ser moído, cortado, inteiro ou com a combinação desses, porém nesse processo a matéria-prima foi colocada inteira no leito. O vapor gerado na caldeira externa, alimentada a lenha, com pressão de 7 kgf/cm². Uma válvula de expansão reduziu sua pressão para 1,2 kgf/cm², obtendo dessa forma vapor levemente superaquecido a temperatura média de 120°C. O vapor foi injetado no vaso extrator através de um distribuidor interno, próximo à base. Conforme o vapor entrava em contato com o leito, aquecia a matéria-prima, quebrando as frágeis bolsas intracelulares que se abriam e liberavam o óleo essencial, vaporizando a parcela mais volátil. O óleo solubilizado no vapor circundante foi arrastado ao topo do vaso extrator. A mistura com vapor de óleo essencial e vapor d'água, deixando o vaso extrator, percorreu o condensador de serpentina, onde passou do estado vapor para o estado líquido, devido à refrigeração indireta por água à temperatura ambiente. A mistura condensada

alimentou o vaso separador, chamado de vaso florentino, no qual a fase óleo essencial foi separada da fase aquosa por diferença de densidade. A água residual, chamada de hidrolato, foi utilizada para irrigar as plantações ou como água de colônia. Um esquema da extração por arraste a vapor é apresentado na Figura 4.2.

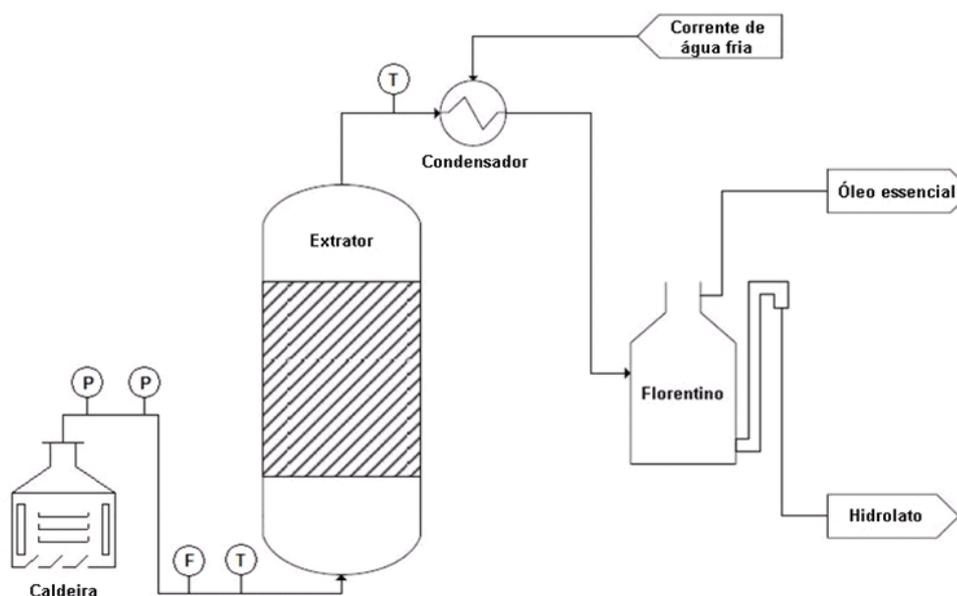


Figura 4.2. Fluxograma do Processo Industrial.

As amostras foram obtidas mediante uma proveta graduada localizada após a saída do condensador e antes do vaso de separação. O tempo de extração perdurou aproximadamente 2 horas. Ao longo da extração coletou-se 10 amostras do óleo, uma a cada 10 min em média, observando-se a separação entre as fases água e óleo essencial. Assim, foi possível obter as quantidades de óleos essenciais extraídos, os quais foram utilizados para representar a curva de rendimento da extração. A cada amostra coletada, a quantidade de óleo extraído e a quantidade de água residual, eram conferidas para averiguar se não havia perdas por vazamento, juntamente com o tempo de coleta.

O processo de extração dos óleos essenciais em escala industrial utiliza uma caldeira para a geração de vapor (Figura 4.3), um extrator de capacidade de 3540 litros (Figura 4.4), onde é adicionada a matéria-prima a ser extraída, um condensador (Figura 4.5) e um frasco coletor, vaso florentino (Figura 4.6).



Figura 4.3. Gerador de vapor da unidade industrial – caldeira.

O vapor é percolado através do leito de sólidos, no interior do vaso extrator, arrastando o óleo essencial. A mistura vapor-óleo essencial segue então para o condensador em serpentina, onde ocorre a mudança de fase. O condensado é alimentado no vaso florentino, onde ocorre a separação das fases, por diferenças de polaridade, formando duas fases líquidas.



Figura 4.4. Vasos de extração da unidade industrial.



Figura 4.5. Condensador de serpentina da unidade industrial.



Figura 4.6. Vaso separador da unidade industrial - vaso florentino.

O cálculo do rendimento de óleo essencial para o processo de extração por arraste a vapor é realizado utilizando as seguintes equações:

$$\rho_{\text{óleo}} \cdot V_{\text{óleo}} = m_{\text{óleo}} \quad (01)$$

$$R_{\text{end}} = m_{\text{óleo}} / m_{\text{planta}} \cdot 100 \quad (02)$$

Na qual:

$\rho_{\text{óleo}}$ = Densidades dos Óleos

$V_{\text{óleo}}$ = Volume de óleo extraído (mL)

$m_{\text{óleo}}$ = Massa de óleo (g)

m_{planta} = Massa de planta utilizada para a extração (kg)

R_{end} = Rendimento / concentração de óleo (% p/p)

4.3. Análises Cromatográficas

Para cada amostra dos óleos essenciais de citronela e alecrim, foram realizadas três análises. O volume injetado das amostras, para os óleos essenciais de citronela e alecrim, foi de 5 μL diluído em hexano (1:1). Para garantir que as amostras não contivessem água, foram adicionadas 0,5 gramas de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4). A análise de GC foi realizada em um equipamento da marca Agilent Technologies, modelo 7890A GC system, equipado com um processador de dados.

A composição química das amostras foi obtida por análises qualitativas. Utilizou-se uma coluna capilar HP – 5 MS (30 m de comprimento \times 0,250 mm de diâmetro interno \times 0,25 μm de espessura), 60 a 325/350°C. O programa de temperatura da coluna foi: 60°C (8 min) a 180°C à 3°C/min, 180-230°C à 20°C/min, 250°C (10 min). As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 50°C, o gás de arraste utilizado foi o hélio na pressão de 5,8 psi, em uma taxa de fluxo de entrada 3 mL/min e de fluxo total 46,2 mL/min. As análises no MS foram realizadas em um equipamento da marca Agilent Technologies, modelo 5975C VL MSD, operando em 70eV, e a temperatura da fonte de íon foi mantida em 250 °C.

A identificação dos componentes foi realizada, a partir da fragmentação das suas massas, por comparação dos espectros de massa dos compostos aos espectros das bibliotecas de referência Adams e NIST (Adams, 2008; NIST, 1990), armazenados na base de dados do MS.

4.4. Análise dos Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) foi à técnica estatística multivariada selecionada para as combinações lineares não correlacionadas das variáveis em um espaço de várias dimensões. Por meio do uso da PCA tornou-se possível reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados das amostras. Na análise de PCA, o objetivo foi encontrar uma combinação linear entre os dados, de modo que a variância dos dados das amostras fosse maximizada. Essa técnica também pode ser utilizada como uma transformação linear minimizando o erro na reconstrução, através de uma covariância dos dados.

A transformação dos dados m-dimensional para um subespaço n-dimensional foi realizada com o software “Statistics 7”, escolhendo-se as primeiras n colunas, ou seja, os n componentes principais. O objetivo do uso dessa técnica foi de identificar subconjuntos dos dados dentro de um espaço n-dimensional.

A técnica pode ser considerada basicamente como uma técnica de pré-processamento de dados multivariados, com consequência direta na análise dos agrupamentos, como: (a) Exploração eficiente da base de dados; (b) Visualização; (c) Redução dos dados; (d) Geração de hipóteses para agrupamentos de novas variáveis (Sancevero, 2008).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados relativos aos estudos sobre a influência do tempo de extração na composição química dos óleos essenciais de citronela e de alecrim. Estes estudos foram realizados em escala industrial e comparados com os óleos essenciais obtidos em escala laboratorial. Como forma de avaliar estatisticamente os resultados obtidos, em função do elevado número de informações experimentais, foi escolhido o método PCA.

5.1. Extração por arraste a vapor em escala laboratorial

Na extração do óleo essencial de citronela, adicionou-se 300g da planta no vaso extrator. A extração perdurou aproximadamente 45 minutos, obtendo-se um volume médio de 2,5 mL de óleo essencial. O óleo essencial obtido foi posteriormente analisado no CG/MS. Para a extração do óleo essencial de alecrim efetuou-se o mesmo procedimento, adicionando-se no vaso extrator uma massa de 302,85 g da planta, obtendo um volume médio de 1,4 mL do óleo essencial.

Em função dos processos em escala laboratorial ocorrerem num tempo bastante curto e a variação da composição com o tempo de extração ser pouco significativa foram definido para esta escala a obtenção dos óleos essenciais e a partir deste realizar as análises por GC/MS. Os rendimentos médios para as extrações do óleo essencial de citronela e alecrim, respectivamente, foram de 0,833% v/p (volume de óleo em mL por massa de planta aromática) e 0,462 % v/p. Os resultados médios obtidos na análise do óleo essencial de citronela são apresentados na Tabela 5.1 e os resultados médios obtidos na análise do óleo essencial de alecrim são apresentados na tabela 5.1.

Tabela 5.1. Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o Óleo de Citronela extraído via Escala Laboratorial.

Composto	% Área
D - limoneno	3,063
α - terpinoleno	0,663
citronelal	51,753
β - citrionelol	19,930
nerol (2,6-octadienol)	15,390
(E) - citral	0,543
citronelil acetato	2,930
geranil acetato	2,473
β - elemeno	0,523
β - copaeno	0,770
δ - amorfeno	0,507
D - germacreno - 4 - ol	0,473
TOTAL (%Área)	99,02%

Tabela 5.2. Resultados Obtidos pela Análise Cromatográfica em GC/MS para o Óleo de Alecrim extraído via Escala Laboratorial.

Composto	% Área
α - pineno	25,740
Canfeno	4,050
Thuja - 2,4 - dieno	0,690
β - pineno	2,100
Mirceno	1,630
α - terpineno	0,420
δ - 2 - careno	0,877
Orto - cimeno	1,207
1,8 - Cineol	21,437
γ - terpineno	1,530
Terpinoleno	1,410
Linalol	2,780
Crisantenona	1,463
Canfora	3,657
Borneol	4,040
Terpinen - 4 - ol	1,120
α - terpineol	2,433
Mirtenol	0,570
Verbenona	10,490
Geraniol	3,493
Geranial	0,230
Acetato de bornil	1,050
Metil - eugenol	0,293
(E) - Cariofileno	2,657
α - humoleno	0,420
TOTAL (% Área)	95,79%

Como é possível observar nas tabelas 5.1 e 5.2, foram identificados 12 compostos químicos no óleo de citronela e 25 compostos químicos no óleo de alecrim, levando em consideração que somente foram indicados os compostos com

percentual de área superior a 0,1%. Ao analisar os compostos identificados, constata-se que a maioria são monoterpenos, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos monocíclicos.

5.2. Extração por arraste a vapor em escala industrial

Neste item serão apresentados os resultados dos experimentos realizados na unidade industrial de destilação por arraste a vapor da Empresa Tekton Óleos Essenciais LTDA. Inicialmente são apresentados os resultados para as curvas de extração, isto é, as curvas de rendimento versus tempo, considerando os somatórios dos volumes entre cada intervalo de amostragem. A seguir são apresentados os resultados das análises cromatográficas realizadas em GC/MS, sendo então considerado o valor médio em relação às análises realizadas em triplicatas.

5.2.1. Capim Citronela (*Cymbopogon winterianus* J.)

São apresentados na Tabela 5.3 os dados experimentais da curva de extração do processo industrial de obtenção do óleo essencial de citronela a partir das partes aéreas das plantas aromáticas de *Cymbopogon winterianus* J..

Tabela 5.3. Dados experimentais de volume versus tempo da extração do óleo essencial de citronela.

Tempo (min)	Volume (mL)	Tempo (min)	Volume (mL)	Tempo (min)	Volume (mL)
5,0	2	44,8	1194	84,2	1857
7,5	12	45,8	1213	85,3	1866
9,2	27	46,7	1234	86,5	1876
10,7	62	47,7	1254	87,5	1886
12,0	102	48,6	1274	88,6	1895
13,0	137	49,6	1294	89,6	1905
14,1	175	50,7	1311	90,6	1914
15,0	217	51,8	1324	91,6	1923
15,9	262	53,0	1343	92,6	1933

16,8	308	54,2	1360	93,6	1942
17,7	355	55,2	1377	94,5	1951
18,5	395	56,2	1396	95,7	1959
19,4	440	57,3	1408	96,7	1967
20,2	480	58,3	1421	97,8	1974
21,0	515	59,3	1430	98,8	1981
21,9	555	60,3	1442	99,9	1986
22,7	595	61,3	1457	100,9	1993
23,5	625	62,4	1473	102,0	2000
24,3	663	63,3	1486	103,1	2007
25,0	701	64,3	1499	104,1	2012
25,9	739	65,4	1517	105,2	2019
26,9	767	66,4	1530	106,4	2026
28,2	797	67,5	1541	107,5	2033
29,2	822	68,5	1554	108,5	2039
30,2	857	69,5	1566	109,5	2046
31,2	892	70,5	1582	110,5	2054
32,2	922	71,5	1593	111,5	2062
33,3	950	72,5	1610	112,5	2070
34,4	978	73,5	1626	113,5	2076
35,4	1005	74,5	1640	114,5	2081
36,4	1026	75,5	1649	115,6	2086
37,4	1049	76,8	1658	116,6	2092
38,5	1070	78,0	1669	117,6	2097
39,5	1090	79,0	1679	118,6	2101
40,5	1112	80,0	1691		
41,6	1134	81,1	1704		
42,7	1155	82,1	1716		
43,7	1175	83,2	1847		

De posse dos resultados da Tabela 5.3, é construída a curva de extração do processo industrial (Figura 5.1), levando em consideração que a densidade medida é 0,856 g/mL. O rendimento é calculado a partir das equações 01 e 02.

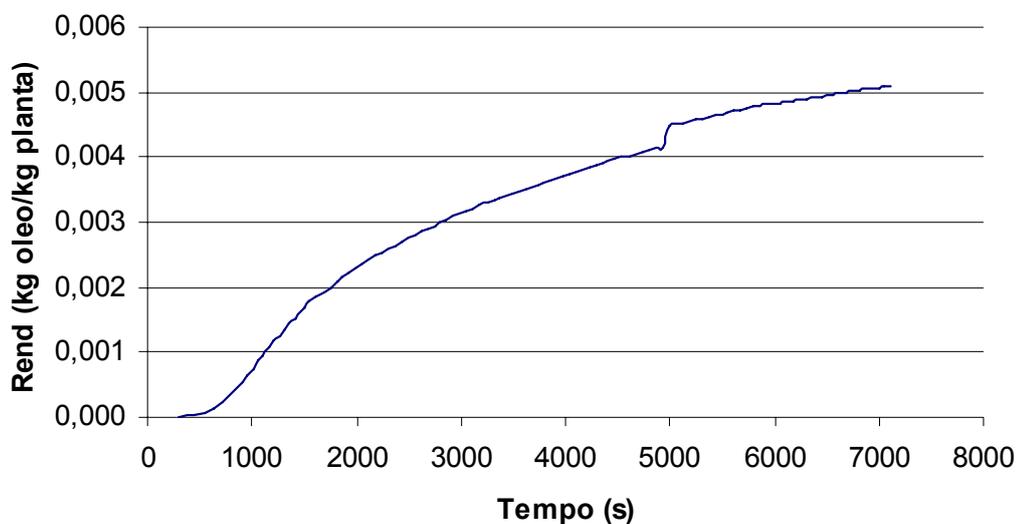


Figura 5.1. Curva de Extração do Óleo Essencial de Citronela: Rendimento x Tempo.

Em ambas as escalas de extração por arraste a vapor, a maioria dos compostos químicos identificados, são constituídos de monoterpenos, sesquiterpenos não oxigenados e sesquiterpenos monocíclicos. Observa-se menor quantidade de componentes químicos obtidos via laboratorial, em virtude das condições de extração.

Os valores resultantes da média das três análises cromatográficas por GC/MS para as 10 amostras, coletadas de 10 em 10 minutos ao longo da extração, dos óleos essenciais de citronela obtidos por arraste a vapor na unidade industrial da empresa Tekton Óleos Essenciais Ltda. se encontram na Tabela 5.4.

Ao se analisar tais resultados, observou-se significativas variações nas composições das amostras obtidas para diferentes tempos de extração.

Nos primeiros 10 minutos de extração o componente majoritário do óleo essencial é o citronelal, com percentual 42,01%. Ou seja, no início da extração por arraste a vapor tem-se um óleo de citronela rico em citronelal. Também se verifica que a concentração deste composto diminui significativamente ao longo da extração, alcançando um valor de 6,33 % na décima amostra. O mesmo comportamento

ocorreu para o citrionelol. Para a primeira amostra a concentração era de 17,80%, enquanto que ao final da extração este era de 8,61%.

Tabela 5.4. Resultados da Análise Cromatográfica por GC/MS do Óleo Essencial de Citronela obtido em Escala Industrial.

COMPOSTOS	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
	Área									
	Am. 1	Am. 2	Am. 3	Am. 4	Am. 5	Am. 6	Am. 7	Am. 8	Am. 9	Am. 10
limoneno	4,49	3,17	2,17	1,94	1,63	0,84	0,96	0,86	0,62	0,74
linalol	0,74	0,57	0,43	0,39	0,36	0,25	0,29	0,28	0,28	0,31
isopulegol	0,72	0,73	0,64	0,62	0,58	0,38	0,44	0,44	0,47	0,38
citrionelal	42,01	28,72	20,82	16,90	13,44	10,52	9,21	7,62	5,49	6,33
citrionelol	17,80	18,75	17,60	16,76	15,10	27,08	11,51	10,99	10,31	8,61
neral	0,47	0,49	0,43	0,36	0,31	0,19	0,22	0,18	0,14	0,17
geraniol	13,89	16,09	16,27	16,17	15,30	10,50	12,53	12,35	11,94	10,03
geranial	0,54	0,56	0,48	0,41	0,36	0,22	0,26	0,22	0,19	0,20
acetato de citrionelilo	2,99	3,72	3,87	4,05	3,91	2,94	3,51	3,73	4,14	3,06
eugenol	0,45	0,80	0,94	1,27	1,43	1,04	1,29	1,46	1,58	0,96
acetato de nerilo	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
α -copaeno	0,04	0,07	0,08	0,09	0,10	0,09	0,11	0,10	0,09	0,10
acetato de geranilo	2,75	3,21	3,60	4,00	3,94	3,00	3,61	3,96	4,06	3,51
β -elemeno	1,16	1,60	2,03	2,50	2,95	2,74	3,26	2,91	3,27	3,21
β -cariofileno	0,11	0,17	0,20	0,21	0,24	0,21	0,25	0,26	0,17	0,30
α -humuleno	0,18	0,20	0,27	0,30	0,33	0,32	0,37	0,38	0,38	0,38
α -amorfenol+germacreno D	2,67	4,53	5,88	6,85	7,78	7,27	8,81	6,71	9,96	9,83
α -muuroleno	0,55	0,98	1,34	1,53	1,76	1,73	2,10	2,27	2,21	2,30
g-cadineno	0,65	1,13	1,54	1,74	1,99	1,85	2,27	2,42	2,33	2,36
d-cadineno	1,90	3,39	4,69	5,61	6,58	6,38	7,86	8,88	9,08	9,22
α -cadineno	0,12	0,22	0,31	0,36	0,42	0,41	0,51	0,55	0,53	0,56
elemol	1,18	1,97	3,00	3,97	5,07	6,01	7,44	8,38	9,60	10,86
g-eudesmol	0,09	0,15	0,44	0,51	0,74	1,35	1,72	1,96	2,07	2,71
T-cadinol (<epi- alfa>cadinol)	0,45	0,89	1,82	2,31	2,98	3,09	3,75	4,94	4,65	4,68
TOTAL (% Área)	95,99	92,14	88,89	88,87	87,33	88,43	82,31	81,90	83,59	80,85

O componente geraniol apresentou um comportamento pouco diferenciado. Sua concentração apresentou uma menor variação ao longo do processo, como se observa na tabela 5.4, justificado pelo fato que este composto apresenta uma pressão de vapor intermediária, quando comparado com os compostos identificados nas análises por GC/MS.

Dentre os compostos minoritários de massas molares elevadas, destacam-se: acetato de geraniol (2,75% em 10 minutos de extração / 3,51% em 1,5 horas); β -elemeno (1,16% em 10 minutos de extração / 3,21% em 1,5 horas); α -amorfenol + germacreno D (2,67% em 10 minutos de extração / 9,83% em 1,5 horas); δ -cadineno (1,90% em 10 minutos de extração / 9,22% em 1,5 horas); elemol (1,18% em 10 minutos de extração / 10,86% em 1,5 horas). Este fato demonstra claramente que a variação da composição está diretamente relacionada com a pressão de vapor dos compostos presentes nos óleos essenciais. Resultados semelhantes são encontrados para o γ -eudesmol e T-cadinol (<epi-alfa>cadinol), observando uma significativa elevação na concentração ao longo do processo extrativo. Por exemplo, o composto γ -eudesmol apresentou 0,09% em área nos primeiros 10 minutos e, em 1 hora e 40 minutos, 2,71%. O composto T-cadinol (<epi-alfa>cadinol) 0,45% no início da extração, finalizando a mesma com percentual de 4,68%.

5.2.2. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

São apresentados na Tabela 5.5 os dados experimentais da curva de extração do processo industrial de obtenção do óleo essencial de alecrim a partir das partes aéreas das plantas aromáticas de *Rosmarinus officinalis* L.

Tabela 5.5. Dados experimentais de volume versus tempo da extração do óleo essencial de alecrim.

Tempo (min)	Volume (mL)	Tempo (min)	Volume (mL)	Tempo (min)	Volume (mL)
3,3	70	30,7	2715	59,2	3685
4,6	140	31,6	2770	59,9	3697
5,5	205	32,3	2820	60,6	3709
6,4	270	33,1	2870	61,3	3719
7,1	340	33,9	2910	62,0	3729
7,8	410	34,7	2945	62,8	3739
8,5	490	35,5	2980	63,6	3749
9,1	555	36,2	3015	64,5	3759
9,7	625	36,9	3050	65,3	3769

10,3	695	37,7	3083	66,2	3779
10,8	755	38,5	3123	67,1	3787
11,4	820	39,1	3158	67,9	3795
11,9	890	39,8	3188	68,9	3803
12,5	960	40,5	3218	69,7	3813
13,0	1035	41,2	3248	70,7	3821
13,6	1115	41,7	3278	71,6	3829
14,8	1190	42,7	3308	72,6	3837
15,5	1270	43,4	3333	73,5	3845
16,2	1340	44,1	3358	74,3	3854
16,8	1420	45,2	3383	75,1	3863
17,5	1495	45,6	3408	76,0	3871
18,3	1575	46,3	3428	76,9	3879
19,0	1650	47,0	3448	77,8	3887
19,7	1730	47,8	3463	78,7	3896
20,4	1810	48,6	3478	79,6	3904
21,2	1890	49,3	3496	81,4	3912
21,9	1965	50,1	3514	82,3	3920
22,6	2040	50,9	3532	83,2	3925
23,3	2110	51,7	3547	84,1	3933
24,1	2180	52,5	3562	85,0	3941
24,8	2245	53,2	3577	85,9	3946
25,5	2310	54,0	3590	88,5	3954
26,3	2370	54,8	3605	88,9	3954
27,0	2435	55,6	3618	89,4	3954
27,7	2500	56,3	3631	90,2	3954
28,5	2555	57,1	3644	91,0	3954
29,2	2610	57,8	3657		
30,0	2665	59,2	3672		

De posse dos resultados da Tabela 5.5, é construída a curva de extração do processo industrial (Figura 5.2) de obtenção de alecrim, levando em consideração

que a densidade determinada experimentalmente 0,873 g/mL. O rendimento é calculado a partir das equações 01 e 02.

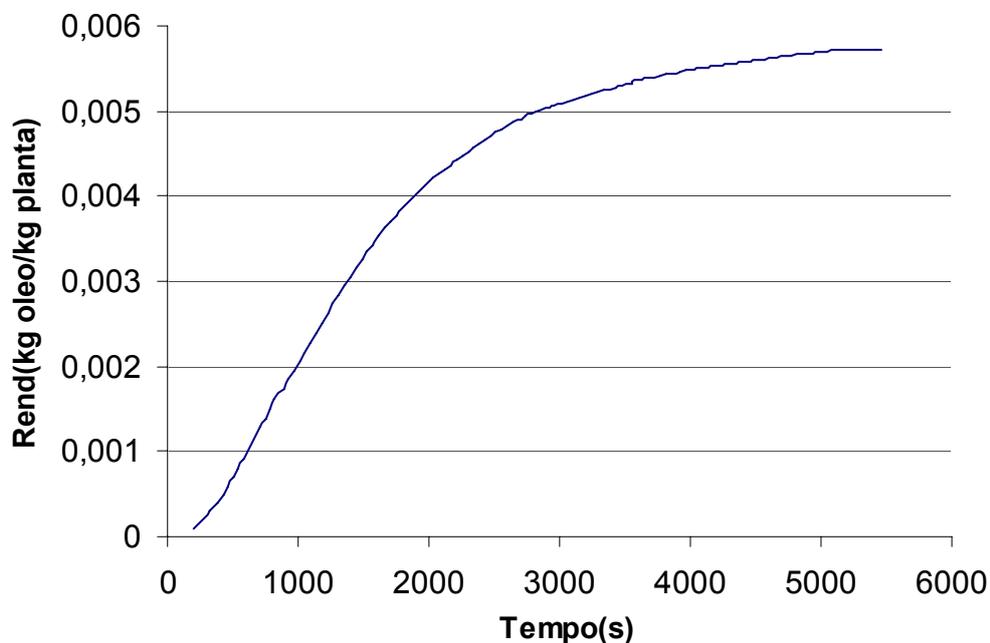


Figura 5.2. Curva de Extração do Óleo Essencial de Alecrim: Rendimento x Tempo.

Os valores resultantes da média das três análises cromatográficas por GC/MS para as 10 amostras dos óleos essenciais de alecrim obtidas por arraste a vapor na unidade industrial da empresa Tekton Óleos Essenciais Ltda. se encontram na Tabela 5.6.

Através dos resultados obtidos pelas análises em triplicatas por GC/MS para cada uma das 10 amostras do óleo essencial de alecrim, coletadas a cada 10 minutos ao longo da extração, permite concluir que o comportamento de um modo genérico é semelhante ao encontrado para o óleo essencial de citronela. Observa-se que a composição dos compostos mais leves diminui ao longo do processo, enquanto que a composição dos compostos mais pesados, conseqüentemente associados a maiores valores de pressão de vapor, aumenta ao longo do processo.

Nos primeiros 10 minutos de extração é possível obter o componente majoritário α -pineno, com composição de 39,72%. Ou seja, no início da extração por arraste a vapor tem-se um óleo de alecrim rico em α -pineno; O percentual deste

composto diminui significativamente ao longo da extração, de modo que, para a última amostra, após 1 hora e 40 minutos, o valor da composição de α -pineno é de 18,41%.

Tabela 5.6. Resultados Análise Cromatográfica por GC/MS do Óleo Essencial de Alecrim obtido em Escala Industrial.

COMPOSTOS	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
	Área									
	Am. 1	Am. 2	Am. 3	Am. 4	Am. 5	Am. 6	Am. 7	Am. 8	Am. 9	Am.10
α - pineno	39,72	39,67	33,13	28,74	23,83	22,41	23,66	20,54	19,42	18,41
Canfeno	6,96	7,15	6,30	5,52	4,58	4,44	4,52	4,03	3,79	3,51
Thuja - 2,4 - dieno	1,36	1,34	1,29	1,27	1,20	1,28	1,32	1,26	1,27	1,28
β - pineno	2,57	2,72	2,59	2,32	1,99	1,95	1,92	1,77	1,67	1,54
Mirceno	1,84	2,01	1,96	1,78	1,52	1,53	1,48	1,40	1,34	1,23
α - phelandreno	0,49	0,53	0,57	0,56	0,54	0,57	0,55	0,55	0,55	0,53
δ - 2 - careno	0,81	0,94	1,01	0,99	0,92	0,96	0,91	0,91	0,90	0,87
Orto - cimeno	1,81	2,93	2,38	3,11	2,04	2,93	3,11	3,00	3,01	2,93
1,8 - Cineol	20,20	22,47	24,67	24,04	21,54	22,21	21,38	21,11	20,78	20,58
γ - terpineno	1,12	1,29	1,44	1,48	1,32	1,42	1,38	1,40	1,40	1,35
Terpinoleno	1,05	1,19	1,37	1,46	1,38	1,51	1,44	1,50	1,54	1,54
Linalol / Ac. Linalol	2,09	1,93	2,40	2,75	3,56	3,00	2,79	2,94	3,04	3,14
Crisantenona	0,78	0,64	0,72	0,72	0,64	0,59	0,15	0,00	0,00	0,00
Canfora	2,46	2,14	2,72	3,23	3,43	3,87	3,46	3,58	3,54	3,63
Borneol	2,50	1,96	2,69	3,30	4,70	5,13	4,73	5,58	5,97	5,86
Terpinen - 4 - ol	0,87	0,71	0,94	1,15	1,34	1,64	1,51	1,66	1,68	1,73
α - terpineol	1,36	1,07	1,41	1,80	2,55	2,96	2,76	3,36	3,32	3,47
Verbenona	4,59	3,74	4,95	6,14	7,57	8,33	8,23	8,98	9,15	9,47
Geraniol	1,58	1,21	1,65	2,16	3,08	3,65	3,68	4,34	4,74	5,02
Acetato de bornila	0,72	0,58	0,78	0,97	1,45	1,40	1,32	1,48	1,54	1,62
(E) - Cariofileno	2,00	1,54	2,16	2,71	3,83	3,95	3,82	4,37	4,59	4,98
Trans - pinocanfona	0,00	0,00	0,54	0,64	0,76	0,99	0,86	0,94	1,01	1,04
Mirtenol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,63	0,61	0,71	0,75	0,81
Metil - eugenol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43	0,48	0,52
α - humoleno	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,78	0,84	0,92
Pinocarvona	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	0,46	0,47
Citronelol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45
TOTAL (% Área)	96,88	97,76	97,66	96,84	93,75	97,35	95,58	97,08	96,78	96,90

O segundo composto majoritário é o 1,8-cineol, que apresenta comportamento diferente do α -pineno. Por apresentar volatilidade intermediária entre os compostos presentes no óleo essencial de alecrim, observa-se que não ocorre uma significativa variação de composição ao longo do processo extrativo (Tabela 5.6).

Observa-se que os compostos canfeno, β -pineno e mirceno, apresentam baixo percentual no início da extração e, este, se reduz praticamente à metade ao final da extração. Logo, para a obtenção de um óleo contendo os compostos citados, o ideal é coletá-lo nos primeiros 10 minutos de extração.

Dentre os minoritários de massas molares mais elevadas destacam-se: canfora (2,46% em 10 minutos de extração / 3,63% em 1,5 horas); borneol (2,50% em 10 minutos de extração / 5,97% em 1,5 horas); terpinen-4-ol (0,87% em 10 minutos de extração / 1,73% em 1,5 horas); α -terpineol (1,36% em 10 minutos de extração / 3,47% em 1,5 horas); verbenona (4,59% em 10 minutos de extração / 9,47% em 1,5 horas); geraniol (1,58% em 10 minutos de extração / 5,02% em 1,5 horas); acetato de bornila (0,72% em 10 minutos de extração / 1,62% em 1,5 horas); (E)-cariofileno (2,00% em 10 minutos de extração / 4,98% em 1,5 horas).

Compostos como a trans-pinocanfona, o mirtenol, metil-eugenol, α -humuleno e a pinocarvona necessitam no mínimo 1,5h de extração para os mesmos serem extraídos, visto que são componentes de elevada massa molecular.

5.2.3. Análise dos Principais Componentes (PCA)

Os resultados das análises cromatográficas foram submetidos à análise multivariada, pela técnica de Análise por Componentes Principais (PCA), correlacionando e agrupando os dados dos componentes químicos em relação a seus percentuais mássicos. Para o óleo essencial de citronela é possível verificar a análise estatística na Figura 5.3. A análise dos dados químicos pela técnica de PCA permitiu agrupar quimicamente as amostras em dois grupos de modo a expressar e evidenciar suas semelhanças e diferenças (Neto, 2010).

Os dados para o óleo essencial de citronela, presentes na Figura 5.3 representada por dois eixos, apresentam 93,65% da variância total acumulada (Fator 1: 66,79% - plano fatorial 1; Fator 2: 26,86% - plano fatorial 2). Esse valor percentual indica a porcentagem do quanto está correto o agrupamento, pois quanto

maior o fator melhor é a resolução e menor será a perda de informações de dados durante o agrupamento das amostras (Neto, 2010).

Observa-se que as amostras M3, M4 e M5 apresentam semelhanças, são variáveis dependentes em relação mássica. Outro grupo, M7, M9 e M10, evidenciaram familiaridade, concordância entre essas amostras e maior dependência em relação às suas massas percentuais.

De maneira contrária, pôde-se observar a relativa diferença entre M1 e M2 em relação às M3, M4 e M5. Para M6, a dispersão é ainda mais elevada, provavelmente fruto de alguma contaminação da amostra antes das análises cromatográficas, visto que a mesma se diferencia drasticamente de todas as demais. Quanto a amostra 8 também se observa um desvio em relação ao comportamento da amostras da vizinhança.

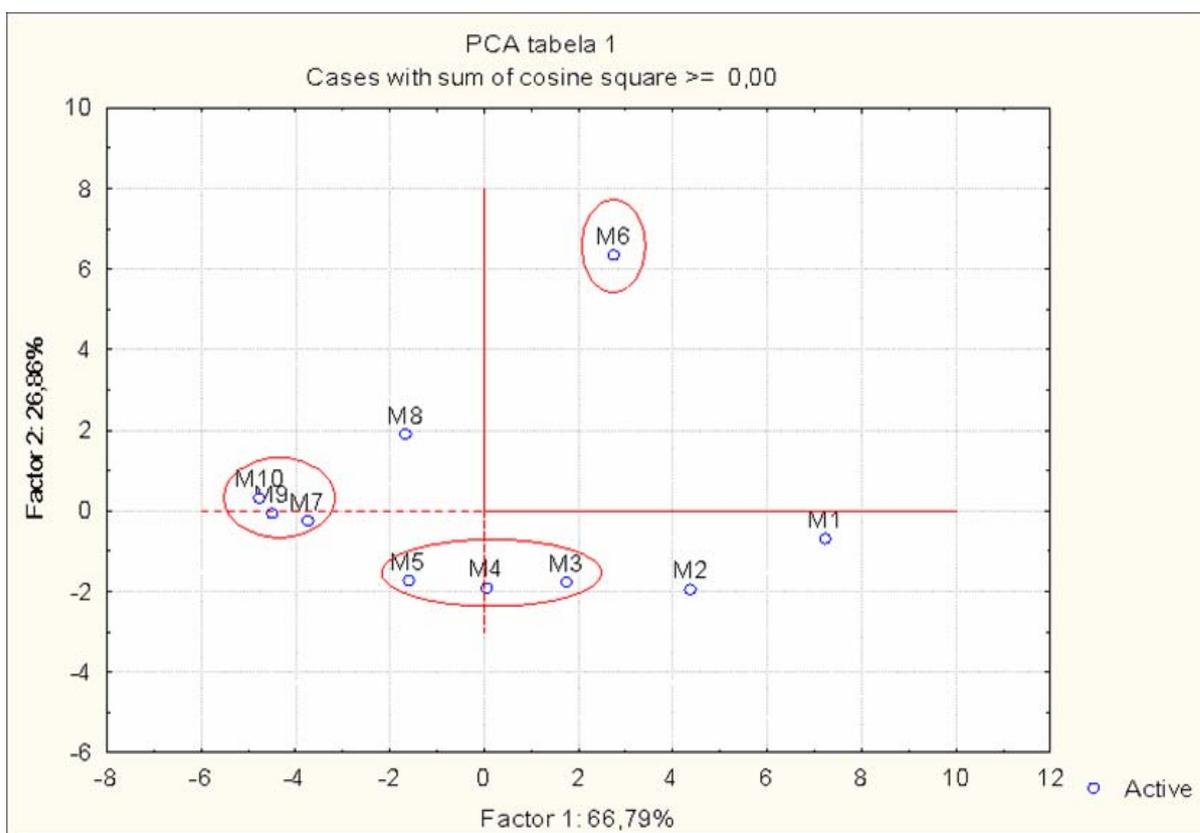


Figura 5.3. Gráfico resultante do PCA para as análises cromatográficas do óleo essencial de citronela.

O dendograma da Figura 5.4, para o óleo essencial de citronela, corrobora com os resultados previamente discutidos em função da Figura 5.3. Fica claro o agrupamento existente entre os grupos formados pelas amostras M3, M4 e M5 e pelas amostras M7, M9 e M10. Isto significa que estatisticamente não existe uma diferença significativa entre as composições dos óleos essenciais obtidas nestes tempos de extração. Um fator importante é que o dendograma classifica a amostra M1 em um grupo diferente em relação aos demais, resultado pouco perceptível na Figura 5.4.

O resultado obtido para a amostra M6 é bastante importante por demonstrar claramente um erro experimental associado a ela, que possivelmente é fruto da contaminação do frasco de coleta utilizado. O ponto positivo deste erro foi a comprovação da eficiência da metodologia PCA para o estudo em questão, visto que possíveis erros experimentais são detectados pela técnica.

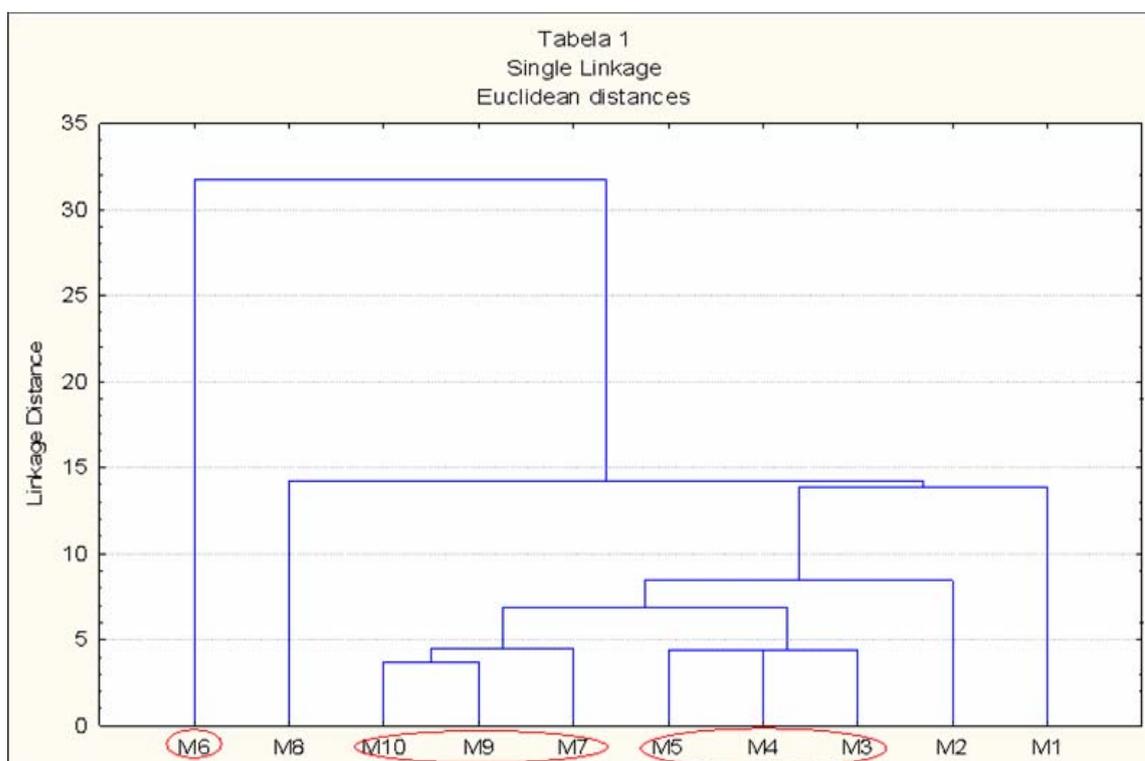


Figura 5.4. Dendograma obtido através do PCA de compostos químicos presentes no óleo essencial de citronela.

Os dados para o óleo essencial de alecrim, presentes na Figura 5.6 representada por dois eixos, apresentam 85,12% da variância total acumulada (Fator 1: 67,69% - plano fatorial 1; Fator 2: 17,43% - plano fatorial 2). Esse valor percentual indica a porcentagem do quanto está correto o agrupamento, pois quanto maior o fator melhor é a resolução e menor será a perda de informações de dados durante o agrupamento das amostras (Neto, 2010).

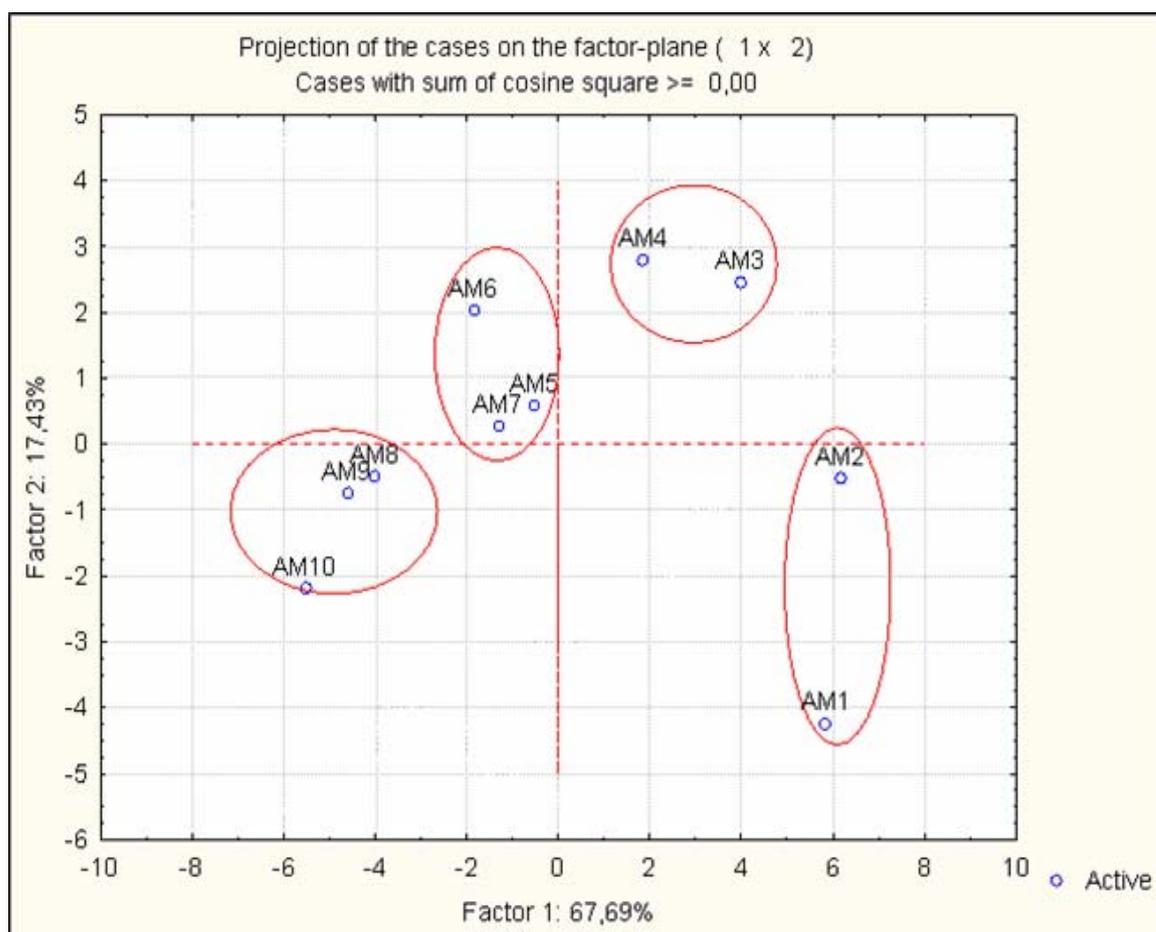


Figura 5.5. Gráfico resultante do PCA para as análises cromatográficas do óleo essencial de alecrim.

Para o óleo essencial de alecrim, a análise dos resultados da cromatografia gasosa pela técnica de PCA permitiu agrupar quimicamente as amostras em quatro grupos, de modo a expressar e evidenciar suas semelhanças e diferenças. Para este óleo essencial o PCA agrupou as amostras em função do tempo de extração, conseqüentemente em função das pressões de vapor destes compostos. Outro resultado importante é que foram divididas claramente as amostras M1, M2, M3 e

M4 na metade positiva do Fator 1, enquanto as demais na metade negativa, indicando uma clara diferença entre estes dois grupos, como esperado previamente.

O dendograma da Figura 5.6, para o óleo essencial de alecrim demonstra claramente a formação de 04 grupos distintos, formados pelas amostras: M1 e M2; M3 e M4; M5, M6 e M7; M8, M9 e M10. Isto significa que estatisticamente não existe uma diferença significativa entre as composições dos óleos essenciais obtidos nestes tempos de extração.

Ao contrário do que ocorreu para a amostra M6 da Figura 5.5, no caso do óleo essencial de alecrim não se observa erros experimentais através da técnica do PCA.

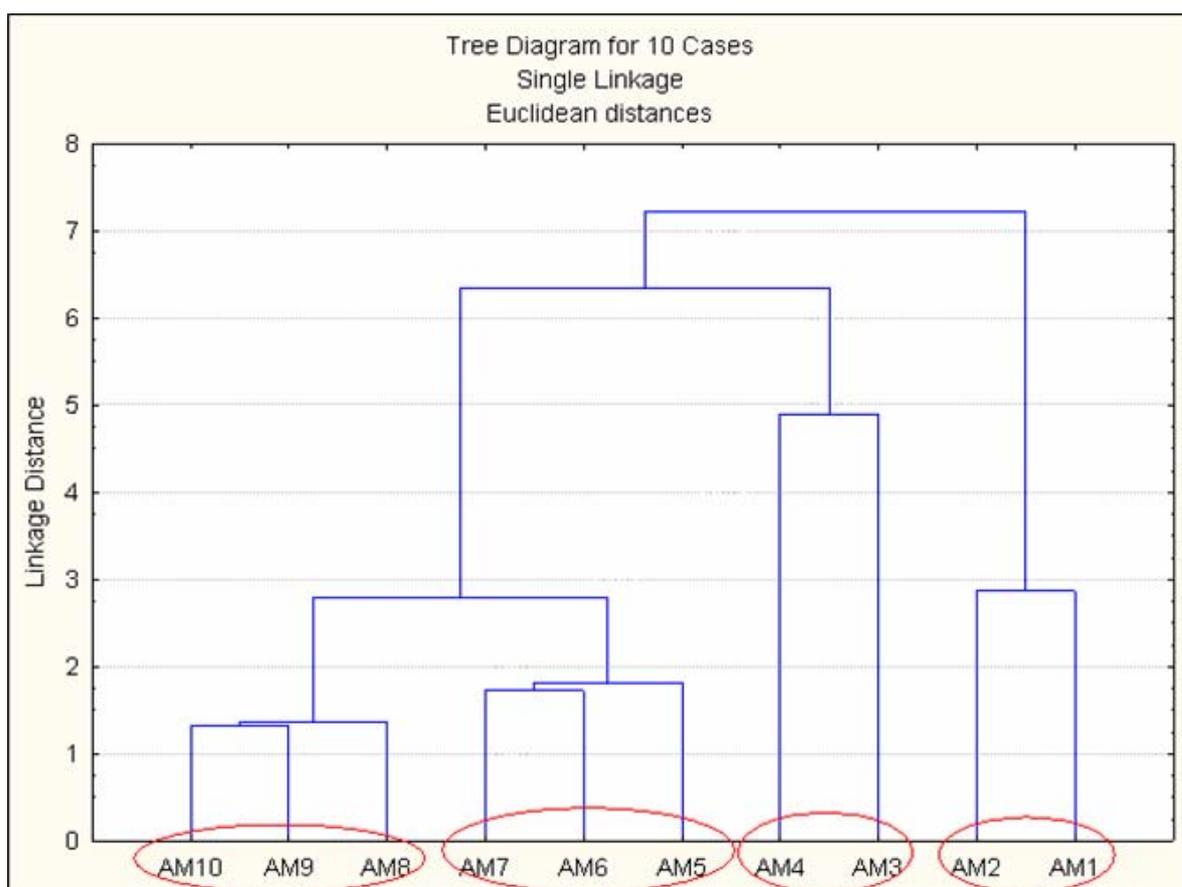


Figura 5.6. Dendograma obtido através do PCA de compostos químicos presentes no óleo essencial de alecrim.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que a extração por arraste a vapor em escala laboratorial apresenta menor quantidade de compostos em relação à extração obtida via escala industrial, em função das condições físico-químicas que envolvem os processos. O percentual mássico e a qualificação das amostras dos óleos essenciais de citronela e alecrim, extraídos via laboratorial e industrial, puderam ser obtidos através de análises em GC/MS.

As análises por GC/MS para os óleos, citronela e alecrim, obtidas pelo processo industrial foram submetidas a um tratamento de dados de multivariáveis, pelo método PCA. Através deste método, foi possível classificar e agrupar as amostras dos óleos essenciais em distintos grupos, identificando dessa forma diferenças e familiaridades existentes entre elas.

A investigação da composição das amostras como função do tempo, visando à eliminação de uma operação unitária de fracionamento, uma vez que, a composição dos extratos recolhidos em tempos distintos ao longo processo extrativo é variante, fica evidenciada.

As composições químicas, dos óleos essenciais de citronela e alecrim, foram estudadas com a intenção de saber a que tempo, ao longo do processo extrativo, os principais compostos de interesse serão extraídos. As amostras de óleo essencial analisadas forneceram resultados suficientes para se traçar o perfil de concentração destes compostos com o tempo de extração. Sabendo-se o tempo ideal de coleta de amostras evita-se o fracionamento desses óleos posteriormente, o que reduz custos e gastos energéticos.

7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados oriundos deste trabalho, propõem-se tópicos que podem ser estudados em trabalhos futuros. Como destaque pode-se enumerar os seguintes:

1. Reproduzir os ensaios executados nesta dissertação em escala piloto com o objetivo de avaliar a reprodutibilidade dos mesmos quando comparados aos resultados obtidos em escala industrial.
2. Avaliar o efeito das condições climáticas na composição das frações dos óleos essenciais, isto é, reproduzir os experimentos de pré-fracionamento em outras estações do ano.
3. Avaliar o efeito das condições climáticas na composição das frações dos óleos essenciais e reproduzir os experimentos de pré-fracionamento nas mesmas estações em anos distintos.
4. Utilizar as amostras obtidas pelo pré-fracionamento em diferentes aplicações como ensaios antimicrobianos, ensaios de ação antioxidante, ensaios de ações acaricidas e outras.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry**. 4th ed. Allured Publishing Corporation. 2008.

ARCTANDER, S. **Perfume and flavour materials of natural origin**. Allured, 1960.

ARUOMA, O. I. An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and Provençal herbs. **Food Chem. Toxicol.** v. 34, p. 449-456, 1996.

BANDONI, A. L. **Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: seu aproveitamento industrial para a produção de aromas e sabores**. Vitória: EDUFES, 2008.

BANDONI, A. L. **Los recursos vegetales aromáticos em Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores**. 1. ed. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, 2000.

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

BIZZO, H.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim. Nova**, vol. 32, n. 3, 2009.

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

BREMNESS, L. **Plantas Aromáticas**. São Paulo: Civilização, 1993.

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

BUCHBAUER, G. Methods in Aromatherapy Research. **Perfum. & Flav.** v. 21, n. 3, p. 31-36, 1996.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. **J. Mex. Chem. Soc.** v. 55, p. 57-60, 2006.

CASSEL, E.; SERAFINI, L. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindustrial nacional. In: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Coord.). **Biotecnologia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, p. 333-377, 2001.

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

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

CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros**. São Paulo: SENAC 2002.

CORREA Jr, C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2 ed., Jaboticabal, FUNEP, 162p. 1994.

CUVELIER, M. E. Behavior of phenolic antioxidants in a partitioned medium: Structure-activity relationship. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 77, p. 819-823, 2000.

ENGLBERGER, W. Rosmarinic acid: a new inhibitor of complement C3 convertase with antiinflammatory activity. **Int. J. Immunopharmacol.** v. 10, p. 729-737, 1998.

FACCAT (Faculdades Integradas de Taquara): Escola Ambiente. Disponível em: < <http://escolaambiente.faccat.br/alecrim.html>>. Acessado em: 12 dez. 2009.

FENAROLI, G. **La sostanze aromatiche**. Sostanze aromatiche naturali. Ed. Hoepli, 1963.

FEPAGRO. **Boletim Técnico da Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária**. n. 11, mar. 2003.

FRANKEL, E. N. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. **J. Agric. Food Chem.** v. 44, p. 131-135, 1996.

GUENTHER, E. **The essential oils**. vols. 1, 2 e 3. Florida: Krieger Publishing Company, 1976.

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

HERTWIG, I. F. Von. **Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem, comercialização**. 2 ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.

HOOSER, S. B. D-limonene, linalool and crude citrus oil extracts. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 20, n. 2, p. 383-385, 1990.

HOPIA, A. I. Effect of different lipid systems on antioxidant activity of rosemary constituents carnosol and carnosic acid with and without R-tocopherol. **J. Agric. Food Chem.** v.44, p. 2030-2036, 1996.

HUET, R. Les huiles essentielles d'agrumes. **Fruits**, v. 46, n. 4, p. 501-513, 1991.

KAJIWARA, T. Volatile compounds from japanese marine brown algae. In: TERANISHI, R. **Bioactive volatile compounds from plants**. Washington: ACS, p. 103-120, 1993.

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

LANÇAS, F. M.; CAVICHIOLI, M. Analysis of the essential oils brazilian citrus fruits by capillary gas chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 13, p. 207-209, 1990.

LAWRENCE, B. M. Uncommon essential oils as sources of common natural aroma chemicals. **Perfum. Flav.** n.10:55, p. 45-58. Allured, 1985.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1987.

NETO, J. M. M. Estatística Multivariada, **Filosofia da Ciência**. Disponível em: <http://criticanarede.com/cien_estatistica.html 8/6/2008> Acesso em: 09 mai. 2004.

NETO, J. M. M. Estatística Multivariada, **Filosofia da Ciência**. Disponível em: <http://criticanarede.com/cien_estatistica.html 8/6/2008> Acesso em: 04 jan. 2010.

NIST. **05 Spectral Library**. NIST Mass Spectrometry, 1990.

NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Biodiversidade, aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2000.

PEREZ-ALONSO, M. J. Composition of the essential oil of *Teucrium fruticans L.* from the Maremma Regional Park (Tuscany, Italy). **Essential Oil Res.** v. 7, p. 73, 1995.

PINTORE, Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. **Flavour Fragr.** v. 17, p. 15–19, 2002.

PRADO, P. I. Ordenação Multivariada na Ecologia e seu Uso em Ciências Ambientais. **Ambiente e Sociedade**, Campinas, v.10, p. 69-83, 2002.

RODRIGUEZ AVALOS, F.; RODRIGUEZ ESPEJO, M. R. Substancias volátiles de algunas especies del género *Dictyopteris* (*Phaeophyta*). Peru: *Arnoldoa*. v. 1, n. 2, p. 101-106, 1991.

SAHOO, S.; DEBATA, B. K. Recent advances in breeding and biotechnology of aromatic plants: *Cymbopogon* species. **Plant Breeding Abstracts**, v. 65, n. 12, 1995.

SANCEVERO, S. S. Aplicação de técnicas de estatística multivariada na definição da litologia a partir de perfis geofísicos de poços. **Revista Brasileira de Geociências**. v. 38, p. 61-74, 2008.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2000.

SCHEFFER, J. J. C. The isolation of essential oils-factors influencing the oil composition. **Acta Hort.** 344, p. 2-8, 1993.

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

SERAFINI, L. A.; Barros, N.M.; Azevedo, J. L. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002.

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

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2000, p. 387-415.

SMITH, L. I. **A tutorial on Principal Components Analysis**. v. 26, 2002.

STEINEGGER, E.; HANSEL, R. **Pharmakognosie**. 5. ed. Berlin: Springer, 1992.

TANU, P. A.; ADHOLEYA, A. Effect of different organic manures/composts on the herbage and essential oil of *Cymbopogon winterianus* and their influence on the native AM population in a marginal alfisol. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 311-319, 2004.

TAWATSIN, A. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. **Journal of the society for vector ecology**, v. 26, p. 76-82, 2001.

VIEIRA, P. Plantas inseticidas. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia**. Porto Alegre: UFRGS, 2000.