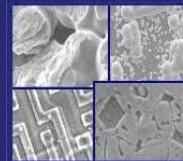




PUCRS

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

## **INVESTIGAÇÃO SOBRE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE *BACCHARIS* NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL**

**VANESSA BARBIERI XAVIER**

ENGENHEIRA QUÍMICA

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

**Porto Alegre**

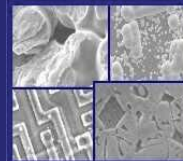
**Novembro, 2011**



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

## **INVESTIGAÇÃO SOBRE COMPOSTOS VOLÁTEIS DE ESPÉCIES DE BACCHARIS NATIVAS DO RIO GRANDE DO SUL**

**VANESSA BARBIERI XAVIER**

ENGENHEIRA QUÍMICA

ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO CASSEL

Dissertação de Mestrado 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.

*Trabalho vinculado ao Projeto CAPES UDELAR*

**Porto Alegre**

**Novembro, 2011**

*A adversidade desperta em nós  
capacidades que, em  
circunstâncias favoráveis, teriam  
ficado adormecidas.  
(Horácio)*

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida, que estiveram sempre ao meu lado, meus pais, João e Clair.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para construção desta dissertação.

Ao professor Eduardo Cassel, pela orientação, incentivo e oportunidade de aprendizado desde a graduação.

A todos que participaram comigo do projeto PRAIAS: Prof<sup>a</sup>. Marlise Santos, Prof. Cláudio Mondin, Prof. Leandro Astarita, Prof<sup>a</sup>. Eliane Santarem e ao aluno de graduação Tiago Sartor.

A equipe do LOPE, por todo apoio durante os experimentos e estágio de docência, realizados no Brasil: Aline Lucas, professor Rubem Vargas, Luis Fernando Baladão, Alberth Medeiros, Guilherme Rossa, Roberto Góes Neto, Manuel Falcão e Marcos Pereira.

Aos colegas e professores do PGTEMA pelos novos conhecimentos adquiridos durante a realização do mestrado, e as minhas amigas Juliana e Máurean pelo companheirismo.

A CAPES pelas bolsas concedidas.

Ao professor Eduardo Dellacassa por todo apoio durante minha estada no Uruguai para realizar o mestrado sanduíche, tanto na realização dos experimentos como na adaptação no país. E a toda equipe da Cátedra de Farmacognosia e Produtos Naturais da Faculdade de Química da Universidad de La República (UDELAR - Montevideu - Uruguai), especialmente a Natália Martinez, ao mestrando Manuel Minteguiaga, a professora Ana Bertucci, a Ana Bonini e ao amigo Ignacio Miguez por todo apoio e auxílio na realização dos experimentos e treinamentos realizados no Uruguai.

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA .....</b>	<b>4</b>
<b>AGRADECIMENTOS .....</b>	<b>5</b>
<b>SUMÁRIO .....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>8</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>11</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>13</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....</b>	<b>14</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>15</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>16</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
2.1. Objetivos Específicos .....	20
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>22</b>
3.1. <i>Baccharis spp.</i> .....	22
3.1.1. <i>Baccharis anomala</i> DC. ....	25
3.1.2. <i>Baccharis dentata</i> (Vell.) G.M. Barroso.....	26
3.1.3. <i>Baccharis uncinella</i> DC.....	27
3.2. Óleos essenciais .....	27
3.3. Extração de óleos essenciais .....	29
3.3.1. Destilação por arraste a vapor .....	30
3.4. Modelagem matemática do processo de extração.....	31
3.5. Análise por cromatografia gasosa / espectrometria de massas (CG/EM) ..	34
3.6. Análise olfatométrica .....	36
3.7. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas.....	40
3.7.1. Bioautografia.....	42
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>44</b>
4.1. Coleta e acondicionamento do material vegetal .....	44
4.2. Extração dos óleos essenciais por destilação por arraste a vapor .....	45

<b>4.3. Modelagem matemática do processo de destilação por arraste a vapor ...</b>	<b>46</b>
<b>4.4. Análise por cromatografia gasosa/ espectrometria de massas (CG/EM) ...</b>	<b>50</b>
<b>4.5. Análise olfatométrica .....</b>	<b>51</b>
<b>4.6. Determinação da atividade antimicrobiana .....</b>	<b>53</b>
4.6.1. Preparação dos Meios de Cultura para bactérias .....	54
4.6.2. Preparação dos Meios de Cultura para fungos .....	54
4.6.3. Bioautografia .....	55
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>56</b>
<b>5.1. Destilação por arraste a vapor .....</b>	<b>56</b>
<b>5.2. Modelagem matemática do processo de destilação por arraste a vapor ...</b>	<b>57</b>
<b>5.3. Análise por cromatografia gasosa/espectrometria de massas (CG/EM) ....</b>	<b>59</b>
<b>5.4. Análise olfatométrica .....</b>	<b>70</b>
<b>5.5. Determinação da atividade antimicrobiana pela bioautografia indireta.....</b>	<b>79</b>
5.5.1. Experimentos com bactérias.....	79
5.5.2. Experimentos com fungos .....	81
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>85</b>
<b>7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>87</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>88</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>98</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. <i>Baccharis anomala</i> DC.....	26
Figura 3.2. <i>Baccharis dentata</i> (Vell.) G.M. Barroso.....	26
Figura 3.3. <i>Baccharis uncinella</i> DC. ....	27
Figura 3.4. Montagem do equipamento de extração por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial. CA: caldeira (balão com resistência imersa); VE: vaso de extração; BT: banho termostático; CL: cleveger.	31
Figura 3.5. Funcionamento básico de um cromatógrafo gasoso - [1] cilindro de gás de arraste, [2] e [3] controladores de fluxo de gás, [4] sistema de injeção de amostra, [5] forno para aquecimento da coluna, [6] coluna cromatográfica, [7] detector, [8] sistema de aquisição de dados. ....	35
Figura 3.6. Esquema do cromatógrafo CG/FID/O, que mostra a divisão de fluxo ao final da coluna capilar. ....	38
Figura 3.7. Esquema ampliado da porção final do detector olfatométrico. ....	40
Figura 4.1. Sede do Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata. ....	44
Figura 4.2. Unidade laboratorial de destilação por arraste a vapor utilizada para extração dos óleos essenciais das espécies de <i>Baccharis</i> .....	45
Figura 4.3. Equipamento de cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas (CG/MS) que foi utilizado nas análises dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor. ....	51
Figura 4.4. Cromatógrafo CG/FID/O utilizado na análise dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor. ....	53
Figura 4.5. Esquema gráfico da bioautografia indireta realizada. ....	55
Figura 5.1. Curvas de rendimento <i>versus</i> tempo da extração por destilação por arraste a vapor do óleo essencial de <i>B. anomala</i> : (—) modelo matemático e dados experimentais (■ – janeiro; ▲ – maio).....	58
Figura 5.2. Curvas de rendimento <i>versus</i> tempo da extração por destilação por arraste a vapor do óleo essencial de <i>B. dentata</i> : (—) modelo matemático e dados experimentais (■ – janeiro; ▲ – maio).....	58



- Figura 5.3. Curvas de rendimento *versus* tempo da extração por destilação por arraste a vapor do óleo essencial de *B. uncinella*: (—) modelo matemático e dados experimentais (■ – janeiro; ▲ – maio). ..... 59
- Figura 5.4. Comparação entre o cromatograma e o aromagrama obtidos da análise CG/FID/O do óleo essencial de *B. anomala*. ..... 76
- Figura 5.5. Comparação entre o cromatograma e o aromagrama obtidos da análise CG/FID/O do óleo essencial de *B. dentata*. ..... 77
- Figura 5.6. Comparação entre o cromatograma e o aromagrama obtidos da análise CG/FID/O do óleo essencial de *B. uncinella*. ..... 78
- Figura 5.7. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Staphylococcus aureus*. BA = *B. anomala*, BD = *B. dentata* e BU = *B. uncinella*. ..... 79
- Figura 5.8. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar *Choleraesuis*. BA = *B. anomala*, BD = *B. dentata* e BU = *B. uncinella*. .80
- Figura 5.9. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Pseudomonas aeruginosas*. BA = *B. anomala*, BD = *B. dentata* e BU = *B. uncinella*. ..... 80
- Figura 5.10. Aplicação do óleo essencial. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila). ..... 81
- Figura 5.11. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Candida albicans*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila). ..... 82
- Figura 5.12. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Aspergillus niger*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila). ..... 83
- Figura 5.13. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Candida parapsilosis*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila). ..... 83

Figura 5.14. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Rhizopus stolonifer*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila). .....84

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 4.1. Exemplo de tabela utilizada, que foi contruída juntando as tabelas dos quatro avaliadores.....52
- Tabela 4.2 Exemplo de tabela utilizada, que foi construída com comparações realizadas a partir da tabela 4.1 e com o resultado do cálculo obtido da equação 4.19 acima.....53
- Tabela 5.1. Dados experimentais dos rendimentos médios (mL) por tempo (min) da extração dos óleos essenciais de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella* dos meses de janeiro e maio de 2011. ....56
- Tabela 5.2. Rendimento máximo de extração do óleo essencial de *Baccharis spp.* por destilação por arraste a vapor em Janeiro e Maio. ....57
- Tabela 5.3. Parâmetros estimados para o modelo de transferência de massa relativos à extração do óleo essencial de *Baccharis ssp.* por destilação por arraste a vapor. ....58
- Tabela 5.4. Composição percentual do óleo essencial de *B. anomala* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.....60
- Tabela 5.5. Composição percentual do óleo essencial de *B. anomala* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de maio de 2011.....61
- Tabela 5.6. Composição percentual do óleo essencial de *B. dentata* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.....63
- Tabela 5.7. Composição percentual do óleo essencial de *B. dentata* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de maio de 2011.....65
- Tabela 5.8. Composição percentual do óleo essencial de *B. uncinella* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.....66
- Tabela 5.9. Composição percentual do óleo essencial de *B. uncinella* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de maio de 2011.....68
- Tabela 5.10. Dados obtidos da caracterização do perfil olfativo do óleo essencial de *B. anomala* extraído por arraste a vapor de plantas coletadas no mês de maio de 2011. ....70
- Tabela 5.11. Dados obtidos da caracterização do perfil olfativo do óleo essencial de *B. dentata* extraído por arraste a vapor de plantas coletadas no mês de maio de 2011. ....72

Tabela 5.12. Dados obtidos da caracterização do perfil olfativo do óleo essencial de <i>B. uncinella</i> extraído por arraste a vapor de plantas coletadas no mês de janeiro de 2011. ....	73
Tabela 5.13. Resultados da atividade antibacteriana para os óleos essenciais das espécies estudadas. ....	79
Tabela 5.14. Resultados da atividade antifúngica para os óleos essenciais das espécies estudadas. ....	82

## LISTA DE QUADROS

Quadro 3.1. Atividades farmacológicas de algumas espécies de <i>Baccharis</i> . ....	23
Quadro 4.1. Localização geográfica das coletas das espécies de <i>Baccharis spp.</i> ...	44
Quadro 4.2 Portaria nº 15 da ANVISA: Microorganismo para avaliação da ação antimicrobiana. ....	54

## LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa
CG/CG	Cromatografia gasosa multidimensional
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG/O	Cromatografia gasosa/olfatometria
CG/FID/O	Cromatografia gasosa com detector de ionização em chama/olfatometria
CPCN	Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata
EM	Espectrometria de massas
FENG	Faculdade de Engenharia
IR	Índice de retenção
IRL	Índice de retenção linear
LAPA	Laboratório de Processos Ambientais
LOPE	Laboratório de Operações Unitárias
PUCRS	Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
TR	Tempo de retenção
tr	Componente traço (< 0,1%)
UDELAR	Universidad de La República

## RESUMO

XAVIER, Vanessa Barbieri. **Investigação sobre compostos voláteis de espécies de *Baccharis* nativas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre. 2011. Dissertação. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

As espécies do gênero *Baccharis* spp. (Compositae) são uma importante fonte de pesquisa para busca de novos princípios ativos para produtos naturais medicinais. Logo, o presente trabalho apresenta uma investigação sobre compostos voláteis de três espécies de *Baccharis* nativas (*Baccharis anomala* DC, *Baccharis dentata* (Vell) G. M. Barroso e *Baccharis uncinella* DC) coletadas em janeiro e maio de 2011, em São Francisco de Paula (RS) no Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata (CPCN-Pró-Mata). Para tanto, foram realizadas: extrações do óleo essencial por destilação por arraste a vapor, análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), análise olfatométrica (CG/FID/O) e avaliação qualitativa do potencial antimicrobiano utilizando o método da bioautografia indireta frente aos microorganismos: *S. aureus*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosas*, *C. albicans*, *A. niger*, *C. parapsilosis*, *C. neoformans*, *Rh. stolonifer*, *F. solani* e *A. Oryzae*. Além disso, foi realizada a modelagem matemática do processo de extração por destilação por arraste a vapor, baseada na transferência de massa, que foi aplicada para correlacionar os dados experimentais de rendimento de óleos voláteis *versus* tempo. Os resultados mostraram que a época de coleta tem influência sobre as composições dos óleos essenciais, porém pouca sobre o rendimento. O modelo matemático aplicado correlacionou bem os dados experimentais. Os óleos de *B. anomala* e *B. uncinella* podem ser utilizados como saneantes. As análises de CG/EM e CG/FID/O são necessárias devido às diferenças de intensidade dos compostos voláteis detectados nos dois resultados. Este estudo fornece novos perfis olfatométricos para as três espécies de *Baccharis* estudadas, assim como resultados inéditos para as composições químicas dos óleos essenciais de *Baccharis anomala* e *Baccharis dentata*.

Palavras-Chaves: *Baccharis* spp., destilação por arraste a vapor, modelagem matemática, cromatografia gasosa, análise olfatométrica e bioautografia indireta.

## ABSTRACT

XAVIER, Vanessa Barbieri. **Research on volatile compounds of native species of Baccharis from Rio Grande do Sul.** Porto Alegre. 2011). Master Thesis. Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The species of *Baccharis spp.* (Compositae) are an important source of research to investigation new active ingredients for medicinal natural products. Thus, this work presents a proposition of research on volatile compounds of three native species of *Baccharis* (*Baccharis anomala* DC, *Baccharis dentata* (Vell) G. M. Barroso and *Baccharis uncinella* DC) collected in January and May of 2011, in São Francisco de Paula (RS) in Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata (CPCN Pró-Mata). For this, it was performed the extraction of essential oil by steam distillation, the analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS), olfactometry analysis (GC/FID/O) and qualitative evaluation of antimicrobial activity against *S. aureus*, *S. choleraesuis*, *P. aeruginosas*, *C. albicans*, *A. niger*, *C. parapsilosis*, *C. neoformans*, *Rh. stolonifer*, *F. solani* e *A. Oryzae* using the bioautography indirect method. Moreover, it was performed the mathematical modeling of extraction process by steam distillation, based on mass transfer, which was applied to correlate the experimental data of yield versus time of volatile oil. The results showed that the time of the collection has influence on the compositions of essential oils, but a little influence on the yield. The mathematical model applied were correlated the experimental data. The essential oils of *Baccharis anomala* and *Baccharis uncinella* can be used as disinfectants. The analysis of GC/MS and GC/FID/O are needed due to differences in intensity of volatile compounds detected in the two analysis. This study provides new olfactometric profiles for the three species of *Baccharis* studied and new results for the chemical compositions of essential oils of *Baccharis anomala* and *Baccharis dentata*.

Key-words: *Baccharis spp.*, steam distillation, mathematical model, gas chromatography, olfactometry analysis and bioautography indirect.



## 1. INTRODUÇÃO

Devido à biodiversidade característica do Brasil, a utilização de recursos naturais é amplamente estudada por vários pesquisadores e empresas de base tecnológica em nosso país. Diversas espécies do gênero *Baccharis* são objetos de trabalhos de pesquisa nas últimas décadas devido a sua importância crescente como fonte de novos princípios ativos com diferentes aplicações (Frizzo et. al., 2001). A fitoquímica do gênero *Baccharis* é extensivamente estudada, tendo-se isolado mais de 150 compostos. Os compostos mais proeminentes deste gênero são os diterpenos, além de compostos fenólicos e do óleo essencial (Abad e Bermejo, 2007).

O desenvolvimento da indústria de óleos essenciais no Brasil foi impulsionado, num primeiro momento, pela escassez de matérias-primas durante e logo após a Segunda Guerra Mundial. Neste cenário, floresceram as exportações de óleo de sassafrás, pau-rosa, menta e cítricos. Já na segunda metade dos anos 50 e início da década seguinte, diversas empresas produtoras de especialidades químicas e indústrias de alimentos se instalaram no Brasil, incrementando a demanda interna por óleos essenciais, neste período, certas empresas produtoras de óleo tomaram a iniciativa de introduzir espécies aromáticas no país. Logo, a investigação dos diferentes constituintes dos óleos essenciais, presentes nas espécies de *Baccharis* de ocorrência no CPCN Pró-Mata (Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata), localizado em São Francisco de Paula (Rio Grande do Sul), gera uma expectativa para a detecção de novas moléculas com uso comercial, atraindo a atenção da indústria de essências nativas e fitoterápicas.

Para este estudo foram selecionadas as espécies, *Baccharis anomala* DC, *Baccharis dentata* (Vell) G. M. Barroso e *Baccharis uncinella* DC em função da

carência de estudos sobre as mesmas e a disponibilidade de material vegetal para a realização dos estudos propostos para esta dissertação. Basicamente os estudos disponíveis na literatura estão relacionados ao potencial terapêutico de partes aéreas de *B. anomala* utilizadas como diurético (Alice et al., 1985) e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *B. uncinella* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Ferronato et al., 2007). Quanto ao óleo essencial de *B. dentata* verificou-se a inexistência de estudos na literatura e pode-se dizer que se inicia com o estudo que está associado a esta dissertação (Xavier et al., 2011).

O material vegetal seco, basicamente as partes aéreas (folhas e galhos), foi processado pela operação de destilação por arraste a vapor. Este método é muito utilizado pela indústria por ser de fácil operação e atender às exigências para a obtenção de óleos essenciais (Cerpa et. al., 2008). Outro ponto positivo é o baixo custo, quando comparado com os métodos tecnológicos mais avançados como, por exemplo, a extração com fluido supercrítico (Cassel e Vargas, 2006). Além disso, foi realizado o estudo e implantação da modelagem matemática do processo extrativo, embasada na transferência de massa (Xavier et. al., 2011), visando correlacionar os dados experimentais de rendimento *versus* tempo.

Os óleos essenciais extraídos foram analisados qualitativamente e quantitativamente por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), utilizando duas colunas capilares com polaridades diferentes. Este método é muito adequado para a identificação dos componentes dos óleos essenciais, visto que o número de componentes é elevado e a estrutura dos mesmos é semelhante. Este fato dificulta a separação dos mesmos no interior da coluna cromatográfica, assim o uso de mais de uma coluna, com polaridades diferentes, facilita a identificação dos compostos.

Foi utilizada a técnica de olfatometria acoplada à cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (CG/FID/O) para avaliar os componentes presentes nos óleos essenciais através da correlação dos odores com os picos cromatográficos. Isto é possível porque as substâncias eluídas são percebidas

simultaneamente por dois detectores, sendo um deles o sistema olfativo humano (Meilgaard, 1991; Richardson, 1999).

O óleo essencial também foi avaliado com relação ao seu potencial antimicrobiano frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis (ATCC 10708), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Aspergillus niger* (ATCC 16404), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 14116), *Rhizopus stolonifer* (ATCC 6227b), *Fusarium Solani* (ATCC 36031) e *Aspergillus oryzae* (ATCC 10124), utilizando o método da bioautografia indireta. Esta tem sido mencionada como uma metodologia eficiente para a avaliação antimicrobiana de compostos voláteis, pois ela minimiza os erros devido a efeitos de difusão, característicos em outros métodos de determinação de atividade antimicrobiana, constituindo-se numa ferramenta útil para o desenvolvimento de compostos antimicrobianos a partir de misturas complexas de extratos vegetais e óleos essenciais (Furlan e Lopez, 2006).

Este estudo está vinculado ao projeto Capes/Udelar que tem por objetivo a valorização dos recursos vegetais da região sul-americana mediante o uso de plantas nativas do gênero *Baccharis* orientando à busca de extratos com potencial de comercialização. Este objetivo passa pelo estudo químico sistemático de plantas do gênero *Baccharis* da flora nativa, já identificadas no Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata (CPCN Pró-Mata) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), do desenvolvimento tecnológico dos processos produtivos extratos naturais, de um rigoroso controle de qualidade dos produtos obtidos e de um estudo de aplicações dos extratos obtidos. O projeto Capes/Udelar é uma parceria do Laboratório de Operações Unitárias (LOPE) da PUCRS com o Cátedra de Farmacognosia e Produtos Naturais da Facultad de Química, Universidad de La República (UDELAR) de Montevideu - Uruguai. Logo, uma parte dos experimentos foi realizada no Uruguai (Mestrado Sanduiche).

## 2. OBJETIVOS

O objetivo desta dissertação é investigar compostos voláteis de três espécies de *Baccharis* nativas (*B. anomala* DC, *B. dentata* (Vell) G. M. Barroso e *B. uncinella* DC) coletadas no Pró-Mata, visando estudar o processo produtivo, a composição química, o potencial aromático e a ação antimicrobiana dos óleos essenciais das espécies supracitadas.

### 2.1. Objetivos Específicos

- Utilizar a destilação por arraste a vapor para a extração do óleo essencial, de modo a obter os produtos para as etapas analíticas (análises por CG/MS e CG/FID/O) e de avaliação de ação antimicrobiana (bioautografia indireta), assim como obter curvas de rendimento *versus* tempo;
- Realizar a modelagem das curvas de rendimento *versus* tempo obtidas utilizando modelo matemático, embasado na transferência de massa, para prever o comportamento do processo de extração para as diferentes espécies estudadas;
- Identificar os componentes presentes nos óleos essenciais por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM), utilizando duas colunas de polaridades diferentes;
- Avaliar os componentes presentes nos óleos essenciais através da correlação dos odores com os picos cromatográficos utilizando a técnica de olfatométrica acoplada à cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (CG/FID/O);

- Avaliar qualitativamente o potencial antimicrobiano dos óleos de *Baccharis* frente à *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis (ATCC 10708), *Pseudomonas aeruginosas* (ATCC 27853), *Candida albicans* (ATCC 90028), *Aspergillus niger* (ATCC 16404), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 14116), *Rhizopus stolonifer* (ATCC 6227b), *Fusarium Solani* (ATCC 36031) e *Aspergillus oryzae* (ATCC 10124), utilizando a bioautografia indireta.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. *Baccharis spp.*

As espécies do gênero *Baccharis spp.* são uma importante fonte de pesquisa para os produtos naturais medicinais (Abad e Bermejo, 2007). *Baccharis* é o maior gênero da família Compositae, com mais de 500 espécies, com ampla distribuição do norte ao sul do continente americano (Abad e Bermejo, 2007; Simionatto et al., 2008; Cépedes et al., 2002). As espécies deste gênero estão distribuídas principalmente em temperaturas quentes e regiões tropicais do Brasil, Argentina, Colômbia, Chile e México (Abad e Bermejo, 2007). Mais de 90% das espécies são encontradas na América do Sul (Frizzo et al., 2001). Uma grande concentração de espécies localiza-se no centro-sul do Brasil, o que aponta estas regiões como o foco central de origem e dispersão deste gênero. Este fato contribuiu para aumentar o interesse na busca de componentes de valor farmacológico e econômico, situação que se encontra reforçada por se tratar de um recurso natural abundante na região sul do País.

Um objetivo bem conhecido no estudo de plantas aromáticas e medicinais é a descoberta de novos componentes bioativos, visando à obtenção de novos fármacos (Henrich, 2003; Newmann et al., 2003). Nos últimos anos tem havido um crescimento rápido em informações disponíveis sobre estruturas e atividades farmacológicas de novos compostos isolados e identificados de espécies de *Baccharis*. As espécies de *Baccharis* apresentam diversos usos na medicina tradicional para o tratamento de ferimentos, úlceras, febre, doenças gastrintestinais como espasmolíticos, diurético e analgésico, na diabetes, antiinflamatório (Abad et al., 2006; Herz et al., 1977; Loayza et al., 1995; Budel et al., 2008), no tratamento de infecções fúngicas e bacterianas como anti-séptico e cicatrizante para uso externo (Abad e Bermejo, 2007), ação antimicrobiana (Simionatto et al., 2008; Oliva et al.,

2007) e atividade antioxidante (Oliveira et al., 2003). Algumas espécies têm aplicações na indústria de perfumaria e cosméticos (Queiroga et al., 1990) e apresentam propriedades farmacológicas (Verdi et al., 2005).

Alguns exemplos de atividades farmacológicas de extratos de *Baccharis* que podem ser citadas são: antiinflamatória de *B. medullosa* DC. e *B. rufescens* Spreng. (Cifuentes et al., 2001), *B. latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers., *B. obtusifolia* Kunth e *B. subulata* D. Don (Abad et al., 2006) e antimicrobiana de *B. trimera* (Less.) DC. (Avancini et al., 2000) e *B. grisebachii* Hieron. (Feresin et al., 2001). Abad e Bermejo (2007) citam também diversas atividades farmacológicas (Quadro 3.1).

Quadro 3.1. Atividades farmacológicas de algumas espécies de *Baccharis*.

<i>Baccharis</i>	Atividade farmacológica
<i>Baccharis articulata</i> (Lam.) Pers. (Carquejilla)	Diurético, digestivo
<i>Baccharis conferta</i> (HBK) (Quauhizquitzli)	Dores de estômago, laxante, diurético
<i>Baccharis coridifolia</i> DC (Mio-Mio, Romerillo)	Antiinflamatório
<i>Baccharis crispa</i> Spreng. (Carqueja)	Digestivo, anti-séptico para uso externo
<i>Baccharis dracunculifolia</i> DC	Previne algumas doenças
<i>Baccharis floribunda</i> H.B.K. (Niquitao)	Infecções de pele, diabetes, reumatismo
<i>Baccharis gaudichaudiana</i> DC (Chilca Melosa)	Diabetes, doenças gastrointestinais
<i>Baccharis genistelloides</i> Lam. = <i>Baccharis trimera</i> (Lam.) Pers. (Carqueja, Charara)	Doenças do fígado, reumatismo, diabetes, distúrbios hepáticos, digestivos e renais.
<i>Baccharis glutinosa</i> (B. & P.) Pers. (Jarilla)	Distúrbios ginecológicos e digestivos, doenças de pele
<i>Baccharis grisebachii</i> Hieron (T'ola alta, Quinchamal)	Úlceras gástricas, digestivo anti-séptico, cicatrizante
<i>Baccharis heterophylla</i> H.B.K. (Curacuata, Jarakatua)	Distúrbios gastrointestinais
<i>Baccharis illinita</i> DC (Cha-ventura, Erva milagrosa)	Antiinflamatório de pele e mucosas, úlceras estomacais, cicatrização de feridas cutâneas
<i>Baccharis incarum</i> Wedd. (Lejia)	Feridas
<i>Baccharis latifolia</i> Pers. (Chilca)	Reumatismo, doenças do fígado, feridas e úlceras

...continuação Quadro 3.1

<b>Baccharis</b>	<b>Atividade farmacológica</b>
<i>Baccharis multiflora</i> Bent. (Quappatli, Malinalli)	Tratamento de catarros, problemas urinários
<i>Baccharis notoserghilla</i> Griseb. (Carqueja)	Diurético, digestivo
<i>Baccharis obtusifolia</i> H.B.K. (Chilca redonda)	Reumatismo, doenças do fígado, feridas, úlceras
<i>Baccharis pentlandii</i> DC (Chilca, Mayu Chilka)	Inflamação, reumatismo
<i>Baccharis rubricaulis</i> Rubby (Chilca)	Doenças mucosas
<i>Baccharis salicifolia</i> (R. et P.) Pers. (T'ola alta, Chilca marga)	Inflamação, higiene feminina
<i>Baccharis sarothroides</i> A. Gray (Desert vassoura)	Resfriados, dores musculares
<i>Baccharis serraefolia</i> DC (Tzajal)	Diarréia, doenças gastrointestinais, disenteria, tosse
<i>Baccharis subalata</i> Wedd	Reumatismo, doenças do fígado, feridas, úlceras.
<i>Baccharis teindalensis</i> L.	Anti-inflamatório, analgésico, antimicrobiano
<i>Baccharis tricuneata</i> (L.f.) Pers. (Sanalotodo)	Infecções de pele, diabetes
<i>Baccharis trinervis</i> (Lam) Pers. (Chilca)	Febre alta, edema, feridas, câibras musculares
<i>Baccharis tucumanensis</i> (H. et A.) (Sancho blanco)	Abortivo
<i>Baccharis vaccinoides</i> H.B.K. (Chilco)	Distúrbios gastrointestinais

Fonte: Abad e Bermejo, 2007.

Com relação à fitoquímica do gênero *Baccharis*, mais de 150 compostos foram isolados e identificados. Os componentes mais proeminentes são diterpenoides. (Abad e Bermejo, 2007). Alguns dos compostos mais encontrados nos óleos essenciais de *Baccharis* são:  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, sabineno, mirceno, limoneno, terpinen-4-ol,  $\delta$ -cadineno, espatulenol e óxido de cariofileno.

A composição química de uma determinada espécie está sujeita a diferentes fatores, entre eles se destacam os fatores extrínsecos, relacionados à localização geográfica e condições ambientais e os fatores intrínsecos, relacionados às informações genéticas da planta e seus processos metabólicos, como resposta aos



fatores ambientais, a ontogenia relacionada ao estado vegetativo da planta e o processo extrativo utilizado. Os fatores externos e as condições ambientais surgem como fatores limitantes no metabolismo da planta, particularmente no metabolismo secundário dos quais os óleos essenciais fazem parte, podendo aparecer modificações em sua composição química como consequência da interação destes fatores. Com relação à composição dos óleos essenciais do gênero *Baccharis*, há estudos que identificam variação destas composições de acordo com a localização geográfica e condições ambientais, bem como com o processo extrativo empregado (Frizzo et al., 2008).

A seguir é apresentada uma breve revisão sobre as três espécies selecionadas para o estudo. As espécies são *Baccharis anomala* DC, *Baccharis dentata* Vell. G. M. Barroso e *Baccharis uncinella* DC. Estas foram escolhidas devido a disponibilidade de material vegetal para a realização dos experimentos propostos nesta dissertação, assim como devido a pouca informação disponível na literatura sobre as mesmas.

### **3.1.1. *Baccharis anomala* DC.**

*Baccharis anomala* DC. (Figura 3.1), conhecida como uva-do-mato (Alice et al., 1985) e cambará-de-cipó (Barroso & Bueno, 2002), de sinonímia *Pingraea anomala* (DC.) F.H. Hellwig (Giuliano, 2001), pertence ao grupo *Anomala* (Barroso, 1976) e à seção *Trinervatae* DC. (Giuliano, 2001). Ocorre de São Paulo ao Rio Grande do Sul e vai até Argentina, Uruguai e Paraguai. O grupo *Anomala* e a seção *Trinervatae* são representados por arbustos escandentes, pilosos ou glabros e apresentam como espécies comuns *B. anomala*, *B. trinervis* Pers., *B. rhexioides* Kunth e *B. flexuosa* Baker. As partes aéreas de *B. anomala* são utilizadas popularmente como diurético. Estudos fitoquímicos constataram a presença de saponinas e taninos (Alice et al., 1985). Os extratos desta planta, de um modo geral têm demonstrado atividade antioxidante, antimutagênica e anticarcinogênica (Kada et al., 1985). Considerando que *B. anomala* apresenta potencial terapêutico para tornar-se um medicamento fitoterápico, sua morfologia externa e a anatomia das partes vegetativas aéreas de *B. anomala* foram estudadas com a finalidade de obter

dados referentes à identificação e à diferenciação dessa espécie das demais *Baccharis*, além de fornecer dados farmacognósticos ao grupo *Anomala* e à seção *Trinervatae* (Budel e Duarte, 2008).



Figura 3.1. *Baccharis anomala* DC.

Fonte: Fotografia do Pró-Mata cedida pelo professor Mondin.

### 3.1.2. *Baccharis dentata* (Vell.) G.M. Barroso

*Baccharis dentata* (Vell.) G.M. Barroso (Figura 3.2) é um arbusto da divisão angiosperma que ocorre na Mata Atlântica, principalmente em regiões de floresta do Brasil e da Argentina (Ferronato et al., 2007). É conhecida como vassoura-grada e é um arbusto de 1-4 m de alta dióica (Barroso, 1976). Com relação ao óleo essencial de *B. Dentata* existe um estudo publicado na literatura associado a esta dissertação (Xavier et. al., 2011).



Figura 3.2. *Baccharis dentata* (Vell.) G.M. Barroso.

Fonte: Fotografia do Pró-Mata cedida pelo professor Mondin.

### 3.1.3. *Baccharis uncinella* DC.

Segundo Budel e Duarte (2008), que estudaram a morfologia externa e a anatomia das partes vegetativas aéreas de *B. uncinella* DC. (Figura 3.3), a análise morfológica da espécie evidencia arbusto medindo 1,5-2,0 m de altura, com caules de 1,0-1,5 cm de diâmetro. As folhas medem de 0,5-1,0 cm de comprimento e 0,3-0,6 cm de largura.



Figura 3.3. *Baccharis uncinella* DC.

Fonte: Fotografia do Pró-Mata cedida pelo professor Mondin.

Ela apresenta como sinonímia *B. discolor* Baker e é representante do grupo *Spicata*. É encontrada desde o Rio de Janeiro até o sul do Brasil (Barroso, 1976), sendo conhecida popularmente como vassoura e vassoura-lageana e considerada uma espécie rupestre (Takeda e Farago, 2001).

O óleo essencial das partes aéreas de *B. uncinella* apresenta como principais componentes  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, espatulenol, globulol, *E*-nerolidol, biciclogermacreno e terpinen-4-ol (Frizzo et al., 2001; Agostini et al., 2005). O óleo essencial obtido por destilação por arraste a vapor apresenta um rendimento de 0,2% e exibe atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Ferronato et al., 2007).

## 3.2. Óleos essenciais

Óleo essencial é definido como um produto obtido por hidrodestilação, destilação por arraste a vapor ou destilação seca ou por um processo mecânico

adequado sem aquecimento (para frutas cítricas) de uma planta ou de algumas partes dela (Rubiolo et al., 2010). A volatilidade e a insolubilidade em água e a solubilidade em solventes orgânicos usuais permitem caracterizá-los e promover seu isolamento. Apresentam-se, geralmente, sob a forma de líquidos oleosos, de aroma agradável e intenso. Todavia existem os de aroma desagradável e ainda os inodoros (Costa, 1994). Segundo Vitti e Brito (2003), outras características que podem ser identificadas nos óleos essenciais, são:

- sabor: geralmente acre (ácido) e picante;
- cor: quando recentemente extraídos, os óleos são geralmente incolores ou ligeiramente amarelados; poucos são aqueles que apresentam cor, como o óleo volátil de camomila, que tem coloração azulada;
- estabilidade: normalmente os óleos essenciais são instáveis, principalmente na presença de ar, luz, calor, umidades e metais;
- a maioria dos óleos essenciais possui índice de refração e são opticamente ativos, propriedades estas usadas na sua identificação e controle da qualidade.

De acordo com Simões e Spitzer (2000), os óleos essenciais são geralmente produzidos por estruturas secretoras especializadas, tais como pêlos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas, canais oleíferos ou em bolsas específicas. Tais estruturas podem estar localizadas em algumas partes específicas ou em toda a planta. Assim, podemos encontrar os óleos essenciais na parte aérea, como na menta; nas flores, como é o caso da rosa e do jasmim; nas folhas, como ocorre nos eucaliptos e no capim-limão; nos frutos, como na laranja e no limão; na madeira, como no sândalo e no pau-rosa; nas cascas do caule, como ocorre nas canelas; nas raízes, como se observa no vetiver; nos rizomas, como no gengibre; nas sementes, como na noz moscada. Simões e Spitzer (2000) comentam ainda que os óleos essenciais obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, caracteres físico-químicos e odores distintos.

Os constituintes dos óleos essenciais variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, até compostos de

enxofre. Na mistura, tais compostos apresentam-se em diferentes concentrações, existindo alguns compostos majoritários, e outros em menores teores e alguns em baixíssimas quantidades, chamados “traços” (Serafini et al., 2002).

Os óleos essenciais são encontrados em várias plantas. Podem estar na forma de pequenas gotas entre as células, onde agem como hormônios, reguladores e catalisadores. Seu papel é ajudar a planta a se adaptar ao meio ambiente, por isso, sua produção aumenta em situações de estresse. Os óleos essenciais protegem a planta de doenças e de parasitas e atraem certos insetos que fazem a polinização. Às vezes, chegam a funcionar como combatentes naturais de ervas daninhas (Serafini et al., 2002). Eles estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal, exercendo papel fundamental na defesa contra microrganismos (Siqui et al., 2000). Ainda, tem sido estabelecido que cerca de 60% dos óleos essenciais possuem propriedades antifúngicas e 35% exibem propriedades antibacterianas (Bhavanani e Ballow, 1992). Neste sentido, muitos estudos têm sido realizados com ênfase na busca de novos produtos naturais possuidores de atividade antimicrobiana atrelada a uma menor toxicidade ao hospedeiro (Lima et al., 2006; Anaisse, 1992; Edwards Jr e Filler, 1992; Graybill, 1992).

Os óleos essenciais podem ser extraídos em suficiente quantidade para serem utilizados em sínteses químicas ou como novos materiais, para uso científico, tecnológico e aplicações comerciais. Essas substâncias naturais são utilizadas por um grande número de indústrias: farmacêutica (taxol, efedrina); alimentícia (flavorizantes e corantes naturais); cosmética (cânfora, linalol); química, agroquímica (fungicida, inseticida) dentre outras (Simões e Spitzer, 2000).

### **3.3. Extração de óleos essenciais**

Muitas espécies de plantas contêm compostos voláteis que podem ser extraídos na forma de óleo essencial. A extração dos óleos essenciais pode ser feita por diversas técnicas, como por exemplo, a destilação por arraste a vapor, hidrodestilação, extração com CO<sub>2</sub> supercrítico, prensagem a frio, extração com solventes orgânicos, enfloração, entre outros. Os métodos de extração variam

conforme a localização do óleo na planta (flores, folhas, cascas, raízes e rizomas) e sua utilização (Simões et al., 2000). A composição do óleo pode variar em grande parte dependendo do método da extração utilizado. As vantagens e as desvantagens de alguns métodos foram discutidas por Cassel e Vargas (2006) que modelaram a extração em escala laboratorial do óleo essencial do *Cymbopogon winterianus* usando um modelo difusivo, promovendo uma boa predição do comportamento da curva rendimento *versus* tempo, passível de utilização no *scale up* a escala industrial.

### 3.3.1. Destilação por arraste a vapor

Para esta dissertação foi selecionado o método de destilação por arraste a vapor. Este método é muito utilizado pela indústria por ser de fácil operação e atender às exigências para a obtenção de óleos essenciais (Cerpa et. al., 2008). Outro ponto positivo é o baixo custo, quando comparado com os métodos tecnológicos mais avançados como, por exemplo, a extração com fluido supercrítico (Cassel e Vargas, 2006).

A destilação por arraste a vapor é um processo tradicional na obtenção dos óleos essenciais, a partir das folhas e caules de plantas aromáticas. O processo basicamente consiste na geração de uma corrente de vapor em uma caldeira que permeia o vaso de extração onde está o leito de plantas. Em seguida, a mistura (água e óleo essencial na fase vapor) é introduzida em um condensador onde o vapor é liquefeito. A imiscibilidade entre a água e o óleo essencial permite a separação destes em duas fases líquidas (Cassel e Vargas, 2006). A distribuição da matéria-prima no vaso de extração deve ser feita de maneira que permita o maior contato superficial entre esta e o vapor, evitando a formação de canais preferenciais para o vapor, o que acarreta em uma diminuição no rendimento do processo. Pode-se visualizar o esquema do processo em escala laboratorial na Figura 3.4.

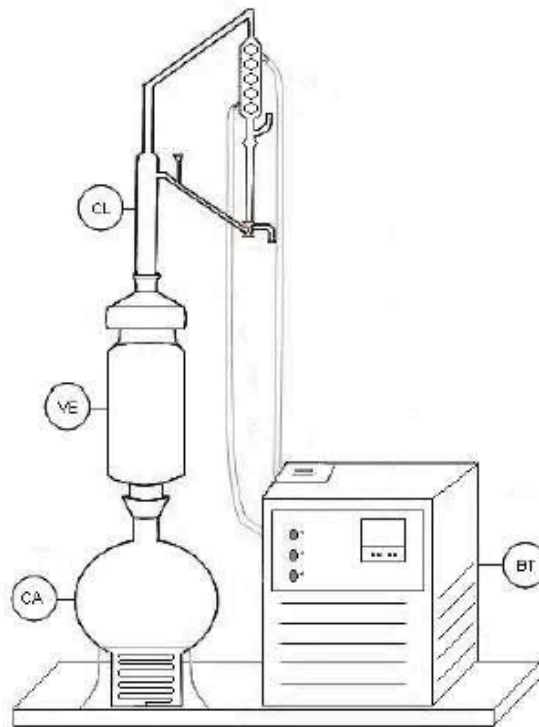


Figura 3.4. Montagem do equipamento de extração por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial. CA: caldeira (balão com resistência imersa); VE: vaso de extração; BT: banho termostático; CL: cleveger.

Fonte: Lucas, 2011.

A composição do óleo essencial é função de vários fatores, como descrito previamente. O fator principal é o tempo de extração. Se a extração for rápida, o produto apresentará os constituintes mais voláteis, porém destituído das melhores características. Se a extração for prolongada, o custo do óleo essencial será mais elevado e ocorrerá a incorporação de compostos de elevado peso molecular ao produto final (Serafini e Cassel, 2001).

### 3.4. Modelagem matemática do processo de extração

A modelagem matemática é muito aplicada para prever rendimento de óleos essenciais via destilação por arraste a vapor em função do tempo. São considerados diversos parâmetros que influenciam a taxa de extração e o rendimento do processo, entre eles: temperatura, pressão de operação, tamanho das partículas de folhas, tempo de extração e vazão do solvente (Sartor, 2009). Dentre os estudos sobre a modelagem matemática da destilação por arraste a

vapor, um dos primeiros trabalhos é o de Benyoussef et al. (2002) que modelaram a extração do óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum* L.). O modelo é constituído por duas partes: variação da concentração de óleo nos frutos e no fluido circundante. A primeira parte leva em consideração a difusão dentro dos poros e na segunda acrescenta a taxa de dissolução do óleo da fase sólida para o fluido que preenche os poros. Consideram que a extração é uma dessorção irreversível do óleo essencial em água, com cinética de primeira ordem com respeito ao rompimento das células onde se encontra o óleo retido; a vaporização do óleo é instantânea devido ao equilíbrio de fases formado; a difusão intrapartícula do óleo em água é a etapa controladora, desconsiderando a convecção externa. Os autores ainda consideram algumas hipóteses simplificativas e correlações externas para representar a extração. O balanço de massa na fase sólida é representado por:

$$\frac{\partial X_f(t,r)}{\partial t} = -K_c X_f(t,r) \quad (3.1),$$

enquanto que o balanço de massa na fase fluido é expresso por:

$$\frac{\partial X_l(t,r)}{\partial t} = D_a \frac{\partial^2 X_l(t,r)}{\partial r^2} + \frac{2D_a}{r} \frac{\partial X_l(t,r)}{\partial r} + K_c X_f(t,r) \quad (3.2),$$

onde  $X_f$  é a concentração de óleo nos frutos,  $X_l$  é a concentração de óleo no fluido,  $D_a$  é o coeficiente de difusão aparente,  $K_c$  coeficiente de transferência de massa,  $r$  é a variável independente que corresponde à dispersão radial e  $t$  é a variável independente associada ao tempo.

Sovová e Aleksovski (2006) desenvolveram um modelo para a hidrodestilação e destilação por arraste a vapor considerando o óleo essencial como um pseudo-componente e assumindo a difusão do soluto dentro da partícula como etapa controladora. A modelagem matemática é descrita para uma situação em que a vazão axial de solvente, representada pela velocidade superficial, atravessa o leito de plantas aromáticas em um cilindro extrator. O solvente é livre de soluto na entrada do extrator e a temperatura e pressão são mantidas constantes durante o processo. O modelo é desenvolvido para dois tipos de partículas: um primeiro tipo



com distribuição homogênea de óleo nas partículas e um segundo tipo com óleo depositado em tricomas glandulares que secretam o óleo. O equilíbrio entre o óleo superficial e o vaporizado é estabelecido mediante uma constante de partição, independente da composição das fases, da temperatura e da difusão. O rendimento da extração é expresso por:

$$Y = Y_{\infty} \left[ 1 - f_1 \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) - f_2 \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right) \right] \quad (3.3),$$

onde  $Y$  é o rendimento da extração,  $Y_{\infty}$  é o rendimento assintótico,  $t$  é o tempo de extração,  $T_1$  e  $T_2$  são constantes de tempo para processo de difusão paralela através da partícula e  $f_1$  e  $f_2$  são as frações de soluto difundindo em duas taxas diferentes.

Cassel e Vargas (2006) modelaram a extração de óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*) utilizando um modelo de transferência de massa na partícula vegetal, baseado no modelo da 2ª lei de Fick, unidimensional e em geometria retangular. O balanço de massa é feito na superfície interna da partícula e se assume que os componentes a serem extraídos são uniformemente distribuídos no interior da partícula e a resistência superficial é negligenciada. A formulação matemática é expressa como:

$$\frac{\partial^2 C_a(x,t)}{\partial x^2} = \frac{1}{D} \frac{\partial C_a(x,t)}{\partial t} \quad 0 \leq x \leq L \quad (3.4),$$

com condição inicial:

$$C_a = C_{a0}, \text{ para } t = 0 \quad (3.5),$$

e condições de contorno:

$$C_a = 0 \text{ para } x = 0 \text{ e para } x = L \quad (3.6),$$

O parâmetro a ser estimado no modelo utilizado por Cassel e Vargas (2006) é o coeficiente de difusão ( $D$ ) e variáveis referentes à estrutura e natureza da planta aromática, como a espessura da planta ( $L$ ) e a quantidade inicial de óleo ( $Ca_0$ ). Considera-se ainda que todo o óleo presente na planta aromática é extraído. Este modelo também foi usado para simular o processo de destilação a vapor de óleos essenciais de alecrim, manjerição e lavanda (Cassel et al., 2009).

Cerpa et al. (2008) desenvolveram um modelo considerando três fases no processo de obtenção do óleo. Na primeira etapa ocorre uma exsudação térmica do óleo dos tricomas glandulares, na segunda etapa o equilíbrio líquido-vapor na interface foi assumido, e, finalmente, na última etapa da transferência de massa do óleo na fase de vapor foi considerada. Os dados experimentais para o óleo de lavanda foram utilizados para correlacionar os parâmetros do modelo.

A modelagem matemática da destilação por arraste a vapor é um passo inevitável no projeto de plantas industriais. Modelos matemáticos são usados para simular o processo, reduzindo a necessidade de se realizar procedimentos experimentais para conhecer o comportamento do processo de extração. Portanto, a importância da modelagem matemática no processo de destilação por arraste a vapor é permitir estratégias alternativas para o cálculo das condições das variáveis de processo (Cassel et al., 2009).

### **3.5. Análise por cromatografia gasosa / espectrometria de massas (CG/EM)**

A cromatografia gasosa (CG) é um método de separação de compostos presentes em uma amostra. Esta separação ocorre na fase gasosa, logo a técnica é viável também para amostras líquidas e sólidas que vaporizam em determinada faixa de temperatura. Desta forma, o constituinte gasoso é transportado pela coluna por uma fase móvel gasosa chamada gás de arraste. A interação entre os componentes e a fase estacionária leva a uma separação diferencial dos componentes da mistura. A cromatografia gasosa (CG) tem algumas dificuldades, como a exigência de compostos voláteis, mas seu maior problema é a falta de provas definitivas sobre a natureza dos compostos detectados. Para a maioria dos

detectores de CG, a identificação é baseada apenas no tempo de retenção na coluna. Uma vez que muitos compostos podem possuir o mesmo tempo de retenção, fica a em dúvida quanto à natureza e à pureza do(s) composto(s) no pico separado. Já a espectrometria de massas (EM) conduz o material injetado, ioniza-o em alto vácuo, impulsiona e concentra esses íons e seus produtos de fragmentação através de um analisador magnético de massa, e então coleta e mede as quantidades de cada íon selecionado em um detector. Um espectrômetro de massa é uma excelente ferramenta para identificar claramente a estrutura de um único composto, mas é menos útil quando utilizado com uma mistura (McMaster et al., 1998).

Um cromatógrafo gasoso funciona da seguinte forma (Figura 3.5): um gás inerte (gás de arraste) flui continuamente de um cilindro [1] para a coluna [6] através de um ponto de injeção [4]. A amostra é injetada utilizando uma microseringa no ponto de injeção, devidamente aquecido para que ocorra a vaporização da amostra que será “arrastada” pelo gás de arraste através da coluna. Na análise de óleos essenciais normalmente se utiliza colunas capilares de 10 a 100 m de comprimento e diâmetro interno de 0,1 a 0,75 mm. Após passar pela coluna, o gás de arraste carregando a amostra passa por um detector [7] que irá gerar um sinal elétrico, registrado em formato de picos, que será enviado a um sistema de dados [8] (Lucas, 2011; Macnair e Miller, 2009).

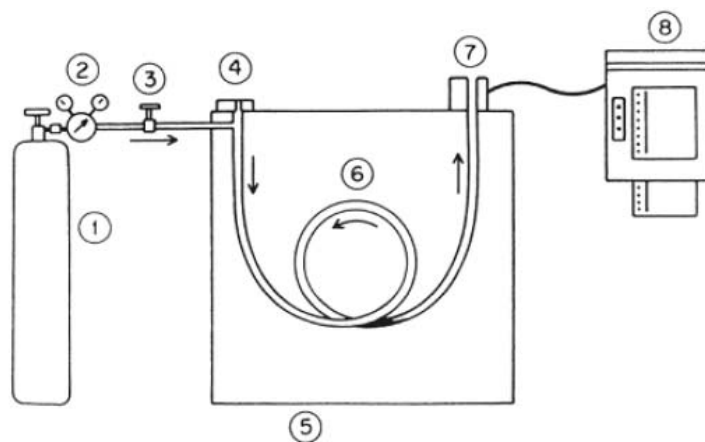


Figura 3.5. Funcionamento básico de um cromatógrafo gasoso - [1] cilindro de gás de arraste, [2] e [3] controladores de fluxo de gás, [4] sistema de injeção de amostra, [5] forno para aquecimento da coluna, [6] coluna cromatográfica, [7] detector, [8] sistema de aquisição de dados.

Fonte: Lucas, 2011; McNair e Miller, 2009.

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) mostrou-se um dos métodos mais eficientes para o estudo da elucidação da composição química dos óleos essenciais. É um método muito adequado para a identificação devido aos componentes do óleo essencial serem compostos voláteis de baixo peso molecular. O óleo essencial é injetado diretamente no cromatógrafo, sem nenhum tratamento prévio, o que elimina possíveis modificações na composição da amostra ou na estrutura de seus constituintes devido ao pré-tratamento. No cromatógrafo, os componentes do óleo essencial se separam e, em seguida, ingressam no espectrômetro de massas que detecta e registra o correspondente espectro de cada uma das substâncias separadas. Os constituintes do óleo essencial se identificam graças aos diferentes padrões de fragmentação que se observam em seus espectros de massas (Harris, 2001).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas 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. O equipamento possibilita obter dados sobre o peso molecular e a estrutura molecular dos óleos essenciais. Existem bases de dados específicas para óleos essenciais, como a biblioteca Adams (Adams, 2007), com os espectros de massas de muitos componentes.

### **3.6. Análise olfatométrica**

A percepção do nariz humano de compostos voláteis, liberados a partir de alimentos e fragrâncias, depende da extensão da liberação da matriz e as propriedades do odor dos compostos. Sabe-se que apenas uma pequena parte do grande número de compostos voláteis que ocorrem em uma matriz perfumada contribui para percepção do seu odor (van Ruth, 2001; Grosch, 1994). Além disso, essas moléculas não contribuem igualmente para o perfil de aroma global de uma amostra, portanto, uma área grande de pico no CG, gerada por um detector químico, não necessariamente correspondem a intensidades altas de odor, devido às diferentes relações intensidade/ concentração. Conseqüentemente, o interesse geral dos pesquisadores foi direcionado para a determinação da contribuição de

alguns constituintes para o sabor global de um produto. Em geral, a importância sensorial de um composto de odor ativo depende de sua concentração na matriz, e no limite de detecção do nariz humano. Além disso, a medida imprevisível de interação de moléculas de sabor com as outras, e com outros componentes dos alimentos (lipídios, proteínas, carboidratos etc) também devem ser considerados.

CG/O (cromatografia gasosa/olfatometria) é a solução mais adequada de análise para tais questões, pois permite a avaliação do odor-componentes ativos de misturas complexas, através da correlação específica com os picos cromatográficos de interesse; isso é possível porque as substâncias eluídas são percebidos simultaneamente por dois detectores, sendo um deles o sistema olfativo humano. Conseqüentemente, CG/O não só fornece um instrumental, mas também uma análise sensorial. Esta última é definida como a quantificação das respostas humanas aos estímulos percebidos pelos sentidos da visão, olfato, paladar, tato e audição (Meilgaard, 1991; Richardson, 1999). Quando acoplada a técnicas analíticas, como no CG/O, torna-se uma abordagem precisa e descritiva para caracterizar estímulos, avaliar e mensurar impressões, como também um importante processo que permite a compreensão e quantificação de uma característica sensorial.

A descrição de um cromatógrafo a gás modificado para o compartimento para avaliação sensorial (*sniffing port*) para determinar a atividade de odores voláteis, foi publicado pela primeira vez por Fuller et al (1964). O sistema de CG foi equipado com um sistema de detecção de condutividade térmica não destrutiva com a saída conectada a um *sniffing port* (também chamado de porta olfatométrica ou linha de transferência). O último foi localizado dentro de uma cabine telefônica, a fim de isolar o avaliador das influências do potencial de odores presentes no ambiente. Em 1971, um dos mais sofisticado sistemas de CG/O foi relatado; ar úmido foi adicionado ao CG, evitando assim que a mucosa nasal secasse (Dravnieks, 1971). Outras melhorias incluem o uso de um tubo Venturi, para manter a resolução da coluna capilar e entregar, ergonomicamente, o efluente para o avaliador. Nos anos seguintes, as portas *sniffing* começaram a incorporar elementos de projeto e, atualmente, bem planejadas opções estão disponíveis no mercado. A introdução e difusão de CG/O, provou ser vital para o desenvolvimento no campo da pesquisa de

odor - compostos ativos, fornecendo informações valiosas sobre os locais do cromatograma em que deve-se concentrar a atenção e recursos. CG/O é uma técnica única de análise que associa o poder de resolução de CG capilar com a seletividade e sensibilidade do nariz humano.

Um importante trabalho foi realizado utilizando esta técnica para óleos essenciais. A tese de doutorado da Dra. Catalina M. van Baren (2008) apresenta a caracterização química e sensorial, além do estudo das atividades biológicas de *Mulinum spinosum* (Cav.) Persoon (com o objetivo de avaliar a potencialidade industrial desta espécie aromática e medicinal). Para determinação do perfil sensorial foi realizada uma análise CG/FID/O. A saída da coluna utilizada tinha um divisor de fluxos que divide o efluente da coluna capilar na proporção 1:1 (v/v) entre dois detectores: um detector FID (detector por ionização em chama) e um detector olfatométrico (Figura 3.6.). Ambos os detectores foram utilizados simultaneamente, assim os compostos separados podem ser percebidos pelo olfato humano ao mesmo tempo em que entram no outro detector (van Baren, 2008).

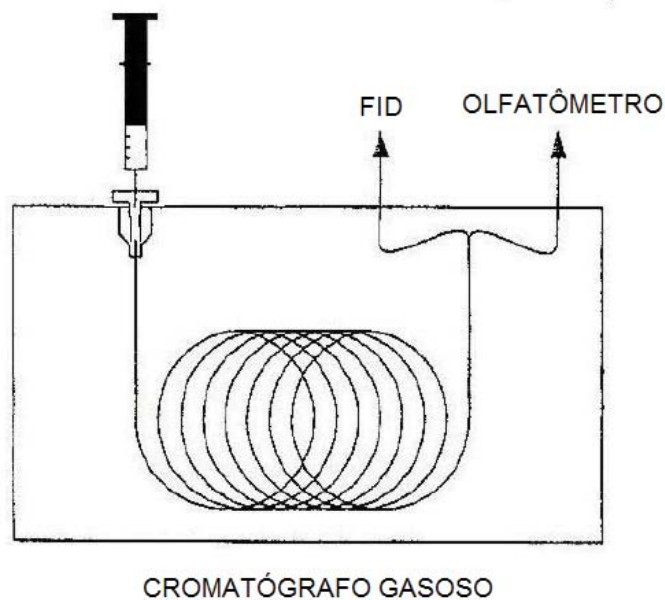


Figura 3.6. Esquema do cromatógrafo CG/FID/O, que mostra a divisão de fluxo ao final da coluna capilar.

Fonte: van Baren, 2008.

O desenho do detector olfatométrico fez com que o eluente da coluna do cromatógrafo gasoso seja transferido para um cone onde se mesclou com ar umidificado. Isto permite ao olfato humano perceber os compostos individuais à medida que eluem da coluna capilar. O sistema era composto por uma seção de transferência desde a saída da coluna capilar do CG até o cone olfativo. O cone olfativo era construído em vidro para assegurar a inalterabilidade (Figura 3.7.). A seção de transferência se encontra calefacionada por uma fita calefatora flexível, mantendo assim a temperatura suficiente para assegurar que cada componente que elua da coluna CG chegue ao cone olfativo sem perdas por condensação. O ar umidificado chega ao local de olfateação pelo borbulhamento prévio em água com uma vazão de 500 mL/min, desta maneira, obtendo maior eficiência olfativa (van Baren, 2008). Este equipamento utilizado por van Baren (2008) é o mesmo que foi utilizado para obter os resultados desta dissertação.

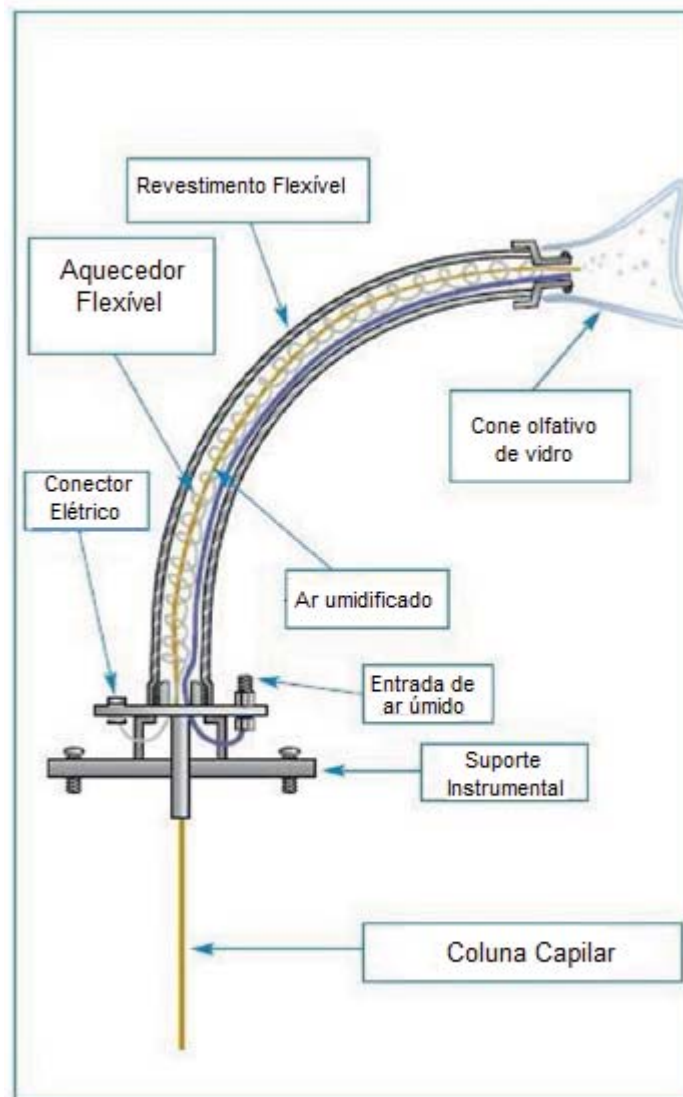


Figura 3.7. Esquema ampliado da porção final do detector olfatométrico.

Fonte: van Baren, 2008.

### 3.7. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas

As propriedades antimicrobianas de substâncias e óleos essenciais que as plantas contêm como produtos de seu metabolismo secundário têm sido reconhecidas empiricamente durante séculos, mas foram confirmadas cientificamente apenas recentemente. Vários grupos de pesquisadores estudam a atividade biológica de plantas medicinais originárias de diversas regiões do mundo, orientados pelo uso popular das espécies nativas. Por outro lado, os microrganismos que causam prejuízos à saúde humana estão se mostrando resistentes à maioria dos antimicrobianos conhecidos, o que incentiva ainda mais a procura por antibióticos de ocorrência natural (Duarte, 2006).



Extratos e óleos essenciais de plantas mostraram-se eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias. Usos práticos dessas atividades são sugeridos em humanos e animais, bem como na indústria de alimentos (Duarte, 2006).

No Brasil, a investigação sobre produtos naturais com atividade antimicrobiana também aumentou significativamente nos últimos anos. Entretanto, apesar da rica biodiversidade, no estudo de Duarte (2006) somente estavam disponíveis dados sobre 44 espécies de plantas pertencentes a 20 famílias, com atividade positiva, incluindo espécies nativas e exóticas. O baixo número de registros pode ser consequência da disseminação restrita dos resultados de pesquisa, geralmente apresentados em eventos científicos locais ou regionais. Além disso, a maioria dos estudos são testes isolados com uma ou poucas espécies, geralmente baseados em informações etnofarmacológicas, diferentemente de pesquisas que abrangem a flora de uma região definida, onde várias famílias botânicas são estudadas (Duarte, 2006).

Segundo Nascimento et. al. (2007), existem vários métodos descritos na literatura, propostos para mensurar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. Entretanto, as pesquisas sobre essa atividade têm sido prejudicadas pela ausência de métodos padronizados, o que dificulta a comparação entre os estudos além de inviabilizar sua reprodutibilidade. Em relação aos óleos essenciais, fatores adicionais impõem dificuldades na implantação de métodos de avaliação antimicrobiana, como: volatilidade, insolubilidade em água e difusão no meio de cultura.

Os métodos diferem largamente e fatores importantes que influenciam os resultados são frequentemente negligenciados. Importa, portanto, mencionar o número da linhagem do microrganismo testado, o tempo de exposição do microrganismo ao óleo, a utilização de controles positivos e negativos, o uso e a quantidade de emulsificador, a composição do óleo e a descrição precisa das condições em que foi obtido. Sem padronização é praticamente impossível elucidar a verdadeira bioatividade, o potencial terapêutico e a utilidade clínica dos óleos

essenciais, bem como fazer uma comparação direta entre eles (Nascimento et. al., 2007).

### **3.7.1. Bioautografia**

Os métodos de avaliação da atividade antimicrobiana se dividem basicamente em: métodos de difusão e métodos de diluição. O método de difusão se divide em difusão por disco, difusão por cilindros, difusão por poços e bioautografia direta e indireta. Os ensaios de difusão são considerados qualitativos, pois apenas mostram se existe ou não atividade antibacteriana nos produtos naturais. Os métodos de diluição em tubos ou em placas podem ser considerados semiquantitativos, quando são testadas poucas concentrações do produto natural, por exemplo, três diluições e quantitativos onde se executam diluições seriadas do produto e se determina para este, a concentração inibitória mínima (Valgas, 2002). Esses métodos e suas variantes devem ser adaptados e escolhidos conforme as facilidades operacionais que permitem ensaios relativamente rápidos e simples, com custo compatível. É importante que as adaptações sejam testadas e padronizadas para se obter reprodutibilidade e garantir assim que os resultados tenham confiabilidade (Pereira, 2010).

A bioautografia pode ser considerada como o ensaio mais eficaz para a detecção de compostos antimicrobianos, pois permite a localização da atividade, mesmo em uma matriz complexa e, portanto, permite que um alvo-direto de isolamento dos componentes ativos. Os ensaios de bioautografia podem ser divididos em três grupos (Rahalison et al, 1991; Rios et al, 1988): (a) bioautografia direta, onde os microorganismos crescem diretamente sobre a cromatografia em camada delgada (CCD), (b) bioautografia de contato, onde os compostos antimicrobianos são transferidas da placa de CCD com uma placa de agar inoculado através do contato direto e (c) sobreposição de agar ou bioautografia de imersão, onde um ágar semeado é aplicada sobre a placa de CCD. Esta última técnica pode ser considerada como um híbrido de bioautografia direta e contato (bioautografia indireta).

Os métodos bioautográficos permitem combinar a capacidade de separação da cromatografia de camada delgada (CCD) com a determinação *in situ* da atividade antimicrobiana dos componentes de uma mistura de compostos químicos. A amostra de um extrato natural é aplicada na placa de CCD e eluída com uma fase móvel adequada (Franco, 2005). Os compostos da amostra ficam adsorvidos na fase estacionária em posições relativas à sua polaridade em relação ao eluente e à sílica da placa cromatográfica. Posteriormente, o microorganismo a ser testado é inoculado sobre a placa. Na bioautografia indireta, o ágar inoculado é aplicado sobre a CCD e na bioautografia direta, o inóculo é pulverizado diretamente sobre a placa (Valgas, 2002). Após o período de incubação, verifica-se a formação de um halo de inibição no composto com atividade antimicrobiana presente na amostra. Usando-se um revelador de sais de tetrazólio, pode-se melhor visualizar as áreas de atividade antifúngica em função da desidrogenase enzimática (Hostettmann, 2003). A bioautografia tem sido mencionada como uma metodologia eficiente e constitui uma ferramenta útil para o desenvolvimento de compostos antimicrobianos a partir de misturas complexas de extratos vegetais e óleos essenciais (Furlan e Lopez, 2006).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Coleta e acondicionamento do material vegetal

As coletas do material vegetal de partes aéreas (folhas e galhos) de plantas de *Baccharis spp.* foram realizadas em São Francisco de Paula (RS) no Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata (Figura 4.1) em janeiro e em maio de 2011. A localização geográfica das coletas se encontra no Quadro 4.1.



Figura 4.1. Sede do Centro de Pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata.

Fonte: [http:// www.pucrs.br/ima/promata/](http://www.pucrs.br/ima/promata/)

Quadro 4.1. Localização geográfica das coletas das espécies de *Baccharis spp.*

<i>Baccharis anomala</i> DC	S 29° 29' 18.4" e W 50° 12' 23.5"
<i>Baccharis dentata</i> (Vell.)	S 29° 29' 34.5" e W 50° 11' 12.6"
<i>Baccharis uncinella</i> DC	S 29° 28' 50.4" e W 50° 10' 32.7"

O material foi transportado por via terrestre. Em Porto Alegre, as amostras de partes aéreas foram acondicionadas em papel e mantidas em estufa a 40 °C por 48

horas para secagem no Laboratório de Operações Unitárias (LOPE) da FENG (Faculdade de Engenharia), condição definida como adequada para os procedimentos de extração.

#### 4.2. Extração dos óleos essenciais por destilação por arraste a vapor

A extração dos óleos essenciais foi realizada no LOPE. O equipamento empregado na extração dos óleos essenciais por destilação por arraste a vapor é composto por uma caldeira com volume aproximadamente de 5L, que tem a função de aquecer o solvente (água); um vaso extrator de capacidade de 4L de volume, onde são colocados aproximadamente 200 gramas de planta seca; e um clevenger, que tem como função condensar o vapor, separar as fases líquidas, aquosa e oleosa, e permitir a medição do volume de óleo essencial obtido. O fluido de refrigeração utilizado no condensador é água refrigerada em um banho termostático com reciclo (em torno de 2°C). 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 destilação por arraste a vapor utilizada é representada na Figura 4.2.



Figura 4.2. Unidade laboratorial de destilação por arraste a vapor utilizada para extração dos óleos essenciais das espécies de *Baccharis*.

Com o auxílio de um cronômetro foram feitas medidas de volume de óleo no clevenger de cinco em cinco minutos para cada planta. No momento em que três medidas foram constantes parou-se a extração. Com essas medidas foram construídas as curvas de rendimento *versus* tempo para os óleos essenciais de *Baccharis anomala*, *Baccharis dentata* e *Baccharis uncinella*. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada espécie.

Após isto, foram calculadas as massas específicas dos óleos essenciais. Para este cálculo, foi pesado um determinado volume de óleo. Dividindo esta massa obtida pelo volume pesado se obteve os valores de massas específicas, conforme a equação (4.1).

$$\text{massa específica}(\rho) = \frac{\text{massa de óleo}}{\text{volume de óleo}} \quad (4.1)$$

Com os valores de massa específica se pode calcular o rendimento máximo dos óleos essenciais, a partir da equação (4.2).

$$\text{rendimento} = \frac{\text{volume final de óleo} \times \text{massa específica}(\rho)}{\text{massa de planta}(200\text{g})} \times 100\% \quad (4.2)$$

### 4.3. Modelagem matemática do processo de destilação por arraste a vapor

Neste estudo, para representar as curvas de extração dos óleos essenciais obtidas pelo método de destilação por arraste a vapor, se propõe o modelo publicado na literatura e associado a esta dissertação (Xavier et. al., 2011). Este é definido para dois períodos de extração que descrevem as curvas com base no balanço de massa do soluto (óleo extraído). O primeiro período é governado pelo equilíbrio de fases e o segundo período pela difusão interna do óleo essencial nas partículas (planta). O óleo é considerado um único componente em termos de balanço de massa. As propriedades de transferência de massa do óleo obtido foram consideradas constantes durante todo o processo de extração.

O balanço de massa por unidade de volume do leito de extração é representado por uma equação para o soluto (óleo) na fase fluida e outra na fase sólida apresentadas a seguir:

$$J(x, Y) = \rho_f \varepsilon \frac{\partial Y}{\partial t} + \rho_f u \frac{\partial Y}{\partial z} \quad (4.3)$$

$$J(x, Y) = -\rho_s (1 - \varepsilon) \frac{\partial x}{\partial t} \quad (4.4)$$

A equação (4.3) tem como condições de contorno iniciais as seguintes representações, respectivamente:

$$Y(z = 0, t) = 0 \quad (4.5)$$

$$Y(z, t = 0) = 0 \quad (4.6)$$

A equação (4.4) fica sujeita à seguinte condição inicial do soluto na matriz vegetal:

$$x(t = 0) = x_0 \quad (4.7)$$

Nas equações anteriores,  $J$  é o fluxo de soluto,  $\rho_f$  é a densidade do solvente,  $\rho_s$  é a densidade do sólido,  $\varepsilon$  é a porosidade do leito,  $u$  é a velocidade superficial do líquido,  $Y$  é a fração mássica na fase líquida,  $x$  é a fração mássica na fase sólida,  $t$  é o tempo de extração,  $z$  é a coordenada axial e  $x_0$  é a fração mássica inicial do soluto na fase sólida.

O fluxo de extrato é representado diferentemente tendo em vista a etapa de extração ser controlada pela remoção do soluto de fácil acesso das células quebradas ( $x > x_k$ ) ou pela remoção do soluto de partículas mais internas

associadas à etapa de extração de células intactas ( $x < x_k$ ). As equações para os fluxos são apresentadas pelas seguintes equações:

$$J(x, Y) = k_f a_0 \rho_f (Y^* - Y) \quad \text{para} \quad x > x_k \quad (4.8)$$

e

$$J(x, Y) = k_s a_0 \rho_s x \quad \text{para} \quad x \leq x_k \quad (4.9)$$

onde  $k_f$  é o coeficiente de transferência de massa na fase fluida,  $k_s$  é o coeficiente de transferência de massa na fase sólida,  $a_0$  é a área de superfície específica por unidade de volume do leito de extração,  $Y^*$  é a fração mássica da fase fluida em equilíbrio e  $x_k$  é a fração mássica do soluto facilmente acessível na fase sólida.

A primeira parte da curva de extração está associada à extração do soluto livre presente em células rompidas. Nesta etapa de extração considera-se que a resistência de transferência de massa difusiva é desprezível e o fator limitante quanto à extração é o equilíbrio de fases. A partir da equação (4.8), o seguinte resultado é obtido

$$Y = Y^* \quad \text{para} \quad x > x_k \quad (4.10)$$

O segundo período é controlado pela difusão de soluto a partir de células internas da estrutura vegetal, e a equação (4.9) representa o fluxo do soluto. Este período corresponde à difusão a partir de células intactas. Combinando as equações (4.9) e (4.4):

$$-\rho_s(1-\varepsilon)\frac{\partial x}{\partial t} = k_s a_0 \rho_s x \quad (4.11)$$

A solução da equação (4.11) é

$$x = x_0 e^{-K_2 t} \quad (4.12),$$

onde



$$K_2 = \frac{k_s a_0}{(1 - \varepsilon)} \quad (4.13).$$

Em seguida, para a fase fluida a equação (4.3) é re-escrita como

$$\rho_f \varepsilon \frac{\partial Y}{\partial t} + \rho_f u \frac{\partial Y}{\partial z} = K_2 \rho_s (1 - \varepsilon) x_0 e^{-K_2 t} \quad (4.14),$$

onde  $u$  é a velocidade superficial do fluido, e cuja solução para  $t > z/u$  é

$$Y(z, t) = \frac{(1 - \varepsilon) \rho_s}{\varepsilon \rho_f} x_0 \left\{ e^{-K_2 \left( t - \frac{z\varepsilon}{u} \right)} - e^{-K_2 t} \right\} \quad \text{para } x \leq x_k. \quad (4.15)$$

Com os resultados estabelecidos pelas equações (4.10) e (4.15) é possível avaliar a curva de extração mediante o cálculo da massa de extrato total coletada para um tempo ( $t$ ) de extração junto à posição final ( $z=H$ ) do leito de extração, usando a seguinte equação:

$$M(t) = \int_0^t \dot{m} Y(z = H, t) dt \quad (4.16)$$

onde  $M(t)$  é a massa de extrato,  $\dot{m}$  é a taxa de massa do solvente e  $H$  é a altura do leito de extração. É importante destacar que a curva de extração contempla as duas etapas assumidas no modelo de transferência de massa associadas ao período de extração do soluto das células quebradas inerente à extração do chamado de soluto de células mais internas da matriz vegetal. Estes resultados são expressos em termos do valor máximo para o extrato obtido em cada extração,  $M(\infty)$ , para os dois períodos na extração, como apresentado abaixo:

$$\frac{M(t)}{M(\infty)} = \begin{cases} \frac{K_1 t}{M(\infty)} & \text{para o primeiro período} \\ (1 - e^{-K_2 t}) & \text{para o segundo período} \end{cases} \quad (4.17)$$

onde

$$K_1 = \dot{m}Y^* \quad (4.18)$$

e  $K_2$  é definido pela equação (4.13).

Desta forma, a curva de extração apresenta um comportamento linear em função do tempo para a primeira etapa de extração e exponencial para o segundo período.

#### 4.4. Análise por cromatografia gasosa/ espectrometria de massas (CG/EM)

As análises cromatográficas por cromatografia gasosa/espectrometria de massas foram realizadas no LAPA (Laboratório de Processos Ambientais da PUCRS). As amostras dos óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* foram analisadas por um cromatógrafo gasoso da marca Agilent 7890A equipado com um espectrômetro de massas (CG/EM) da marca Agilent 5975C (Figura 4.3). Foram utilizadas duas colunas capilares de sílica diferentes (30 m x 250  $\mu$ m i.d., 0,25  $\mu$ m de espessura de fase). A primeira foi uma HP-5MS revestida com 5% de fenil metil silox (coluna apolar), e a segunda uma HP-INNOWax revestida com polietileno glicol (coluna polar). As condições do GC utilizadas para análises em ambas as colunas foram os seguintes: temperatura da coluna no forno, 60 °C durante 8 minutos, aumentando para 180 °C a 3 °C/min, 180-250 °C a 20 °C/min, então 250 °C por 10 minutos; temperatura do injetor, 250 °C; modo de injeção, split; razão de split 1:55; volume injetado, 0,2  $\mu$ L; o gás de arraste foi hélio com vazão 0,8 mL/min; a temperatura da interface, 250 °C; modo MS EI; tensão de EI, 70eV; intervalo de massas de aquisição, m/z 40-450.



Figura 4.3. Equipamento de cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas (CG/MS) que foi utilizado nas análises dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor.

Os componentes do óleo foram identificados por comparação de seus Índices de Retenção (IR) em ambas as colunas, determinado em relação a uma série homóloga de n-alcanos, com os de padrões puros ou relatados na literatura (Jennings e Shibamoto, 1980; Davies, 1990). Também foi realizada uma comparação dos padrões de fragmentação nos espectros de massas com os armazenados nos bancos de dados de CG/MS (Adams, 2007).

#### 4.5. Análise olfatométrica

Em Montevideu (Uruguai), na Cátedra de Farmacognosia e Produtos Naturais da Facultad de Química (UDELAR – Universidad de La República), foram realizadas as análises olfatométricas. Para a realização da olfatometria, as amostras coletadas, do mês de janeiro de 2011 para *B. uncinella* e do mês de maio de 2011 para *B. anomala* e *B. dentata*, foram analisadas por um cromatógrafo gasoso da marca Shimadzu GC 14 B (Figura 4.4) equipado com um sistema de detecção por ionização de chama (FID) e um compartimento para avaliação sensorial (sniffing port) (ODO-1 de SGE, Ringwood, Australia) - (Folsom, CA), 30 m x 0.32 mm i.d., with 0.5  $\mu\text{m}$  de espessura de fase. O gás de arraste foi o nitrogênio a 1mL/min. Foram injetados 0,4  $\mu\text{L}$  de óleo essencial no modo split, com splitless de um minuto.

O injetor e o detector estavam a 250°C. O programa de temperatura foi o seguinte: 40 °C por 5 min, aumentando a 4 °C/min até 100 °C, a 6 °C/min até 136 °C, e a 3 °C/min até 220 °C, então a 220 °C por 10 min.

A metodologia descrita tem como base o trabalho realizado por van Baren (2008). Foram selecionados quatro avaliadores (inclusive a autora desta dissertação) para realização da olfatométrica. Cada avaliador construiu uma tabela onde anotou dados de tempo, descrição do odor sentido em uma escala de 0,5 a 3,0 (de odor fraco a forte). Após isto foram comparadas as tabelas de cada avaliador e construiu-se uma só tabela para cada espécie (Tabela 4.1). A partir desta comparação, a relação de intensidade e frequência de detecção (chamado de "Frequencia modificada", MF), foi calculada com a fórmula proposta por Dravnieks, 1985:

$$FM(\%) = \sqrt{F(\%) \times I(\%)} \quad (4.19)$$

onde F (%) é a frequência de detecção de um atributo aromático expresso em percentagem (entre os 4 avaliadores) e I (%) é a intensidade média expresso em percentagem da intensidade máxima (3). A partir destes dados se construiu outra tabela (Tabela 4.2) com os resultados. Foram selecionadas aquelas frequências que tiveram uma porcentagem de frequência modificada maior de 40, e se descartaram os restantes que não alcançaram este valor, seja por ter baixa intensidade ou não haver sido detectado pela maior parte dos avaliadores (baixa frequência). Estas frequências modificadas selecionadas então graficadas em função do tempo de retenção (aromagrama). O objetivo é uma análise preliminar no estudo de aromas, com a intenção de correlacionar respostas sensoriais com compostos químicos voláteis.

Tabela 4.1. Exemplo de tabela utilizada, que foi construída juntando as tabelas dos quatro avaliadores.

Tempo	Intensidade	Avaliador 1	Avaliador 2	Avaliador 3	Avaliador 4
3,70	2		menta		
3,78	2,5	doce			
3,90	2			eucalipto	
4,15	2				mel
4,40	1,5	refrescante			
4,47	2	grama			

Tabela 4.2 Exemplo de tabela utilizada, que foi construída com comparações realizadas a partir da tabela 4.1 e com o resultado do cálculo obtido da equação 4.19 acima.

FM	TR	IR*	Composto	Descrição
41	4,65			mel
41	5,00	IR x	composto x	doce
46	6,16			cheiro de óleo essencial
50	6,80			doce
50	9,12			ferro

\* obtido pela análise CG/FID



Figura 4.4. Cromatógrafo CG/FID/O utilizado na análise dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor.

Fonte: van Baren, 2008.

#### 4.6. Determinação da atividade antimicrobiana

Os microorganismos testados foram selecionados, principalmente, em função da Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988 da ANVISA, que indica no subanexo 2 (Quadro 4.2) os microorganismos que devem ser testados para classificar produtos como saneantes. Além disso, algumas cepas de fungos foram selecionadas para completar o leque de microorganismos.

Quadro 4.2 Portaria nº 15 da ANVISA: Microorganismo para avaliação da ação antimicrobiana.

	<b>Classe</b>	<b>Microorganismos</b>
A	Desodorizantes:	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella choleraesuis</i> .
B	Desinfetantes para uso geral:	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella choleraesuis</i> .
C	Desinfetantes para indústria alimentícia:	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i> .
D	Desinfetantes para piscinas:	<i>Streptococcus faecalis</i> e <i>Escherichia coli</i> .
E	Desinfetantes para lactários:	<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella choleraesuis</i> .
F	Desinfetantes hospitalares para superfícies fixas:	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
G	Desinfetantes hospitalares para artigos semi-críticos:	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella choleraesuis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Tricophyton mentagrophytes</i> , <i>Mycobacterium amegmatis</i> e <i>Myctobacterium bovis</i> .
H	Esterilizantes:	<i>Bacillus subtilis</i> e <i>Clostridium sporogenes</i> (esporos).

#### 4.6.1. Preparação dos Meios de Cultura para bactérias

Os microorganismos *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) foram padronizados pelo tubo 1 da escala de McFarland. Para cada 100mL do meio de cultura ágar Müller-Hinton foram inoculados 1mL da solução padronizada de cada microorganismo. A *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis (ATCC 10708) foi padronizada segundo o tubo 1 da escala de McFarland, sendo inoculados 2mL de inóculo para cada 100mL de meio de cultura (Pereira, 2010).

#### 4.6.2. Preparação dos Meios de Cultura para fungos

Os microorganismos *Candida albicans* (ATCC 90028), *Aspergillus niger* (ATCC 16404), *Candida parapsilosis* (ATCC 22019), *Cryptococcus neoformans* (ATCC 14116), *Rhizopus stolonifer* (ATCC 6227b), *Fusarium Solani* (ATCC 36031) e *Aspergillus oryzae* (ATCC 10124) foram padronizados pelo tubo 0,5 da escala de McFarland. Para cada 100mL do meio de cultura PDA (potato dextrose agar) foram inoculados 1mL da solução padronizada de cada microorganismo.

### 4.6.3. Bioautografia

Em placas de Petri se adicionou uma camada base de meio de cultura inoculado, introduziram-se as placas cromatográficas e, posteriormente, acrescentou-se uma segunda camada de meio de cultura inoculado. Após o tempo de crescimento dos microorganismos, foi adicionado um sal de tetrazólio, INT “*p-iodonitrotetrazolium violet*”, para visualização dos halos de inibição (Pereira, 2010; Valgas, 2002). Pelo método da bioautografia se avalia qualitativamente a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente aos microorganismos (Valgas, 2002). É um teste simples que permite uma triagem inicial. A Figura 4.5 representa graficamente os passos da bioautografia. Os testes para as bactérias foram realizados na Faculdade de Farmácia da PUCRS (para as amostras de maio de 2011), já os testes com fungos foram realizados na Cátedra de Farmacognosia da Universidad de La República, Uruguai (para as amostras de janeiro de 2011).

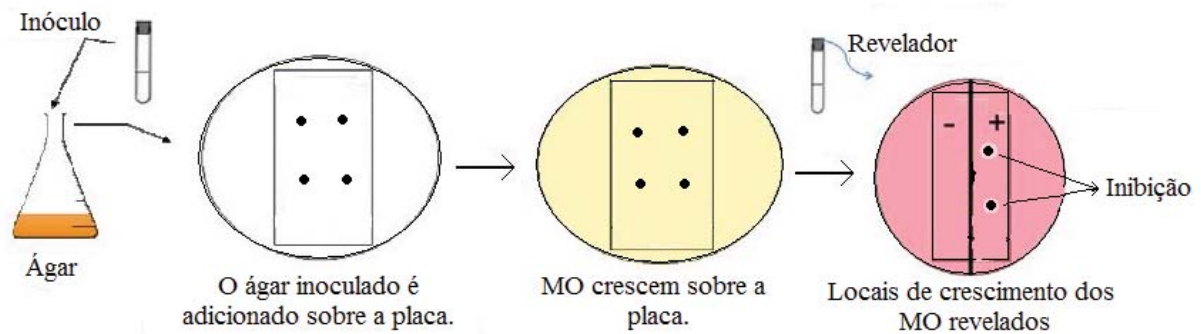


Figura 4.5. Esquema gráfico da bioautografia indireta realizada.

Fonte: Adaptado de Pereira (2010).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados apresentados a seguir são para as três espécies de *Baccharis*: *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella*. As análises foram realizadas a partir dos extratos voláteis extraídos por destilação por arraste a vapor do material vegetal coletado em janeiro e maio de 2011.

### 5.1. Destilação por arraste a vapor

Para cada espécie de planta foram realizadas extrações em triplicata, isto é, foram realizadas três extrações para cada uma das três espécies de *Baccharis* para as amostras dos meses de janeiro e maio. Os resultados médios e os respectivos desvios padrão se encontram na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Dados experimentais dos rendimentos médios (mL) por tempo (min) da extração dos óleos essenciais de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella* dos meses de janeiro e maio de 2011.

Tempo (min)	Rendimento (mL)					
	<i>B. anomala</i>		<i>B. dentata</i>		<i>B. uncinella</i>	
	Janeiro	Maio	Janeiro	Maio	Janeiro	Maio
0	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000	0,000±0,000
5	0,038±0,018	0,025±0,000	0,038±0,018	0,025±0,000	0,050±0,000	0,125±0,035
10	0,063±0,018	0,038±0,018	0,050±0,000	0,038±0,018	0,088±0,018	0,200±0,000
15	0,088±0,018	0,078±0,004	0,075±0,000	0,053±0,004	0,125±0,035	0,300±0,000
20	0,113±0,018	0,088±0,018	0,093±0,011	0,074±0,035	0,163±0,018	0,350±0,035
25	0,138±0,018	0,113±0,018	0,100±0,000	0,076±0,035	0,213±0,004	0,375±0,000
30	0,150±0,000	0,113±0,018	0,100±0,000	0,078±0,039	0,275±0,035	0,400±0,000
35	0,150±0,000	0,113±0,018	0,100±0,000	0,078±0,039	0,325±0,035	0,425±0,000
40	0,150±0,000	-	-	0,078±0,039	0,375±0,000	0,425±0,000
45	-	-	-	-	0,375±0,000	0,425±0,000
50	-	-	-	-	0,375±0,000	0,425±0,000



As massas específicas experimentais obtidas foram:  $0,702\text{g/cm}^3$  para *B. anomala*;  $0,704\text{g/cm}^3$  para *B. dentata* e  $0,768\text{g/cm}^3$  para *B. uncinella*. Os rendimentos máximos de óleo para as espécies estudadas e o desvio padrão entre estes valores estão na Tabela 5.2. Estes resultados são relativos à massa seca total utilizada na extração (200 gramas).

Tabela 5.2. Rendimento máximo de extração do óleo essencial de *Baccharis spp.* por destilação por arraste a vapor em Janeiro e Maio.

	<i>B. anomala</i>			<i>B. dentata</i>			<i>B. uncinella</i>		
	Janeiro	Maio	DP	Janeiro	Maio	DP	Janeiro	Maio	DP
Rendimento máximo % (m/m)	0,053	0,040	$\pm 0,009$	0,035	0,027	$\pm 0,006$	0,144	0,163	$\pm 0,013$

DP – Desvio padrão entre os valores de rendimento obtidos nos meses de janeiro e maio para cada espécie estudada.

Para as coletas de janeiro, os rendimentos médios máximos obtidos foram de: 0,150 mL para *B. anomala*, 0,100 mL para *B. dentata* e 0,375 mL para *B. uncinella*. Já para as coletas de maio, os rendimentos médios máximos obtidos foram de: 0,113 mL para *B. anomala*, 0,078 mL para *B. dentata* e 0,425 mL para *B. uncinella*. A partir destes resultados e dos dados apresentados na Tabela 5.2, pode-se observar que o mês de coleta tem pouca influência sobre o rendimento médio (mL) de cada espécie e para 200 gramas de material vegetal seco, *B. uncinella* apresenta maior rendimento em relação às demais.

## 5.2. Modelagem matemática do processo de destilação por arraste a vapor

Os parâmetros  $K_1$  e  $K_2$  foram estimados pela minimização da soma dos quadrados dos erros entre os dados experimentais e os dados de previsão do modelo matemático, e são apresentados na Tabela 5.3. Os parâmetros  $K_1$  e  $K_2$  estão associados com o equilíbrio de fase e com o coeficiente de transferência de massa interna, respectivamente, conforme a equação 4.18 e 4.13.

Tabela 5.3. Parâmetros estimados para o modelo de transferência de massa relativos à extração do óleo essencial de *Baccharis ssp.* por destilação por arraste a vapor.

Parâmetro	<i>B. anomala</i>		<i>B. dentata</i>		<i>B. uncinella</i>	
	Janeiro	Maio	Janeiro	Maio	Janeiro	Maio
$K_1$ (g/min)	0,0040	0,0033	0,0035	0,0026	0,0064	0,0156
$K_2$ (min <sup>-1</sup> )	0,1563	0,1169	0,1688	0,1231	0,1383	0,0989

A comparação entre os dados experimentais e os resultados gerados pelo modelo matemático para o rendimento *versus* tempo de extração para *B. anomala*, *B. dentata*, e *B. uncinella* são mostrados nas Figuras 5.1, 5.2 e 5.3, respectivamente.

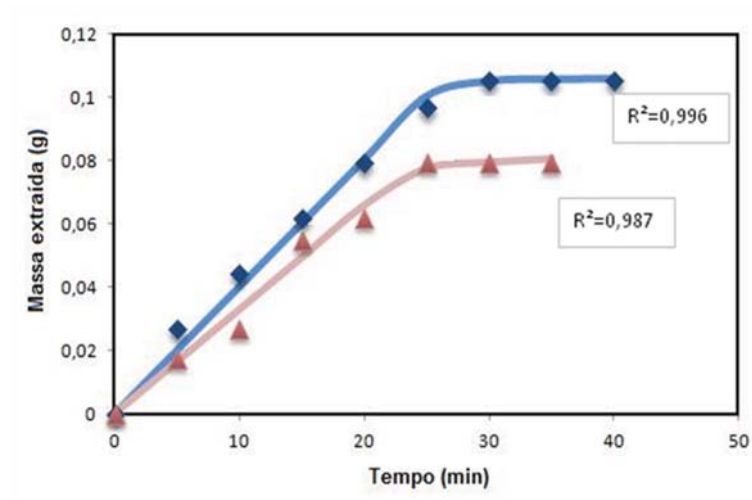


Figura 5.1. Curvas de rendimento *versus* tempo da extração por destilação por arraste a vapor do óleo essencial de *B. anomala*: (—) modelo matemático e dados experimentais (■ – janeiro; ▲ – maio)

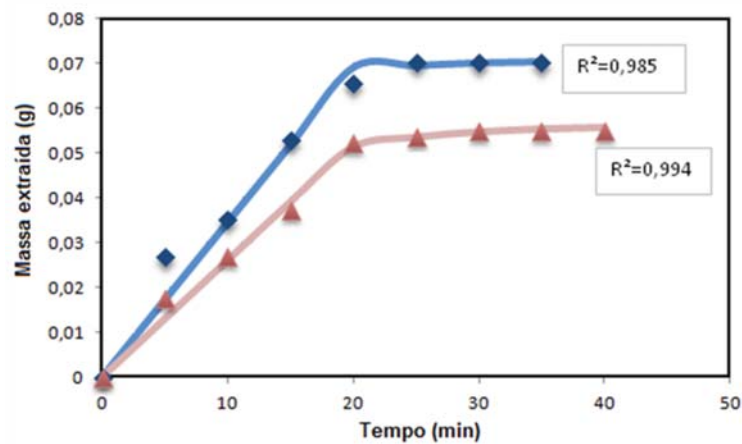


Figura 5.2. Curvas de rendimento *versus* tempo da extração por destilação por arraste a vapor do óleo essencial de *B. dentata*: (—) modelo matemático e dados experimentais (■ – janeiro; ▲ – maio)

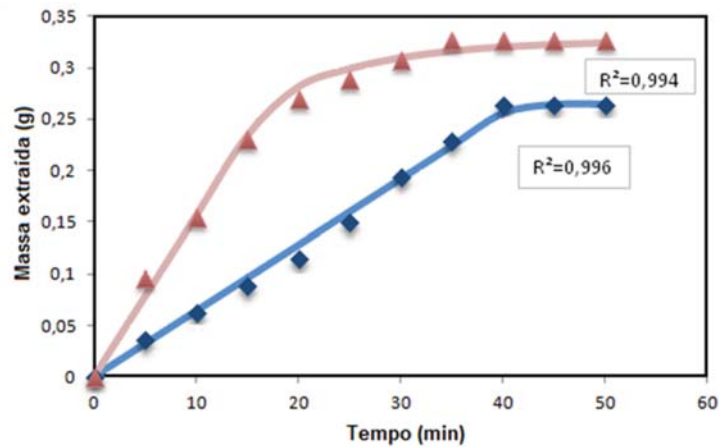


Figura 5.3. Curvas de rendimento *versus* tempo da extração por destilação por arraste a vapor do óleo essencial de *B. uncinella*: (—) modelo matemático e dados experimentais (■ – janeiro; ▲ – maio).

A análise dos resultados indicou que o modelo matemático, com base em fundamentos de transferência de massa, ajustou muito bem os dados experimentais, o que pode ser comprovado pelo cálculo do  $R^2$  (os valores estão nas Figuras 5.1, 5.2 e 5.3), todos maiores que 0,98. Os resultados apresentados nas Figuras 5.1, 5.2 e 5.3 indicam que o rendimento de óleo essencial da *B. anomala* e *B. dentata* foi superior em janeiro, enquanto que para *B. uncinella* os resultados foram muito semelhantes, com uma pequena superioridade para o mês de maio.

### 5.3. Análise por cromatografia gasosa/espectrometria de massas (CG/EM)

As análises por cromatografia gasosa/espectrometria de massas (CG/EM) permitiram identificar os compostos voláteis presentes nos óleos essenciais extraídos das partes aéreas (folhas e galhos) das plantas nativas *Baccharis anomala*, *Baccharis dentata* e *Baccharis uncinella*, coletadas nos meses de janeiro e maio de 2011. Na amostra de óleo essencial de *B. anomala* coletada em janeiro foram identificados 58 compostos, representando 93,25% do óleo essencial (Tabela 5.4). Na amostra de óleo essencial de *B. anomala* coletada em maio foram identificados 26 compostos, representando 97,80% do óleo essencial (Tabela 5.5).

Tabela 5.4. Composição percentual do óleo essencial de *B. anomala* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-tujeno</i>	0,11	920	-
<i>α-pineno</i>	1,19	928	1023
<i>sabineno</i>	2,67	968	1121
<i>β-pineno</i>	3,28	970	1110
<i>mirceno</i>	0,33	988	-
<i>α-terpineno</i>	0,20	1013	1177
<i>p-cimeno</i>	0,21	1021	1270
<i>limoneno</i>	1,33	1025	1200
<i>γ-terpineno</i>	0,36	1055	1245
<i>terpinoleno</i>	0,10	1084	1281
<i>linalol</i>	0,13	1094	-
<i>trans-hidrato de sabineno</i>	0,30	1098	1469
<i>perileno</i>	0,31	1102	-
<i>trans-p-menta-2,8-dien-1-ol</i>	0,14	1117	-
<i>α-canfonelal</i>	0,11	1122	1488
<i>trans-pinocarveol</i>	0,56	1134	-
<i>nopinona</i>	0,13	1136	1571
<i>trans-sabinol</i>	0,18	1140	-
<i>sabina ketone</i>	tr <sup>e</sup>	1154	-
<i>pinocarvona</i>	0,78	1157	1562
<i>p-menta-1,5-dien-8-ol</i>	tr	1166	-
<i>terpinen-4-ol</i>	0,75	1173	1604
<i>criptona</i>	1,12	1181	1665
<i>α-terpineol</i>	tr	1187	1688
<i>mirtenol</i>	0,49	1191	-
<i>safranal</i>	0,46	1192	1657
<i>verbenona</i>	tr	1204	-
<i>trans-carveol</i>	0,15	1215	-
<i>cis-carveol</i>	tr	1227	-
<i>cuminaldeído</i>	0,63	1235	-
<i>carvona</i>	0,17	1239	1733
<i>perilaldeído</i>	0,34	1269	-
<i>α-terpinen-7-al</i>	0,12	1279	1800
<i>α-copaeno</i>	0,22	1373	1483
<i>β-elemeno</i>	1,10	1387	1595
<i>2-epi-β-funebreno</i>	1,50	1407	-
<i>(E)-cariofileno</i>	3,23	1413	1589

...continuação da Tabela 5.4.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-trans-bergamoteno</i>	0,10	1430	1582
<i>α-humuleno</i>	2,01	1447	1662
<i>(E)-β-farneseno</i>	0,34	1454	-
<i>β-acoradieno</i>	0,43	1468	1671
<i>γ-muuroleno</i>	0,33	1476	-
<i>β-selineno</i>	40,82	1485	1719
<i>biciclogermacreno</i>	1,51	1499	1728
<i>α-muuroleno</i>	0,48	1503	1723
<i>trans-β-guaieno</i>	0,16	1506	-
<i>γ-cadineno</i>	0,33	1510	-
<i>δ-cadineno</i>	0,10	1517	-
<i>hedicariol</i>	0,70	1545	-
<i>germacreno-B</i>	0,19	1556	-
<i>espatulenol</i>	6,76	1574	2129
<i>óxido de cariofileno</i>	9,90	1578	1982
<i>globulol</i>	0,27	1591	-
<i>humuleno epóxido II</i>	3,52	1609	-
<i>1-epi-cubenol</i>	0,21	1627	-
<i>β-eudesmol</i>	1,11	1644	-
<i>α-cadinol</i>	0,76	1655	-
<i>cadaleno</i>	0,52	1673	-
<b>Total identificado</b>	<b>93,25</b>		

<sup>a</sup>A identificação dos picos é baseada na comparação de seus índices de retenção linear (IRL), em duas colunas cromatográficas com os de padrões puros e espectros de massa (MS) com a literatura (Adams, 2007). <sup>b</sup>Os valores correspondem a proporções relativas dos constituintes dos óleos essenciais que foram expressas em percentuais obtidos pela normalização da área do pico. <sup>c</sup>Os componentes são relatados de acordo com sua ordem de eluição na HP-5 MS. <sup>d</sup>Os compostos foram identificados nas duas colunas cromatográficas. <sup>e</sup>tr: %Area < 0,1.

Tabela 5.5. Composição percentual do óleo essencial de *B. anomala* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de maio de 2011.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-tujeno</i>	tr <sup>e</sup>	924	-
<i>α-pineno</i>	0,14	930	1023
<i>sabineno</i>	2,40	972	1121
<i>β-pineno</i>	1,64	974	1110

...continuação da Tabela 5.5.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>mirceno</i>	0,25	992	-
<i>limoneno</i>	7,70	1031	1200
<i>γ-terpineno</i>	0,11	1059	1245
<i>β-cubebeno</i>	0,91	1386	1538
<i>β-elemeno</i>	19,76	1392	1595
<i>2-epi-β-funebreno</i>	1,05	1414	-
<i>E-cariofileno</i>	21,41	1419	1589
<i>α-humuleno</i>	5,09	1456	1662
<i>(E)-β-farneseno</i>	1,17	1459	-
<i>β-acoradieno</i>	0,82	1469	1671
<i>germacreno D</i>	3,31	1482	1699
<i>β-selineno</i>	2,40	1487	1719
<i>biciclogermacreno</i>	9,69	1498	1728
<i>γ-cadineno</i>	15,73	1512	-
<i>δ-cadineno</i>	2,01	1518	-
<i>espatulenol</i>	0,20	1582	2129
<i>óxido de cariofilleno</i>	0,37		1982
<i>globulol</i>	0,25	1593	-
<i>humuleno epoxido II</i>	0,14	1613	-
<i>1-epi-cubenol</i>	0,14	1629	-
<i>α-cadinol</i>	0,96	1657	-
<i>cadaleno</i>	0,15	1672	-
<b>Total identificado</b>	<b>97,80</b>		

<sup>a</sup>A identificação dos picos é baseada na comparação de seus índices de retenção linear (IRL), em duas colunas cromatográficas com os de padrões puros e espectros de massa (MS) com a literatura (Adams, 2007). <sup>b</sup>Os valores correspondem a proporções relativas dos constituintes dos óleos essenciais que foram expressas em percentuais obtidos pela normalização da área do pico. <sup>c</sup>Os componentes são relatados de acordo com sua ordem de eluição na HP-5 MS. <sup>d</sup>Os compostos foram identificados nas duas colunas cromatográficas. <sup>e</sup>tr: %Area < 0,1.

Na amostra de óleo essencial de *B. dentata* coletada em janeiro foram identificados 64 compostos, representando 91,90% do óleo essencial (Tabela 5.6). Na amostra de óleo essencial de *B. dentata* coletada em maio foram identificados 33 compostos, representando 98,26% do óleo essencial (Tabela 5.7).

Tabela 5.6. Composição percentual do óleo essencial de *B. dentata* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-pineno</i>	1,23	930	1024
<i>β-pineno</i>	2,26	974	1110
<i>mirreno</i>	0,50	990	-
<i>α-felandreno</i>	tr <sup>e</sup>	1003	-
<i>para-cimeno</i>	0,17	1020	1271
<i>limoneno</i>	6,98	1029	1201
<i>γ-terpineno</i>	tr	1058	-
<i>terpinoleno</i>	tr	1084	-
<i>p-cimeno</i>	tr	1085	-
<i>linalol</i>	0,24	1095	1559
<i>n-nonanal</i>	0,11	1104	-
<i>trans-p-menta-2,8-dien-1-ol</i>	0,16	1118	-
<i>α-canfonelal</i>	tr	1125	-
<i>nopinona</i>	0,25	1134	1572
<i>trans-sabinol</i>	1,13	1137	-
<i>cânfora</i>	0,11	1142	-
<i>citronelal</i>	tr	1153	-
<i>pinocarvona</i>	0,70	1160	1563
<i>p-menta-1,5-dien-8-ol</i>	tr	1165	-
<i>terpinen-4-ol</i>	0,25	1175	-
<i>criptona</i>	0,12	1184	-
<i>α-terpineol</i>	0,38	1190	-
<i>mirtenol</i>	0,96	1193	1798
<i>mirtenal</i>	1,37	1194	1624
<i>cis-piperitol</i>	tr	1196	-
<i>safranal</i>	0,17	1197	-
<i>trans-carveol</i>	0,86	1217	1874
<i>cis-carveol</i>	0,29	1229	1844
<i>carvona</i>	1,15	1242	1731
<i>geraniol</i>	tr	1254	-
<i>geranial</i>	0,15	1269	-
<i>perilálcool</i>	0,11	1296	-
<i>α-cubebeno</i>	0,24	1348	1452
<i>α-copaeno</i>	1,16	1373	1482
<i>β-cubebeno</i>	0,28	1387	1538
<i>β-elemeno</i>	3,28	1389	-
<i>β-longipineno</i>	0,53	1399	-

...continuação da Tabela 5.6

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-gurjuneno</i>	0,22	1407	-
<i>(E)-cariofileno</i>	6,20	1416	1587
<i>β-copaeno</i>	0,33	1425	-
<i>β-gurjuneno</i>	tr <sup>e</sup>	1428	-
<i>α-trans-bergamoteno</i>	0,62	1432	1581
<i>cis-muurola-3,5-dieno</i>	0,26	1444	1887
<i>α-humuleno</i>	1,59	1450	1658
<i>(E)-β-farneseno</i>	0,29	1456	1649
<i>trans-cadina-1(6)-4-diene</i>	0,27	1471	1487
<i>γ-muuroleno</i>	1,22	1475	1682
<i>germacreno D</i>	6,81	1482	1699
<i>β-selineno</i>	1,11	1485	1708
<i>(E)-β-ionona</i>	0,37	1486	1936
<i>cis-β-guaieno</i>	1,84	1490	-
<i>viridifloreno</i>	1,11	1495	1687
<i>biciclogermacreno</i>	2,57	1499	1725
<i>α-muuroleno</i>	0,51	1500	1718
<i>δ-amorfeno</i>	0,41	1509	-
<i>γ-cadineno</i>	0,21	1511	-
<i>δ-cadineno</i>	1,59	1520	1752
<i>α-calacoreno</i>	2,47	1539	-
<i>germacreno B</i>	0,39	1554	-
<i>espatulenol</i>	15,03	1574	2129
<i>óxido de cariofileno</i>	16,82	1584	1972
<i>viridiflorol</i>	0,70	1590	-
<i>humuleno epóxido II</i>	2,97	1603	-
<b>Total identificado</b>	<b>91,90</b>		

<sup>a</sup>A identificação dos picos é baseada na comparação de seus índices de retenção linear (IRL), em duas colunas cromatográficas com os de padrões puros e espectros de massa (MS) com a literatura (Adams, 2007). <sup>b</sup>Os valores correspondem a proporções relativas dos constituintes dos óleos essenciais que foram expressas em percentuais obtidos pela normalização da área do pico. <sup>c</sup>Os componentes são relatados de acordo com sua ordem de eluição na HP-5 MS. <sup>d</sup>Os compostos foram identificados nas duas colunas cromatográficas. <sup>e</sup>tr: %Area < 0,1.



Tabela 5.7. Composição percentual do óleo essencial de *B. dentata* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de maio de 2011.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-tujeno</i>	0,13	924	-
<i>α-pineno</i>	4,85	930	1024
<i>sabineno</i>	0,78	971	-
<i>β-pineno</i>	8,87	975	1110
<i>mirreno</i>	1,65	992	-
<i>para-cimeno</i>	0,15	1025	1271
<i>limoneno</i>	15,32	1031	1201
<i>e-β-ocimeno</i>	1,32	1050	-
<i>γ-terpineno</i>	0,16	1059	-
<i>α-cubebeno</i>	0,23	1350	1452
<i>α-copaeno</i>	1,59	1376	1482
<i>β-cubebeno</i>	0,62	1386	1538
<i>β-elemeno</i>	6,84	1394	1595
<i>α-gurjuneno</i>	0,23	1413	-
<i>(E)-cariofileno</i>	16,35	1422	1587
<i>β-copaeno</i>	0,39	1429	-
<i>α-humuleno</i>	2,41	1454	1658
<i>γ-muuroleno</i>	0,50	1475	1682
<i>germacreno D</i>	12,62	1484	1699
<i>β-selineno</i>	0,74	1487	1708
<i>cis-β-guaieno</i>	0,45	1492	-
<i>biciclogermacreno</i>	9,60	1499	1725
<i>α-muuroleno</i>	0,77	1503	1718
<i>δ-amorfeno</i>	0,26	1511	-
<i>γ-cadineno</i>	0,77	1517	-
<i>δ-cadineno</i>	2,29	1525	1752
<i>α-calacoreno</i>	0,21	1545	-
<i>germacreno B</i>	0,24	1561	-
<i>espatulenol</i>	2,50	1583	2129
<i>óxido de cariofileno</i>	3,91		1972
<i>viridiflorol</i>	0,38	1594	-
<i>humuleno epoxido II</i>	0,40	1608	-
<i>epi-α-muurolol (tau-muurolol)</i>	0,73	1643	-
<b>Total identificado</b>	<b>98,26</b>		

<sup>a</sup>A identificação dos picos é baseada na comparação de seus índices de retenção linear (IRL), em duas colunas cromatográficas com os de padrões puros e espectros de massa (MS) com a literatura (Adams, 2007). <sup>b</sup>Os valores correspondem a proporções relativas dos constituintes dos óleos essenciais que

foram expressas em percentuais obtidos pela normalização da área do pico. <sup>c</sup>Os componentes são relatados de acordo com sua ordem de eluição na HP-5 MS. <sup>d</sup>Os compostos foram identificados nas duas colunas cromatográficas. <sup>e</sup>tr: %Area < 0,1.

Na amostra de óleo essencial de *B. uncinella* coletada em janeiro foram identificados 65 compostos, representando 90,19% do óleo essencial (Tabela 5.8). Na amostra de óleo essencial de *B. uncinella* coletada em maio foram identificados 31 compostos, representando 93,45% do óleo essencial (Tabela 5.9).

Tabela 5.8. Composição percentual do óleo essencial de *B. uncinella* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup>	
		HP-5MS	HP-INNOWax
<i>α-tujeno</i>	0,38	920	-
<i>α-pineno</i>	2,97	928	1023
<i>canfeno</i>	0,18	946	1067
<i>sabineno</i>	0,51	967	1120
<i>β-pineno</i>	2,05	970	1110
<i>mirreno</i>	0,17	988	-
<i>α-felandreno</i>	0,26	1001	1027
<i>α-terpineno</i>	0,13	1013	1177
<i>p-cimeno</i>	0,86	1021	1270
<i>limoneno</i>	2,86	1025	1201
<i>γ-terpineno</i>	0,22	1055	1245
<i>terpinoleno</i>	0,18	1084	-
<i>linalol</i>	0,14	1098	1558
<i>α-canfonelal</i>	0,64	1122	1488
<i>trans-pinocarveol</i>	1,03	1134	-
<i>trans-verbenol</i>	0,77	1141	-
<i>pinocarvona</i>	0,60	1157	1562
<i>borneol</i>	1,73	1161	1682
<i>p-menta-1,5-dien-8-ol</i>	0,24	1164	-
<i>terpinen-4-ol</i>	1,15	1173	1603
<i>p-metil-acetofenone</i>	tr <sup>e</sup>	1180	-
<i>criptona</i>	0,21	1182	1667
<i>α-terpineol</i>	0,26	1187	-
<i>mirtenol</i>	1,27	1190	1797
<i>safranal</i>	tr	1194	-
<i>verbenona</i>	0,29	1204	-
<i>trans-carveol</i>	0,53	1215	1855

...continuação da Tabela 5.8

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>cis-carveol</i>	tr <sup>e</sup>	1227	-
<i>cuminaldeído</i>	0,18	1235	1771
<i>carvona</i>	0,50	1239	1731
<i>geranial</i>	0,22	1269	1714
<i>α-cubebeno</i>	0,39	1344	1452
<i>α-copaeno</i>	1,96	1370	1483
<i>β-cubebeno</i>	1,03	1385	1542
<i>β-elemeno</i>	0,31	1387	1594
<i>β-longipineno</i>	0,42	1399	-
<i>α-gurjuneno</i>	0,83	1403	1520
<i>2-epi-β-funebreno</i>	0,18	1406	-
<i>(E)-cariofileno</i>	4,36	1413	1588
<i>β-copaeno</i>	0,38	1425	-
<i>β-gurjuneno</i>	0,16	1428	-
<i>α-trans-bergamoteno</i>	1,54	1432	-
<i>cis-muurola-3,5-dieno</i>	0,16	1444	-
<i>α-humuleno</i>	1,10	1447	1660
<i>E-β-farneseno</i>	1,39	1454	-
<i>trans-cadina-1(6),4-dieno</i>	0,81	1471	-
<i>γ-muuroleno</i>	2,76	1475	1701
<i>germacreno-D</i>	0,36	1481	1714
<i>β-selineno</i>	1,36	1485	1709
<i>trans-muurola-4(14),5-dieno</i>	3,46	1489	-
<i>viridifloreno</i>	2,59	1494	1688
<i>biciclogermacreno</i>	0,71	1501	1726
<i>germacreno-A</i>	1,30	1508	-
<i>δ-amorfenol</i>	1,40	1512	-
<i>δ-cadineno</i>	3,60	1517	1753
<i>α-calacoreno</i>	1,77	1545	1912
<i>espatulenol</i>	17,18	1574	2129
<i>óxido de cariofileno</i>	10,80	1577	1978
<i>globulol</i>	1,28	1586	-
<i>ledol</i>	1,73	1601	-
<i>1-epi-cubenol</i>	1,04	1624	-
<i>epi-α-murolol</i>	0,98	1640	-
<i>cubenol</i>	1,11	1644	1994

...continuação da Tabela 5.8

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>trans-calamenen-10-ol</i>	0,63	1663	-
<i>cadaleno</i>	0,58	1674	-
<i>Total identificado</i>	<b>90,19</b>		

<sup>a</sup>A identificação dos picos é baseada na comparação de seus índices de retenção linear (IRL), em duas colunas cromatográficas com os de padrões puros e espectros de massa (MS) com a literatura (Adams, 2007). <sup>b</sup>Os valores correspondem a proporções relativas dos constituintes dos óleos essenciais que foram expressas em percentuais obtidos pela normalização da área do pico. <sup>c</sup>Os componentes são relatados de acordo com sua ordem de eluição na HP-5 MS. <sup>d</sup>Os compostos foram identificados nas duas colunas cromatográficas. <sup>e</sup>tr: %Area < 0,1.

Tabela 5.9. Composição percentual do óleo essencial de *B. uncinella* extraído por arraste a vapor das plantas coletadas no mês de maio de 2011.

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>α-tujeno</i>	4,48	925	1020
<i>α-pineno</i>	22,50	935	1017
<i>canfeno</i>	0,16	944	-
<i>sabineno</i>	3,26	974	1113
<i>β-pineno</i>	16,49	977	1100
<i>mirceno</i>	1,87	990	-
<i>α-felandreno</i>	tr <sup>e</sup>	1006	-
<i>limoneno</i>	16,06	1031	1192
<i>γ-terpineno</i>	0,18	1056	1236
<i>terpinoleno</i>	0,14	1086	-
<i>trans-pinocarveol</i>	0,21	1134	-
<i>trans-verbenol</i>	0,14	1141	-
<i>pinocarvona</i>	0,15	1158	-
<i>terpinen-4-ol</i>	0,41	1172	-
<i>criptona</i>	0,14	1182	1657
<i>mirtenol</i>	0,18	1193	-
<i>verbenona</i>	tr	1207	-
<i>carvona</i>	0,35	1243	-
<i>geranial</i>	0,13	1261	1707
<i>α-cubebeno</i>	0,10	1346	-
<i>α-copaeno</i>	0,67	1372	1481
<i>β-elemeno</i>	0,44	1390	1595
<i>α-gurjuneno</i>	0,19	1409	-

... continuação da Tabela 5.9

COMPOSTO <sup>a</sup>	%ÁREA <sup>b</sup>	IR <sup>c</sup> HP-5MS	IR <sup>d</sup> HP-INNOWax
<i>E-cariofileno</i>	3,89	1422	1587
<i>germacreno D</i>	1,38	1484	1716
<i>biciclogermacreno</i>	2,50	1497	1726
<i>δ-cadineno</i>	2,63	1527	1753
<i>α-calacoreno</i>	0,33	1547	1909
<i>espatulenol</i>	10,60	1582	2129
<i>óxido de cariofileno</i>	2,27		1978
<i>globulol</i>	1,60	1592	-
<i>Total identificado</i>	<b>93,45</b>		

<sup>a</sup>A identificação dos picos é baseada na comparação de seus índices de retenção linear (IRL), em duas colunas cromatográficas com os de padrões puros e espectros de massa (MS) com a literatura (Adams, 2007). <sup>b</sup>Os valores correspondem a proporções relativas dos constituintes dos óleos essenciais que foram expressas em percentuais obtidos pela normalização da área do pico. <sup>c</sup>Os componentes são relatados de acordo com sua ordem de eluição na HP-5 MS. <sup>d</sup>Os compostos foram identificados nas duas colunas cromatográficas. <sup>e</sup>tr: %Area < 0,1.

Em janeiro, o componente majoritário para *B. anomala* identificado por CG/EM é o β-selineno (40,82%). Para a *B. dentata* e *B. uncinella*, em janeiro, os componentes majoritários são o espatulenol (15,03% e 17,18%, respectivamente) e o óxido de cariofileno (16,82% e 10,80%), onde se observa diferença significativa em seus índices, quando comparados com os índices obtidos para os óleos extraídos de outras plantas do gênero *Baccharis*. Por exemplo, para o espatulenol e para o óxido de cariofileno são encontrados os seguintes índices respectivamente: *B. salicifolia* – 1,09% e 0,49% (Loyaza et al., 1995); *B. crispa* – 3,10% e 2,20% (Oliva et al., 2007); *B. cordobensis* - < 0,10% e 5,90% (Zunino et al., 2000); *B. latifolia* – 0,84% e 0,36% (Loyaza et al., 1995); *B. tenella* – 29,40% e 8,20% (Biurrun et al., 2005); *B. obovata* – 1,40% e 1,10% (Malizia, 2005); *B. halimifolia* – 1,20% e 7,00% (Pino et al., 2006); *B. dracunculifolia* – 3,70% e 0,00% (Queiroga et al., 2008); *B. articulata* – 4,20% e 2,40% (Simionatto et al., 2008).

Enquanto que em maio, para *B. anomala* os componentes majoritários são β-elemeno (19,76%), (E)-cariofileno (21,41%) e γ-cadineno (15,73%). Para *B. dentata* são limoneno (15,32%), (E)-cariofileno (16,35%) e germacreno D (12,62%). Para *B. uncinella* são α-pineno (22,50%), β-pineno (16,49%), limoneno (16,06%) e

espatulenol (10,60%). Na literatura, para os compostos (E)-cariofileno e limoneno são encontrados os seguintes índices respectivamente: *B. salicifolia* – 6,00% e 1,0% (Loyaza et al., 1995); *B. crispa* – 3,5 e 4,3% (Oliva et al., 2007); *B. cordobensis* – 4,5% e 1,0% (Zunino et al., 2000); *B. latifolia* – 2,17% e 23,63% (Loyaza et al., 1995).

#### 5.4. Análise olfatométrica

As descrições realizadas por quatro avaliadores na avaliação olfativa por CG/O foram compiladas e processadas de acordo com a metodologia descrita no item 4.5. Os dados de FM (Frequência modificada) calculados (acima de 40) e a identificação dos compostos por CG/FID apresentam-se nas Tabelas 5.10, 5.11 e 5.12 para *Baccharis anomala*, *Baccharis dentata* e *Baccharis uncinella*, respectivamente.

Tabela 5.10. Dados obtidos da caracterização do perfil olfativo do óleo essencial de *B. anomala* extraído por arraste a vapor de plantas coletadas no mês de maio de 2011.

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
41	6,29	1113	β-pineno	mel
61	6,64	1120	sabineno	alho, doce
41	7,00	1127	-	doce, remédio
41	9,54	1178	Não identificado	doce, cítrico
58	10,20	1192	limoneno	doce, refrescante, pasta de dente, tinta de caneta, químico
46	12,75	1238	γ-terpineno	amêndoa
41	13,55	1252	Não identificado	ardência
41	14,78	1274	-	remédio
41	15,98	1296	-	ferro
41	16,13	1298	-	doce
58	18,15	1336	-	doce
50	18,54	1344	-	fruta
50	18,69	1347	-	doce
76	18,84	1350	-	gás de garrafa, queimado, sebo, vela, enxofre
50	19,10	1354	-	ruim
41	19,64	1365	-	ferro
54	20,39	1379	-	perfume bom
50	20,56	1382	-	perfume bom
41	20,76	1386	-	lavanda
41	21,70	1404	-	limpeza
41	21,90	1408	-	doce
41	22,11	1413	-	rosas
41	22,19	1414	-	borracha
61	22,48	1420	-	amendoim queimado, castanha
41	22,78	1426	-	amendoim quimado
50	23,08	1432	-	amendoim
41	23,45	1440	-	pneu

...continuação Tabela 5.10

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
50	23,89	1449	-	remédio
54	24,17	1455	-	ferro, percevejo
41	24,40	1459	-	queimado
41	24,84	1468	-	lavanda
65	25,07	1473	-	doce, doce de leite
41	25,48	1482	-	doce
41	25,89	1490	-	vapor
50	27,04	1514	-	asfalto
65	27,30	1520	-	nozes
41	27,66	1528	$\beta$ -cubebeno	antiguidade
58	29,12	1560	-	couro, queijo, salgadinho
58	29,84	1575	(E)-cariofileno	percevejo, doce
50	30,00	1579	$\beta$ -elemeno	inceticida, rosas
41	30,30	1585	Não identificado	percevejo, frutal
41	30,60	1592	-	vapor
41	30,90	1598	-	arde
41	31,46	1612	-	banana
41	31,60	1615	-	banana
41	31,75	1619	-	coco, fruta
41	31,85	1621	-	água de coco
41	32,00	1625	-	amendoim doce
41	32,40	1635	Não identificado	doce de amendoim
50	32,54	1638	Não identificado	pêra
50	33,20	1654	-	queijo, salgadinho
50	33,60	1664	$\alpha$ -humuleno	queijo, salgadinho
50	34,48	1685	$\beta$ -acoradieno	talco, mel
50	34,94	1696	germacreno D	percevejo
41	35,60	1712	$\beta$ -selineno	sabão velho
50	36,43	1733	biciclogermacreno	limão, cítrico bom
41	37,35	1757	Não identificado	ferro
41	37,50	1760	Não identificado	asfalto
41	37,70	1765	-	asfalto
41	38,78	1793	-	incenso
41	38,92	1796	-	doce
50	39,45	1810	-	perfume com suor
41	39,77	1819	-	terra
50	39,90	1822	-	queijo
50	40,65	1842	-	amendoim quemado
41	40,85	1847	-	fungos, umidade, madeira
41	41,65	1868	-	ferro
41	43,50	1918	-	produto veterinário
50	43,75	1925	Não identificado	doce, perfume
41	45,28	1967	Não identificado	perfume bom
41	45,83	1982	óxido de cariofileno	perfume doce
41	46,60	2003	Não identificado	metal
50	46,80	2009	Não identificado	amendoim
54	47,31	2025	Não identificado	mentol, cartão, papel
41	47,65	2035	-	refrescante
41	48,00	2045	Não identificado	gasolina
41	51,20	2142	espatulenol	produto de limpeza
46	51,56	2153	-	doce ,bolo

...continuação Tabela 5.10

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
54	52,00	2166	-	vapor, umidade, fungos
50	52,19	2172	Não identificado	droga
50	52,35	2177	-	cigarro
41	52,55	2183	Não identificado	cigarro

<sup>a</sup>A identificação foi realizada por CG/FID conforme item 4.5. O símbolo (-) significa que não foi detectado um composto correspondente na análise CG/FID. Não identificado significa que existe pico correspondente, mas não foi identificado qual é este composto.

Tabela 5.11. Dados obtidos da caracterização do perfil olfativo do óleo essencial de *B. dentata* extraído por arraste a vapor de plantas coletadas no mês de maio de 2011.

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
41	4,65	1059	-	mel
41	5,00	1073	Não identificado	doce
46	6,16	1110	$\beta$ -pineno	cheiro de óleo essencial
50	6,80	1123	-	doce
50	9,12	1170	-	ferro
41	18,46	1342	-	ruim
46	25,97	1492	-	mel, doce
41	26,17	1496	$\alpha$ -copaeno	doce, castanhas tostadas
41	28,40	1544	-	doce
41	29,24	1562	Não identificado	tecido
41	31,17	1605	-	cítrico
61	32,74	1643	-	remédio, perfume doce
41	33,07	1651	(E)-cariofileno	doce, pano molhado
41	33,45	1660	$\gamma$ -muuroleno	cera piso de madeira
41	35,38	1707	germacreno D	borracha
41	35,75	1716	$\alpha$ -muuroleno	"salgadinho", queijo
41	36,23	1728	biciclogermacreno	ruim
54	37,75	1767	$\delta$ -cadineno	vegetal herbáceo, "salgadinho", queijo
41	38,72	1791	Não identificado	mentol
41	39,85	1821	Não identificado	queijo
61	40,91	1849	-	remédio, mel, oleoso
41	44,15	1936	-	cítrico, pomelo
54	45,88	1983	óxido de cariofileno	nozes, madeira
41	46,75	2008	Não identificado	cera depilação
46	48,05	2047	Não identificado	frutas secas
41	49,95	2104	-	frutas secas
41	50,51	2121	espatulenol	madeira
41	52,20	2172	-	cera depilação

<sup>a</sup>A identificação foi realizada por CG/FID conforme item 4.5. O símbolo (-) significa que não foi detectado um composto correspondente na análise CG/FID. Não identificado significa que existe pico correspondente, mas não foi identificado qual é este composto.



Tabela 5.12. Dados obtidos da caracterização do perfil olfativo do óleo essencial de *B. uncinella* extraído por arraste a vapor de plantas coletadas no mês de janeiro de 2011.

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
61	3,75	1022	$\alpha$ -pineno	menta, mel
41	3,90	1028	$\alpha$ -felandreno	doce
41	4,15	1038	-	doce
41	4,53	1054	Não identificado	doce
41	4,99	1073	canfeno	refrescante
46	5,45	1092	-	picante, arde
41	5,57	1097	-	refrescante
50	5,66	1100	Não identificado	enxofre
50	5,80	1103	-	borracha
41	6,40	1115	$\beta$ -pineno	mel
46	6,54	1118	-	picante, arde
71	6,80	1123	-	ruim
41	8,22	1152	$\alpha$ -terpineno	tinta caneta
41	8,39	1155	-	cravo da Índia
41	10,19	1192	limoneno	picante
41	12,39	1232	-	doce, nozes
46	12,40	1232	$\gamma$ -terpineno	amêndoa
76	14,95	1277	-	laranja (refrescante), cítrico, ameixa, óleo essencial
41	15,30	1283	-	cheiro do óleo essencial
41	15,63	1289	-	fruta em decomposição
41	16,94	1313	-	laranja
41	17,56	1325	-	fruta em decomposição
41	18,20	1337	-	cobre, latão, metal, chaves
68	18,30	1339	Não identificado	cítrico, fruta
46	18,94	1351	-	picante, doce
41	19,42	1361	-	picante, floral
58	19,57	1363	-	arde, picante
41	19,82	1368	-	metal, anel
41	19,95	1371	-	fruta, doce
76	20,36	1378	Não identificado	perfume, doce
41	20,60	1383	Não identificado	limpeza
54	21,34	1397	-	sebo, eucalipto suave
41	21,53	1401	-	sebo doce
50	22,44	1419	Não identificado	percevejo
41	22,60	1423	-	amendoim
41	22,74	1425	-	sebo, cítrico
46	24,65	1465	$\alpha$ -cubebeno	fresco, cítrico
61	24,68	1465	-	produto de limpeza, lavanda
54	24,83	1468	-	oleoso, cítrico
50	25,05	1473	Não identificado	citronela
50	25,35	1479	-	produto de limpeza, humús
68	25,90	1490	-	arde, roupa ao sol
41	26,73	1508	-	floral denso
41	27,09	1515	-	asfalto, gasolina
50	27,20	1518	$\alpha$ -gurjuneno	amêndoa
41	27,30	1520	-	doce
41	27,48	1524	-	inseticida
61	28,22	1540	-	cítrico, tangerina (bergamota)
41	28,34	1543	$\beta$ -cubebeno	floral
50	28,48	1546	linalol	doce

...continuação Tabela 5.12

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
41	29,10	1559	-	chá doce
54	29,22	1562	pinocarvona	doce, picante, tecido
50	29,33	1564	-	percevejo
54	30,20	1583	-	pipoca queimada, floral, rosas
41	30,42	1588	(E)-cariofileno	frutal, melão, picante
50	30,75	1595	-	coco
41	31,13	1604	terpinen-4-ol	água de coco
46	31,73	1618	-	mel
41	31,80	1620	-	"Salgadinho", queijo
41	32,50	1637	-	frutas secas
41	32,62	1640	-	nozes, fruta seca
61	32,85	1645	$\alpha$ -humuleno	remédio, comida
74	33,26	1655	Não identificado	refrescante, herbáceo, queijo
50	33,57	1663	-	cheiro ruim
41	34,01	1673	criptona	mentolado
50	34,23	1679	-	metal, eucalipto
41	34,89	1695	viridifloreno	grama, inseticida
41	35,06	1699	-	talco mentolado
41	35,83	1718	-	cidrão
71	35,97	1722	germacreno D	fresco bom, shampoo, herbáceo
61	36,34	1731	-	bala de goma de limão, remédio
46	36,65	1739	geranial	percevejo, oleoso, metálico
46	38,00	1773	-	lavanda, herbáceo
41	38,10	1776	$\delta$ -cadineno	doce irritante
41	38,82	1794	-	ensopado
41	38,98	1798	-	serragem
41	39,17	1803	-	perfume com suor
41	39,25	1805	Não identificado	doce irritante
41	39,40	1809	-	percevejo
41	39,65	1815	-	remédio
41	39,87	1821	-	cravo da índia
41	40,67	1842	-	doce floral
54	41,25	1858	trans-carveol	refrescante, mais doce que cítrico
41	41,88	1875	-	perfume
46	42,80	1899	$\alpha$ -calacoreno	arde
41	43,23	1911	-	sabão
41	43,30	1913	-	fruta seca
50	43,55	1919	-	sabão
61	43,70	1924	Não identificado	laranja podre, remédio
41	44,38	1942	-	fruta seca doce
41	44,86	1955	-	grama
46	45,65	1977	óxido de cariofileno	arde seco, salmoura
41	46,55	2002	-	limpeza
50	46,76	2008	-	amendoim queimado, doce floral
41	47,40	2027	-	doce
41	47,88	2042	-	suor
54	48,57	2062	-	cítrico podre, herbáceo
41	49,16	2080	Não identificado	ruim
41	50,83	2130	espatulenol	limpeza
46	52,31	2176	Não identificado	plástico, herbáceo, chá
46	52,70	2188	-	incenso, madeira

...continuação Tabela 5.12

FM	TR	IR <sup>a</sup>	Composto	Descrição
46	52,85	2192	-	incenso, madeira
41	53,72	2220	Não identificado	doce, marmelada

<sup>a</sup>A identificação foi realizada por CG/FID conforme item 4.5. O símbolo (-) significa que não foi detectado um composto correspondente na análise CG/FID. Não identificado significa que existe pico correspondente, mas não foi identificado qual é este composto.

Pode-se observar que os compostos majoritários, de cada uma das espécies, não apresentaram as maiores frequências modificadas e alguns deles não apresentaram FM maior que 40. As maiores FM obtidas na análise olfatométrica nem sempre tiveram correspondência com picos cromatográficos, isto é, como compostos detectados na análise cromatográfica. As comparações entre os cromatogramas e os aromagramas obtidos da análise CG/FID/O (com valores de FM acima de 45) dos óleos essenciais de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella* apresentados a seguir, nas Figuras 5.4, 5.5 e 5.6, respectivamente, também exemplificam esta constatação.

As Figuras 5.4, 5.5 e 5.6 mostram que há diferenças de intensidades entre os resultados obtidos por CG/FID (cromatogramas) e CG/FID/O (aromagramas). Na Figura 5.4, os compostos majoritários no cromatograma, (E)-cariofileno e  $\beta$ -elemeno, não estão entre as maiores FM do aromagrama e a maior FM no aromagrama não tem pico correspondente no cromatograma. Na Figura 5.5, os compostos majoritários no cromatograma, limoneno e (E)-cariofileno, não apresentam FM maior que 45 (logo, não aparecem no aromagrama) e as maiores FM no aromagrama não têm picos correspondentes. Já na Figura 5.6, um dos compostos majoritários (óxido de cariofileno) apresenta FM acima de 45 e o outro (espatulenol) não apresenta. Uma das maiores FM do aromagrama tem pico cromatográfico correspondente (não identificado) e o outro não.

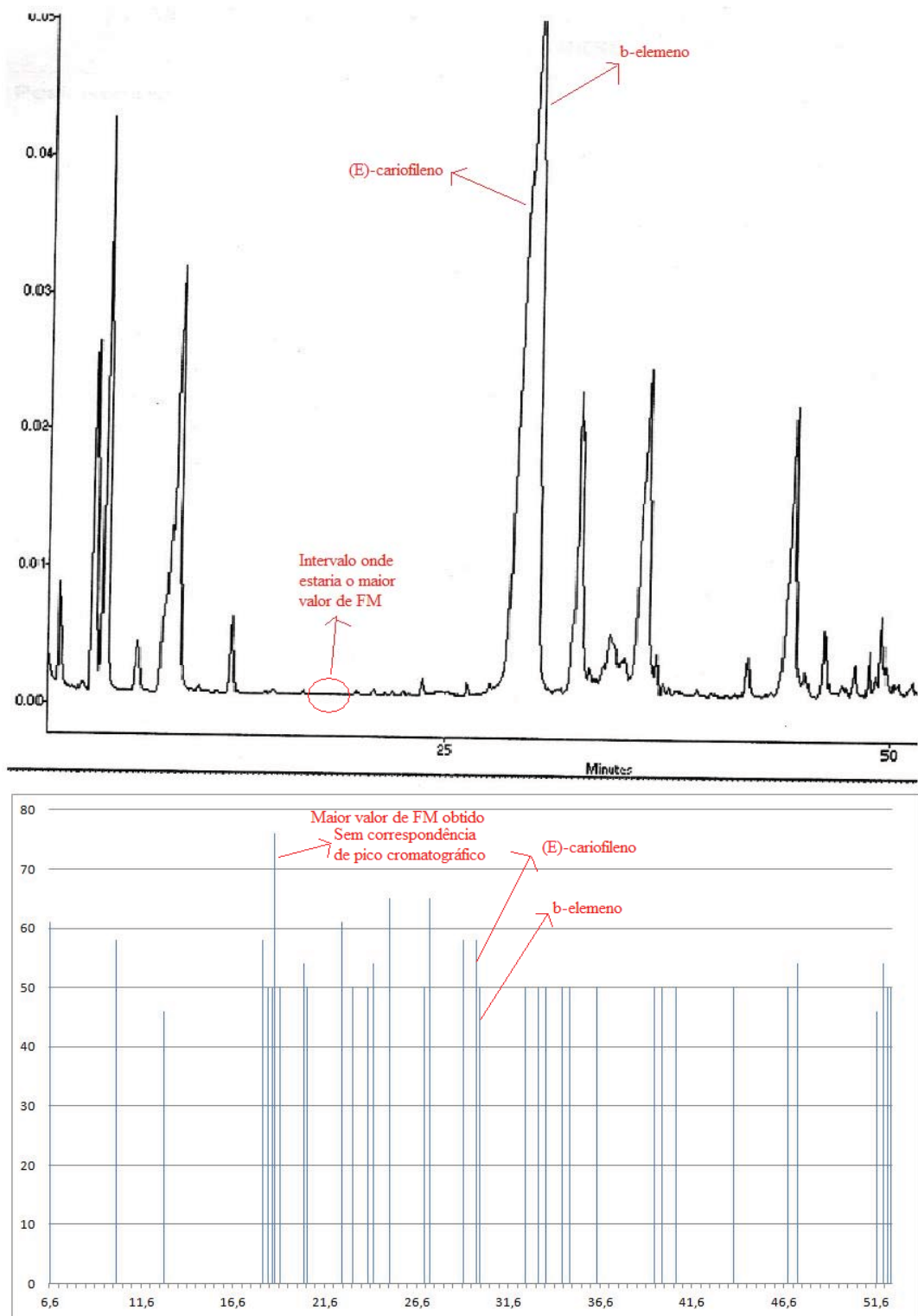


Figura 5.4. Comparação entre o cromatograma e o aromagrama obtidos da análise CG/FID/O do óleo essencial de *B. anomala*.

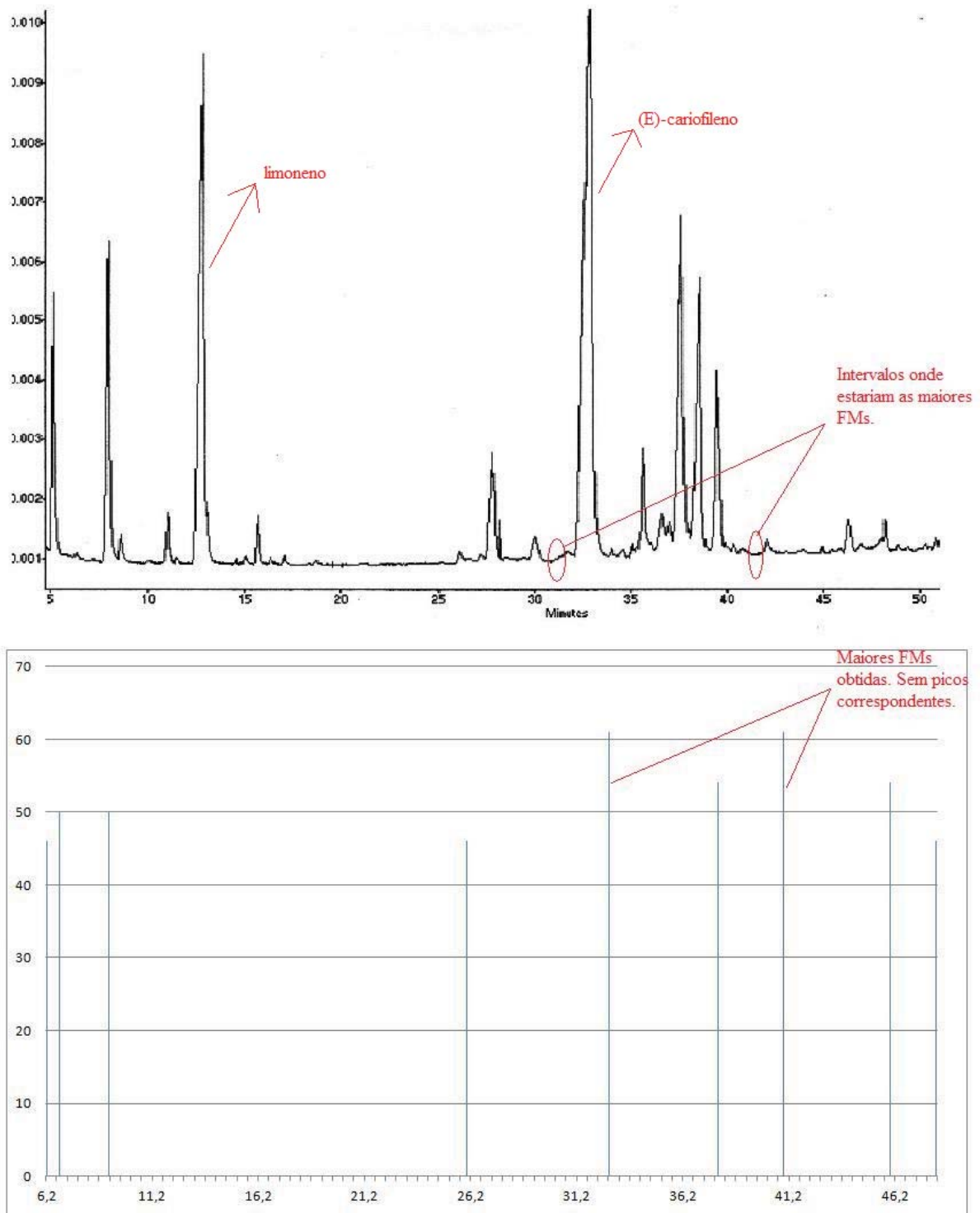


Figura 5.5. Comparação entre o cromatograma e o aromagrama obtidos da análise CG/FID/O do óleo essencial de *B. dentata*.

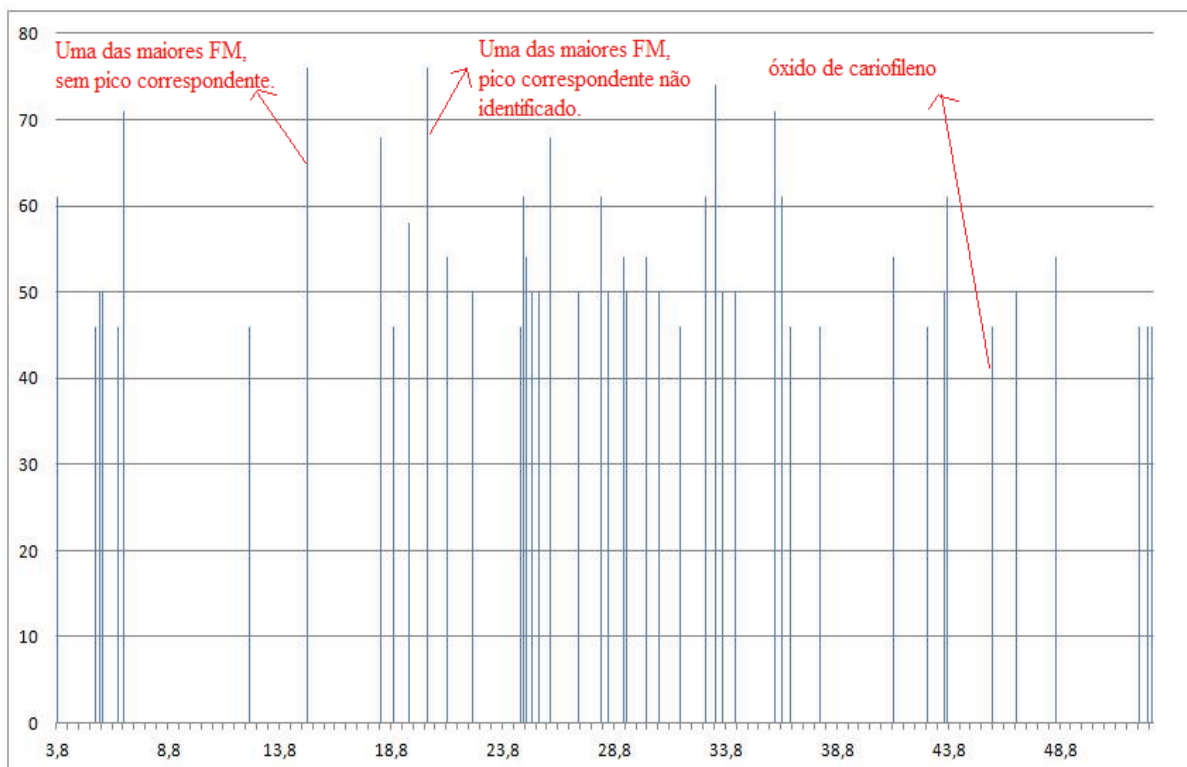
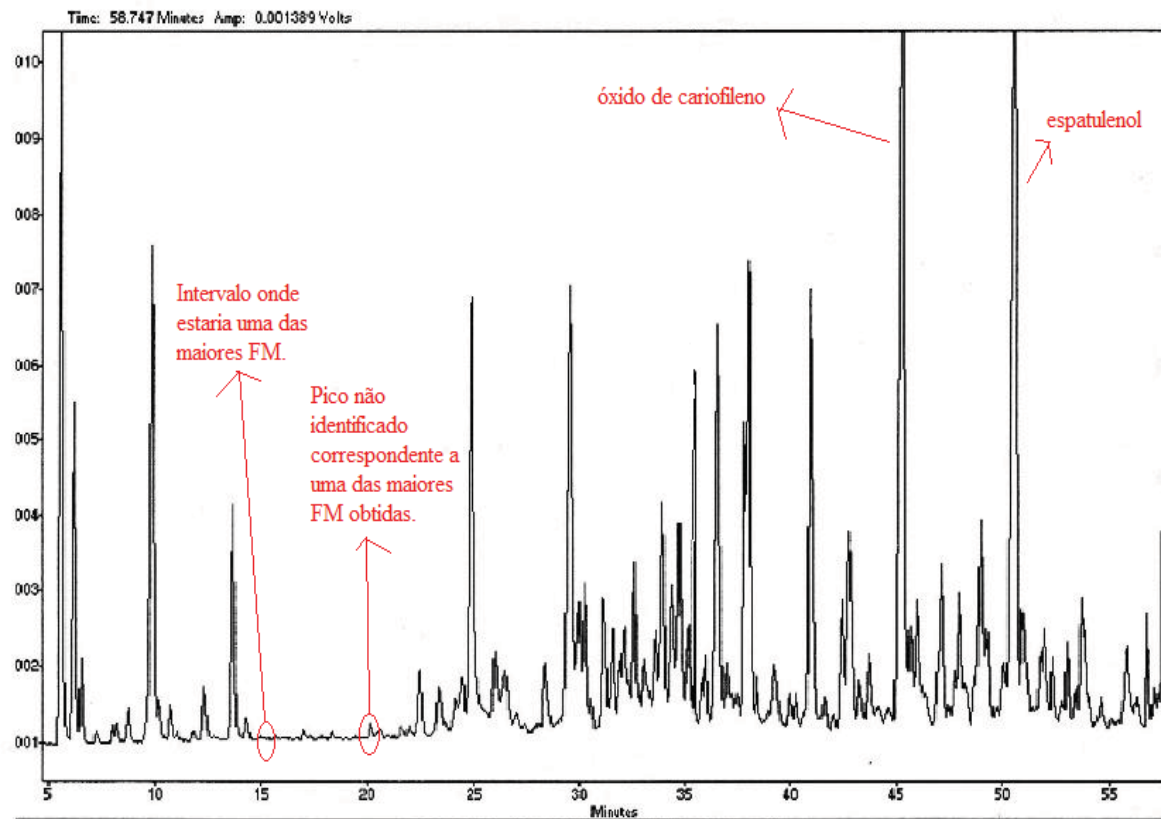


Figura 5.6. Comparação entre o cromatograma e o aromagrama obtidos da análise CG/FID/O do óleo essencial de *B. uncinella*.

## 5.5. Determinação da atividade antimicrobiana pela bioautografia indireta

### 5.5.1. Experimentos com bactérias

Os experimentos foram realizados na PUCRS. Para os experimentos de bioautografia para bactérias foi utilizado 2µl (Bertucci, 2009) de óleo puro das amostras de óleo essencial extraído de plantas coletadas no mês de maio de 2011. A aplicação do óleo na placa cromatográfica foi em triplicata e as placas foram recortadas em formato quadrado. A Tabela 5.13 mostra os resultados da atividade antibacteriana para os óleos essenciais de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella* frente aos seguintes microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis e *Pseudomonas aeruginosas*. Estes resultados também podem ser vistos nas Figuras 5.7, 5.8 e 5.9, para os óleos de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella*, respectivamente.

Tabela 5.13. Resultados da atividade antibacteriana para os óleos essenciais das espécies estudadas.

Microorganismos	<i>B. anomala</i>	<i>B. dentata</i>	<i>B. uncinella</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	OE+	OE*	OE+
<i>Salmonella choleraesuis</i>	OE+	OE-	OE+
<i>Pseudomonas aeruginosas</i>	OE-	OE-	OE-

Legenda: OE: Óleo Essencial, [+]: Inibiu o crescimento, [-]: não inibiu o crescimento, \*: pequena inibição de crescimento.

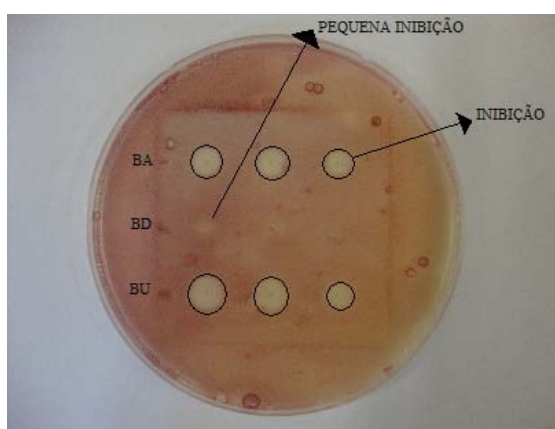


Figura 5.7. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Staphylococcus aureus*. BA = *B. anomala*, BD = *B. dentata* e BU = *B. uncinella*.

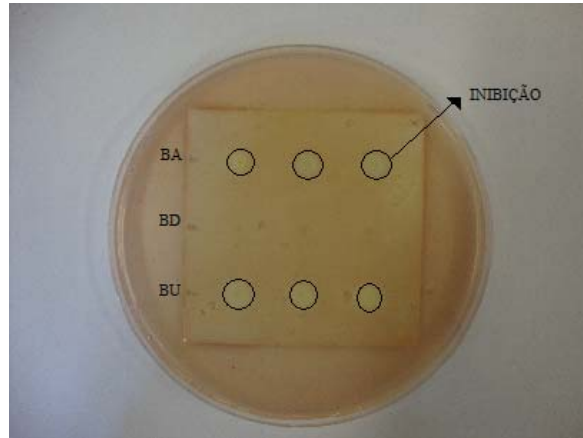


Figura 5.8. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis. BA = *B. anomala*, BD = *B. dentata* e BU = *B. uncinella*.

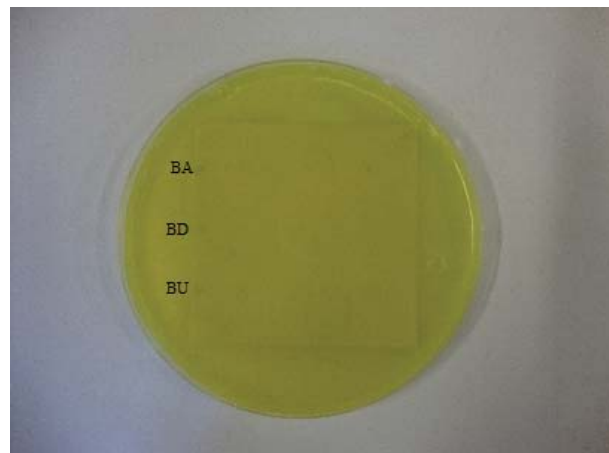


Figura 5.9. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Pseudomonas aeruginosa*. BA = *B. anomala*, BD = *B. dentata* e BU = *B. uncinella*.

Para esta quantidade de extrato volátil utilizada (2 $\mu$ L de óleo puro), os óleos essenciais de *B. anomala* e *B. uncinella* foram efetivos para *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis. Já o óleo essencial de *B. dentata* apresentou efetividade somente para *Staphylococcus aureus*. Nenhum óleo essencial foi efetivo para *Pseudomonas aeruginosa* com a quantidade utilizada. Com estes resultados, apenas os óleos essenciais de *B. anomala* e *B. uncinella* podem ser classificados como produtos saneantes pela Portaria nº 15 da ANVISA.



### 5.5.2. Experimentos com fungos

Os experimentos de bioautografia para fungos foram realizados na Cátedra de Farmacognosia, Universidad de La República, Uruguai, e além dos óleos essenciais extraídos das *Baccharis*, as placas foram utilizadas para ensaios de avaliação antimicrobiana do óleo essencial de *Piper hispidinervum* – conhecida como pimenta longa (que não será abordado nesta dissertação, mas aparecem nas figuras). Para os experimentos de bioautografia para fungos foi utilizado 4µL de óleo diluído (1/5 em acetato de etila) (Bertucci, 2009) das amostras referentes à coleta do mês de janeiro de 2011. A aplicação do óleo na placa está representada na Figura 5.10 e as placas foram recortadas em formato circular. Os microorganismos utilizados para o teste foram *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium Solani* e *Aspergillus oryzae*.

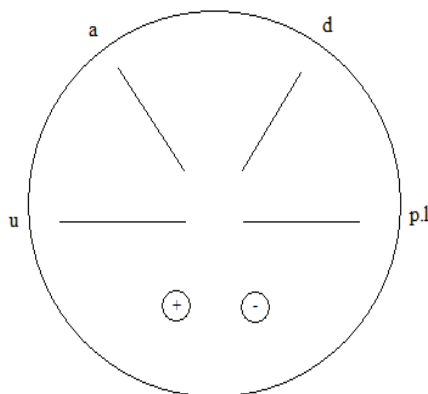


Figura 5.10. Aplicação do óleo essencial. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila).

A Tabela 5.14 mostra os resultados da atividade antifúngica para os óleos essenciais de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella*, frente aos fungos testados. Os resultados para os óleos de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella* com relação aos microorganismos *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis* e *Rhizopus stolonifer*, podem ser vistos também nas Figuras 5.11, 5.12, 5.13 e 5.14.

Tabela 5.14. Resultados da atividade antifúngica para os óleos essenciais das espécies estudadas.

Microorganismos	<i>B. anomala</i>	<i>B. dentata</i>	<i>B. uncinella</i>
<i>Candida albicans</i>	OE-	OE-	OE+
<i>Aspergillus niger</i>	OE+	OE+	OE+
<i>Candida parapsilosis</i>	OE+	OE+	OE+
<i>Cryptococcus neoformans</i>	OE-	OE-	OE-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	OE+	OE+	OE+
<i>Fusarium solani</i>	OE*	OE-	OE+
<i>Aspergillus oryzae</i>	OE-	OE-	OE-

Legenda: OE: Óleo Essencial, [+]: Inibiu o crescimento, [-]: não inibiu o crescimento, \*: pequena inibição de crescimento.

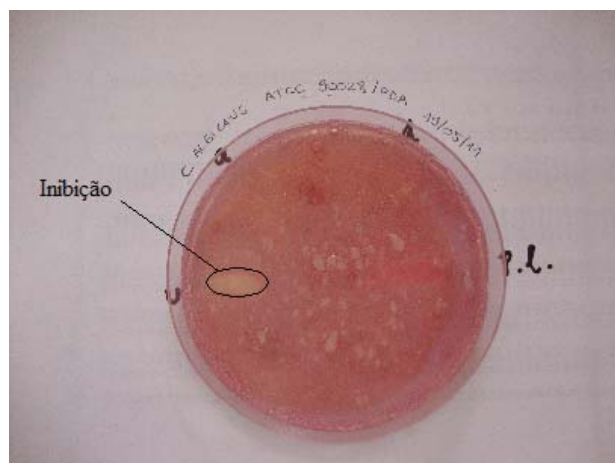


Figura 5.11. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Candida albicans*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila).

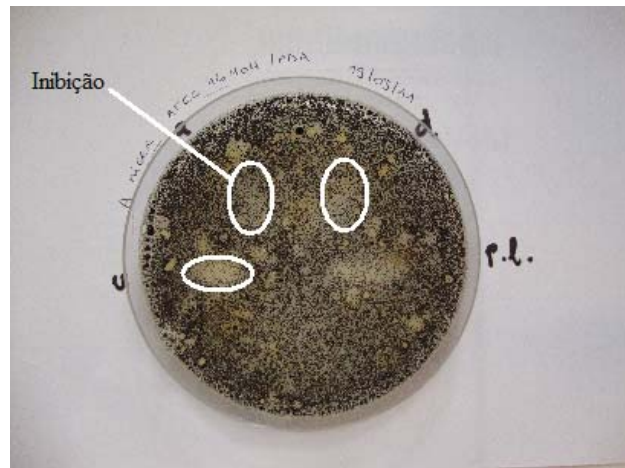


Figura 5.12. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Aspergillus niger*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila).

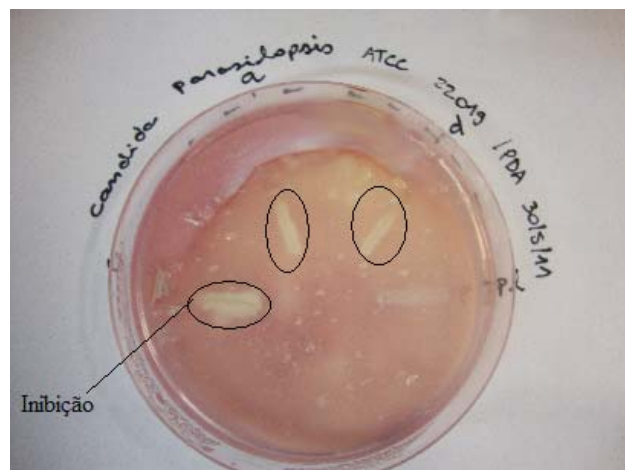


Figura 5.13. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Candida parapsilosis*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila).

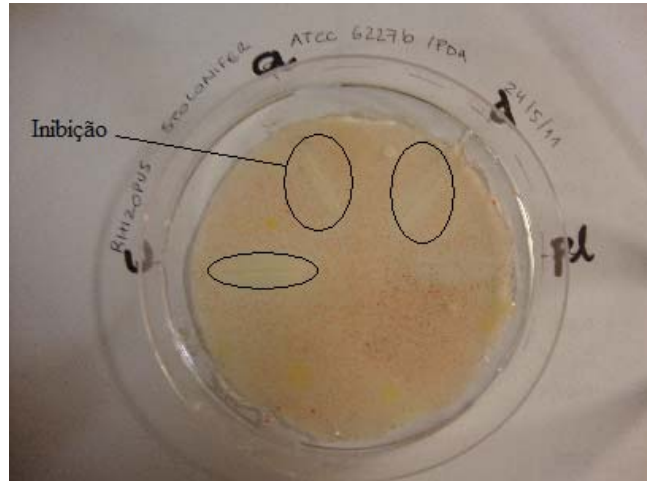


Figura 5.14. Resultados da bioautografia para os óleos essenciais das três espécies de *Baccharis* para *Rhizopus stolonifer*. u = *B. uncinella*, a = *B. anomala*, d = *B. dentata*, p.l. = pimenta longa, + = controle positivo (deve produzir inibição em antibiótico – Anfotericina B), - = controle negativo (não deve produzir inibição em solvente das amostras – Acetato de Etila).

Para esta quantidade de óleo utilizada (4 $\mu$ L de óleo diluído em 1/5 em acetato de etila), o óleo essencial de *B. anomala* foi efetivo para *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis*, *Rhizopus stolonifer* e um pouco efetivo para *Fusarium solani*. O óleo essencial de *B. dentata* foi efetivo para *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis* e *Rhizopus stolonifer*. Já o óleo essencial de *B. uncinella* apresentou efetividade para *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis*, *Rhizopus stolonifer* e *Fusarium solani*. Nenhum óleo essencial foi efetivo para *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus oryzae* com a quantidade utilizada.

## 6. CONCLUSÕES

Com a investigação sobre compostos voláteis de espécies de *Baccharis* nativas do Rio Grande do Sul, pode-se concluir:

- A época de coleta (janeiro e maio de 2011) das espécies de *Baccharis* analisadas pouco influenciou no rendimento dos óleos essenciais, porém teve grande influência sobre as composições químicas observadas na análise CG/MS.
- Os resultados para as composições químicas dos óleos essenciais de *Baccharis anomala* e *Baccharis dentata* obtidos por CG/EM nesta dissertação e publicados em Xavier et. al., indicam que os compostos majoritários para *B. anomala* são  $\beta$ -selineno,  $\beta$ -elemeno, (E)-cariofileno,  $\gamma$ -cadineno e espatulenol, e para *B. dentata* são limoneno, germacreno D, (E)-cariofileno, óxido de cariofileno e espatulenol.
- O modelo matemático aplicado à extração dos óleos essenciais pelo método de destilação por arraste a vapor, com base em fundamentos de transferência de massa, correlacionou bem os dados experimentais para as duas épocas do ano investigadas. Isto é comprovado pelos  $R^2$  obtidos, todos maiores que 0,98.
- Esta dissertação forneceu novos perfis olfatométricos para os óleos de *B. anomala*, *B. dentata* e *B. uncinella*. A partir dos resultados obtidos se observa que os compostos majoritários, determinados por CG/FID, de cada uma das espécies, não apresentam as maiores frequências modificadas, isto é, os compostos de maior intensidade aromática não correspondem aos de maiores concentrações. Este fato demonstra a importância de se ter as duas análises (cromatográfica e olfatométrica), visto que há diferenças de intensidade entre as duas análises.

- Neste estudo, o óleo essencial de *B. anomala* foi efetivo para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis, *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis*, *Rhizopus stolonifer* e um pouco efetivo para *Fusarium solani*. O óleo de *B. dentata* foi efetivo contra *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis*, *Rhizopus stolonifer* e um pouco efetivo para *Staphylococcus aureus*. Já o óleo de *B. uncinella* foi efetivo contra *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Candida parapsilosis*, *Rhizopus stolonifer* e *Fusarium solani*. Nenhum óleo essencial foi efetivo para *Pseudomonas aeruginosa*, *Cryptococcus neoformans* e *Aspergillus oryzae*.

- Os óleos essenciais de *B. anomala* e *B. uncinella* podem ser utilizados como substâncias desodorizantes, desinfetantes para uso geral e desinfetantes para lactários, pois foram efetivos para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella enterica* subespécie *enterica* Sorovar Choleraesuis.

Logo, conclui-se que todos os experimentos confirmam a importância crescente das espécies do gênero *Baccharis* como objetos de pesquisa para busca de novas fontes de princípios ativos para diferentes aplicações.

## 7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Como trabalhos futuros, seria interessante repetir os experimentos realizados para as outras épocas do ano, bem como testar outros métodos de extração e realizar o fracionamento dos óleos essenciais.

Modelar o processo de destilação por arraste a vapor para três escalas: escala laboratorial, escala piloto e escala industrial.

Com relação à olfatométrica, repetir os experimentos para outras concentrações de óleo essencial, aumentar o número de avaliadores e realizar uma pesquisa em relação à possível aplicação destes óleos essenciais como matéria prima para as indústrias de aromas.

Com relação à bioautografia, aprofundar o estudo da atividade antimicrobiana destes óleos essenciais e de suas frações, testando-os frente a outros microorganismos e também realizar testes de determinação da concentração inibitória mínima.

Avaliar outras propriedades destes óleos, tais como propriedades físico-químicas, ação antioxidante, e quantificar compostos fenólicos totais e frações de flavonóides.

Realizar técnicas de cromatografia de gases multidimensional (CG-CG) e análise quiral para estes óleos essenciais.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, M. J.; Bessa, A. L.; Ballarin, B.; Aragón, O.; Gonzales, E.; Bermejo, P. Anti-inflammatory activity of four Bolivian *Baccharis* species (Compositae). **J. Ethnopharmacol**, 103, p. 338-344, 2006.

ABAD, M.J.; Bermejo, P. *Baccharis* (Compositae): a review update. **ARKIVOC** 7, p. 76-96, 2007.

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Mass Spectrometry. 4th Ed., Allured. Carol Stream, IL, USA, 2007.

AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA – ANVISA, Sub-anexo 2: Microrganismos Para Avaliação Da Ação Antimicrobiana, 1988.

AGOSTINI, F.; Rossato, A. C. A.; Pansera, M. R.; Zattera, F.; Wasum, R.; Serafini, L. A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Rev. Bras. Farmacogn**, 15, p. 215-220, 2005.

ALICE, C. B.; Silva, G. A. A. B.; Siqueira, N. C. S.; Mentz, L. A. Levantamento fitoquímico de alguns vegetais utilizados na medicina popular do Rio Grande do Sul (Parte I). **Cad Farm**, v. 1, p. 83-94, 1985.

ANAISSE, E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: experience at a Cancer Center and review. **Clin Infect Dis** 14, p. 43-53, 1992.



AVANCINI, C. A. M.; Wiest, J. M.; Mundstock, E. Bacteriostatic and bactericidal activity of the *Baccharis trimera* (Less.) DC. - Compositae, decocto, as disinfectant or antiseptic. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, 52, p. 230-234, 2000.

BARROSO, G. M. Rodriguésia. 28, p. 1-273, 1976.

BARROSO, G. M.; Bueno, O. Compostas: subtribo *Baccharidinae*. **Herbário Barbosa Rodrigues**, Itajaí, 2002.

BENYOUSSEF, E. H.; Hasni, S.; Belabbes, R.; Bessiere, J. M.; Modélisation du transfert de matière lors de l' extraction de l' huile essentielle des fruits de coriandre. **Chem. Eng. J.**, 85, p. 1-5, 2002.

BERTUCCI, Ana. Curso de Extensão de Bioautografia, Pró-reitoria de Extensão e Faculdade de Farmácia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, janeiro de 2009.

BHAVANANI, S. M.; Ballow, C. H. New agents for Gram-positive bacteria. **Curr Opin Microbiol** 13, p. 528-534, 1992.

BIURRUN, F.; Juliani, R. H.; Lopez, M. L.; Zygadlo, J. A. Essential Oil Composition of *Baccharis tenella* Hook. Et. Arn. **J. Essent. Oil Res.**, 17, 122-123, 2005.

BUDEL, J. M.; Duarte, M. R. Estudo Farmacobotânico de Folha e Caule de *Baccharis uncinella* DC., Asteraceae. **Lat. Am. J. Pharm.**, 27 (5), p. 740-746, 2008.

BUDEL, J. M.; Duarte, M. R. Estudo Farmacobotânico de partes vegetativas aéreas de *Baccharis anomala* DC., Asteraceae. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 18, p. 761-768, 2008.

BUDEL, J. M.; Matzenbacher, N. I.; Duarte, M. R. Genus *Baccharis* (Asteraceae): a review of chemical and pharmacological studies. In: Singh, V. K; Govil, J. N.. (Orgs.).

Recent Progress in Medicinal Plants - Phytopharmacology and Therapeutic Values. 3 ed. Houston: **Studium Press LLC**, 21, p. 1-18, 2008.

CASSEL, E.; Vargas, R. M. F. Experiments and Modeling of the *Cymbopogon winterianus* Essential Oil Extraction by Steam Distillation, **J. Mex. Chem. Soc.**, 55, p. 57-60, 2006.

CASSEL, E.; Vargas, R.; Martinez, N.; Lorenzo, D.; Dellacassa, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, v. 29, n. 1, p. 171 – 176, 2009.

CERPA, M.G.; Mato, R.B.; Cocero, M.J. Modeling steam distillation of essential oils: Application to lavender in super oil. **AIChE Journal**, v. 54, p. 909-917, 2008.

CÉSPEDES, C. L.; Uchoa, A.; Salazar, J. R.; Perich, F.; Pardo, F.; Plant growth Inhibitory Activity of p-hydroxyacetophenones and tremetones from Chilean Endemic *Baccharis* Species and Some Analogous: A Comparative Study. **J. Agric. Food Chem.**, 50, p. 2283, 2002.

CIFUENTE, D. A.; Simirgiotis, M.; Favier, L. S.; Rotelli, A. E.; Pelzer, L. E. Two new labdane diterpene glycosides from *Baccharis medullosa* DC. **Nat. Prod. Lett.**, 15, p. 529-531, 2001.

COSTA, A. F. Farmacognosia. 5. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 1, p. 1031, 1994.

DAVIES, N.W. Gas chromatographic retention indexes of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and Carbowax 20M phases. **J. Chromatogr.**, 503, p. 1-24, 1990.

DRAVNIEKS, A. Atlas of Odor Character Profiles. **ASTM Data Series DS 61**, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1985.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **MultiCiência: Construindo a história dos produtos naturais.**, 7, 2006.

EDWARDS JR, J. E.; Filler, S. G. Current strategy for treating invasive candidiasis: emphasis on infections in nonneutropenic patients. **Clin Infect Dis** 14, p. 106-113, 1992.

FERESIN, G. E.; Tapia, A.; López, S. N.; Zacchino, S. A. **J. Ethnopharmacol**, 78, p. 103-107, 2001.

FERRONATO, R.; Marchesan, E. D.; Pezenti, E.; Bednarski, F.; Onofre, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* DC. e *Baccharis uncinella* DC. (Asteraceae) **Rev. Bras. Farmacogn.**, 17, p. 224-230, 2007.

FRANCO, J. Prospecção fitoquímica e análise e microbiológica do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F.v. Muell. Ex.Benth., myrtaceae. Dissertação de mestrado. Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná. Brasil. Curitiba, 2005.

FRIZZO, C. D.; Serafini, L. A.; Dellacassa, E., Lorenzo, D.; Moyna, P. Essential oil of *Baccharis uncinella* DC. from Southern Brazil. **J. Flavour Fragrance**, 16, p. 286-288, 2001.

FRIZZO, C. D.; Serafini, L. A.; Dellacassa, E., Lorenzo, D.; Moyna, P. Essential oil variability I *Baccharis uncinella* DC. and *Baccharis dracunculifolia* DC. growing wild in Southern Brazil, Bolivia and Uruguay. **J. Flavour Fragrance**, 23, p. 99-106, 2008.

FULLER, G.H.; Steltenkamp, R.; Tisserend, G.A. The chromatography with human sensor: perfumer model. **Ann N Y Acad Sci**, 116, p. 711-724, 1964.

FURLÁN, R. L. E.; López, S. N. Métodos Bioautograficos, em Zacchino S.; Gupta, M. **Manual de técnicas in vitro para La deteccion de compuestos antifúngicos**, CYTED, p.57-73, 2006.

GIULIANO, D. A. Classificación infragenérica de las especies argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). **Darwiniana** v. 39, p. 131-154, 2001.

GRAYBILL, J. R. Future directions of antifungal chemotherapy. **Clin Infect Dis** 14, p. 170-181, 1992.

GROSCH, W. Review. Determination of potent odourants in foods by aroma extract dilution analysis (AEDA) and calculation of odour activity values (OAVs). **Flavour Fragrance**, 9, p. 147-158, 1994.

HEINRICH, M. Ethnobotany and natural products: the search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures? **Curr. Top. Med. Chem.**, 3, p. 141-154, 2003.

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

HERZ, W.; Pilotti A.M.; Soderholm, A.C.; Shuhama, I.K.; Vichnesky, W. New ent-Clerodane-Type Diterpenoids from *Baccharis trimera*. **J. Org. Chem.**, 42, 24, p. 3913, 1977.

HOSTETTMANN, K.; Queiroz, E. F.; Vieira, P. C. Princípios Ativos de Plantas Superiores. São Carlos: Edufscar, p. 152, 2003.

JENNINGS, W.; Shibamoto, T. Qualitative analysis of fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. **Academic Press**: New York, 1980.

KADA, T.; Kaneko, K.; Matsuzaki, S.; Matsusaki, T.; Hara, Y. Detection and chemical identification of natural bioantimutagens. **Mutat. Res.** v. 150, p. 127-132, 1985.

LIMA, I. de O.; Oliveira, R. de A. G.; Lima, E. de O. Farias, N. M. P.; Souza, E. L. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. **Rev. bras. Farmacogn**, v.16, 2, p. 197-201, 2006.

LOAYZA, I.; Abujder, D.; Aranda, R.; Jakupovic, J.; Collin, G.; Deslauriers, H.; Jean, F. Essential oils of *B. salicifolia*, *B. latifolia* and *B. dracunculifolia*. **Phytochemistry**, 38, p. 381-389, 1995.

LUCAS, A. M. Estudo comparativo de extratos voláteis de eucaliptos geneticamente modificados e não geneticamente modificados. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Brasil. Porto Alegre, 2011.

MALIZIA, R. A.; Cardell, D. A.; Molli, J. S.; Gonzalez, S.; Guerra, P. E.; Grau, R. J. Volatile Constituents of Leaf Oils from the Genus *Baccharis*. Part II: *Baccharis obovata* Hooker et Arnott and *B. salicifolia* (Ruiz et Pav.) Pers. Species from Argentina. **J. Essent. Oil Res.**, 17, 194-197, 2005.

MCMMASTER, C.; McMaster, M. GC/MS: A Practical User's Guide. **WILEY-VCH**, EUA, 1998.

MCNAIR, H. M.; Miller, J.M. Basic gás chromatography. 2º edição. Nova Jersey: **John Wiley & Sons**, 2009. 239p.

MEILGAARD, M.; Civille, G. V.; Carr, B. T. Sensory evaluation techniques. 2. ed. Florida – USA: **CRC Press**, p. 354, 1991.

NASCIMENTO, P. F. C.; Nascimento, A. C.; Rodrigues, C. S.; Antonioli, A. R.; Santos, P. O.; Barbosa Jr., A. M.; Trindade, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev. bras. Farmacogn**, v.17, 1, p. 108-113, 2007.

NEWMAN, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002 **J. Nat. Prod.** 66 (7), 1022-1037, 2003.

OLIVA, M. M.; Zunino, M. P.; López, M. L.; Soria, Y. A.; Ybarra, F. N.; Sabini, L.; Demo, M. S.; Biurrún, F.; Zygadlo, J. A. Variation in the Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Baccharis spartioides* (H. et A.) J. Remy from Three Regions of Argentina. **J. Essent. Oil Res.**, 19, p. 509-513, 2007.

OLIVEIRA, S. O. D.; Dal-Pizzol, F.; Gosmann, G.; Guillaume, D.; Moreira, J. C.; Schenkel, E. P. Antioxidant activity of *Baccharis articulata* extracts: isolation of a new compound with antioxidant activity, **Free Radic. Res. Commun.**, 37, p. 555-559, 2003.

PEREIRA, M. A. A. Estudo da atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos por destilação por arraste a vapor e por extração supercrítica. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Brasil. Porto Alegre, 2010.

PINO, J. A.; Marbot, R.; Payo, A.; Chao, D.; Herrera, P. Aromatic Plants from Western Cuba. V: Composition of the Leaf Oils of *Baccharis halimifolia* L. and *Eugenia foetida* (Sw.) Willd. **J. Essent. Oil Res.**, 18, 266-268, 2006.

QUEIROGA, C. L.; Fukai, A.; Marsaioli, A. J. Composition of the Essential Oil of Vassoura. **J. Braz. Chem. Soc.**, 1, p. 105, 1990.

QUEIROGA, C. L.; Bastos, J. K., Souza, J. P. B. de; Magalhães, P. M. de Comparison of the Chemical Composition of the Essential Oil and the Water Soluble Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae). **J. Essent. Oil Res.**, 20, 111-114, 2008.

RAHALISON, L.; Hamburger, M.; Hostettmann, K. A Bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. **Phytochemical Analysis**. 2, 199-203, 1991.

RICHARDSON, A. The Chemistry of Fragrances; In Pybus D.H.; Sell C.S. Eds.; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 8, p. 145-157, 1999.

RIOS, J. L.; Recio, M. C.; Villar, A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. **J. Ethnopharmacol**, 23, 127-149, 1988.

RUBIOLO, P.; Sgornibi, B.; Liberto, E.; Cordero, C.; Bicchi, C. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis: A review, **Flavour and Fragrance Journal**, v. 25, 5, p. 282-290, 2010.

SARTOR, R. B. Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2009.

SERAFINI, L. A.; Cassel, E. Produção de óleos essenciais: uma alternativa para a agroindústria nacional. In: Serafini, L. A.; N. M. Barros & J. L. Azevedo. Biotecnologia na Agricultura e na Agroindústria. Agroindústria, Guaíba, p. 333-377, 2001.

SERAFINI, L. A.; Santos, A. C. A. dos; Touguinha, L. A.; Agostini, G.; Dalfovo, V. Extrações e aplicações de óleos essenciais de plantas aromáticas e medicinais. **Coleção Biotecnologia**. EDUCS, Caxias do Sul, 2002.

SIMIONATTO, E.; Ilha, V.; Mallmann, A. S.; Porto, C.; Dalcol, I. I.; Morel, A. F. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Volatile Oil from *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. **J. Essent. Oil Res.**, 20, p. 365-368, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; Spitzer, V. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O. et al. Farmacognosia da planta ao medicamento. Porto Alegre: UFRGS, p. 387-415, 2000.

SIQUI, A. C.; Sampaio, A. L. F.; Sousa, M. C.; Henriques, M. G. M. O.; Ramos, M. F. S. Óleos essenciais - potencial antiinflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento** 16, p. 38-43, 2000.

SOVOVÁ, H. ; Aleksovski, A. Mathematical model for hydrodistillation of essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, 21, p. 881-889, 2006.

TAKEDA, I. J. M.; Farago, P. V. Vegetação do parque estadual de Vila Velha: Guia de campo. **Serzegräf**, Curitiba, 2001.

VALGAS, C. Avaliação de método de triagem para determinação de atividade antibacteriana de produtos naturais. Dissertação de mestrado em Farmácia. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2002.

VAN BAREN, C. M. Composición química y actividades biológicas de una especie aromática y medicinal de la estepa patagónica con potencial interés industrial: *Mulinum spinosum* (Cav.) Persoon. Tese de doutorado em Farmácia e Bioquímica. Cátedra de Farmacognosia. Universidade de Buenos Aires. Buenos Aires, 2008.

VAN RUTH, S. M. Methods for gas chromatography-olfactometry: a review, *Biomolecular Engineering*, V. 17, I. 4-5, p. 121-128, 2001.

VERDI, L. G.; Brighente, I. M. C.; Pizzolatti, M. G. Gênero *Baccharis* (ASTERACEAE): Aspectos químicos, econômicos e biológicos. **Quim. Nova**, v. 28, 1, p. 85-94, 2005.

VITTI, A. M. S.; Brito, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos florestais**. Nº17, p. 1-26, 2003.

XAVIER, V. B.; Vargas, R.M.F.; Cassel, E.; Lucas, A.M.; Santos, M.A.; Mondin, C.A.; Santarem, E.R.; Astarita, L.V.; Sartor, T. Mathematical modeling for extraction of



essential oil from *Baccharis* spp. by steam distillation. **Industrial Crops and Products**, 33, p. 599-604, 2011.

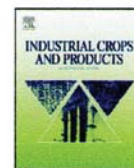
ZUNINO, M. P.; Lopez, M. L.; Faillaci, S. M.; Lopez, A. G.; Espinar, L. A.; Zygadlo, J. A. Essential oil of *Baccharis cordobensis* Heering. **Flavour Fragra. J.**, 15, 151-152, 2000.

## APÊNDICE



Contents lists available at ScienceDirect

Industrial Crops and Products

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/indcrop](http://www.elsevier.com/locate/indcrop)

## Mathematical modeling for extraction of essential oil from *Baccharis* spp. by steam distillation

V.B. Xavier<sup>a</sup>, R.M.F. Vargas<sup>a</sup>, E. Cassel<sup>a,\*</sup>, A.M. Lucas<sup>a</sup>, M.A. Santos<sup>b</sup>, C.A. Mondin<sup>c</sup>,  
E.R. Santarem<sup>c</sup>, L.V. Astarita<sup>c</sup>, T. Sartor<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Operações Unitárias, Faculdade de Engenharia, Brazil

<sup>b</sup> Faculdade de Farmácia, Brazil

<sup>c</sup> Faculdade de Biociências, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 28 July 2010

Received in revised form 2 December 2010

Accepted 10 December 2010

Available online xxx

#### Keywords:

Essential oil

Steam distillation

Mathematical model

Mass transfer

*Baccharis* spp.

### ABSTRACT

*Baccharis* (Compositae–Asteraceae) is a large genus of plants distributed from the USA to Argentina, of which 90% are located in South America. In recent decades, species of the genus have been studied, due to their importance as sources of novel active components with possible applications in the pharmaceutical and chemical industries. This work studied three species of *Baccharis*: *Baccharis uncinella* DC, *Baccharis anomala* DC and *Baccharis dentata* (Vell) G.M. Barroso collected in São Francisco de Paula in southern Brazil. The aim of this work is the evaluation of the aromatic potential of the essential oil obtained by steam distillation method and the simulation of the extraction data by means of a mathematical model. A mathematical model based on mass transfer fundamentals is developed and applied to correlate the experimental data. This model is based on the existence of the broken and intact cells, in which the oil located in the broken cells is rapidly extracted and the oil from intact cells diffuses slowly to the surface of the vegetal material. The analysis of the essential oil was carried through by GC–MS and the major compounds identified to both processes were  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, and spathulenol (*B. uncinella*), spathulenol,  $\beta$ -caryophyllene, and  $\beta$ -selinene (*B. anomala*), and germacrene-D, caryophyllene oxide, and spathulenol (*B. dentata*).

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

The genus *Baccharis* (Compositae–Asteraceae) is a strictly American genus with approximately 500 species distributed from Argentina to USA (Céspedes et al., 2002). More than 90% of these species are present in South America (Frizzo et al., 2001) and many of them have been used in traditional medicine (Herz et al., 1977; Budel and Duarte, 2008) due to their pharmacological properties (Fournet et al., 1994). Some species also have applications in the perfumery industry (Queiroga et al., 1990).

The *Baccharis* species here studied grow wild in southern Brazil. Among them are *B. anomala*, *B. uncinella*, and *B. dentata*. Phytochemical studies of *Baccharis anomala* DC have demonstrated the presence of tannins and saponins and it is used in folk medicine (Budel and Duarte, 2008). The literature has reported that the essential oil of *Baccharis uncinella* DC has shown antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* (Ferronato et al., 2007). *Baccharis dentata* (Vell.)

G.M. Barroso is a shrub of the angiosperm division that occurs in the Atlantic forest mainly in wild regions of Brazil and Argentina.

In this work, the essential oil of *B. anomala*, *B. uncinella*, and *B. dentata* was obtained by steam distillation extraction method. This technique of the extraction is extensively used by the industry and is frequently cited in the literature (Cassel and Vargas, 2006; Di Leo Lira et al., 2009). The mathematical modeling of extraction process must be considered as a fundamental step in the project of an efficient industrial process. Mathematical models are used to simulate processes without having to perform experiments in order to know its extraction process behavior. Therefore, the importance of mathematical modeling of steam distillation process is an alternative strategy to evaluate the selection of the process variable conditions (Cassel et al., 2009).

Cassel and Vargas (2006) modeled the extraction of *Cymbopogon winterianus* essential oil using a diffusional model at laboratorial scale thus allowing a good prevision on industrial scale. This model was also used to simulate the steam distillation process data for rosemary, basil, and lavender essential oils (Cassel et al., 2009). Additionally, Benyoussef et al. (2002) modeled the extraction of coriander essential oil by steam distillation through two diffusional numerical solved models. The first one has taken into consideration only the diffusion inside the pores, while the second has added the

\* Corresponding author at: PUCRS, Av. Ipiranga 6681, CEP 90619-900, Porto Alegre, RS, Brazil. Tel.: +55 51 3320 3653.

E-mail addresses: [cassel@pucrs.br](mailto:cassel@pucrs.br), [edcassel@yahoo.com](mailto:edcassel@yahoo.com) (E. Cassel).







Table 2  
Maximum possible extraction of essential fatty acids distributed in solvent and water.

Essential fatty acid	A. hexane		B. chloroform		C. acetone	
	Hexane	Water	Hexane	Water	Hexane	Water
Essential fatty acid (%)	0.025	0.042	0.027	0.027	0.101	0.125

where  $k_f$  is fluid-phase mass transfer coefficient,  $k_s$  is solid-phase mass transfer coefficient,  $a_s$  is specific surface area per unit volume of extraction bed,  $Y^*$  is equilibrium fluid-phase mass fraction and  $X_1$  is easily accessible solute in solid-phase.

The first part of the extraction curve is associated with the extraction of the free solute from broken cells. In this extraction step the hypothetical case with negligible external mass transfer resistance, where the fluid phase is in equilibrium with the solid phase throughout the extractor. Then from Eq. (6) the following result is obtained:

$$Y = \frac{X_1}{K} \quad (7)$$

The amount of solute  $Q$  removed by the solvent diffusion from the solid phase is given by the equation:  $Q = V_s(Y - X_1)$  where  $V_s$  is the volume of the solid phase. This period corresponds to the diffusion time interval  $t_1$  in the extraction curve.

$$Q = V_s(Y - X_1) = V_s \left( \frac{X_1}{K} - X_1 \right) \quad (8)$$

$$Q = V_s X_1 \left( \frac{1}{K} - 1 \right) \quad (9)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (10)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (11)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (12)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (13)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (14)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (15)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (16)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (17)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (18)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (19)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (20)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (21)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (22)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (23)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (24)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (25)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (26)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (27)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (28)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (29)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (30)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (31)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (32)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (33)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (34)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (35)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (36)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (37)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (38)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (39)$$

$$Q = V_s X_1 \frac{1 - K}{K} \quad (40)$$

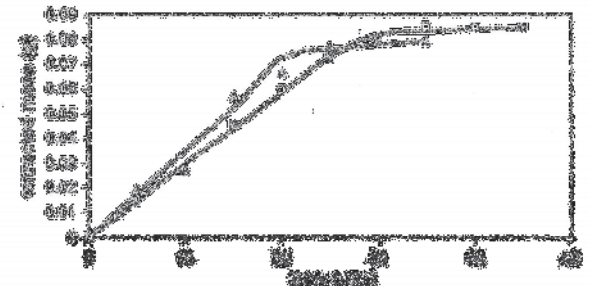


Fig. 1. Maximum possible extraction of essential fatty acids distributed in solvent and water.

where  $k_f$  is fluid-phase mass transfer coefficient,  $k_s$  is solid-phase mass transfer coefficient,  $a_s$  is specific surface area per unit volume of extraction bed,  $Y^*$  is equilibrium fluid-phase mass fraction and  $X_1$  is easily accessible solute in solid-phase.

The first part of the extraction curve is associated with the extraction of the free solute from broken cells. In this extraction step the hypothetical case with negligible external mass transfer resistance, where the fluid phase is in equilibrium with the solid phase throughout the extractor. Then from Eq. (6) the following result is obtained:

4. Kinetic Model

The overall mass transfer was calculated by the rate-based approach and the values for equilibrium solubility are in Table 2, and the experimental values for the maximum extraction are in Table 2. The maximum extraction capacity was used in the model.

The kinetic parameters of the model were determined by comparing the experimental data and the prediction from the model. The results are given in Table 3.

The comparison between the experimental data and the results of the model is shown in Fig. 2. The results of the model are shown in Fig. 2. It is observed that the experimental data, based on mass transfer coefficient, are in good agreement with the model. The model is based on a kinetic relation in the two phases given in the extraction process. The typical curves in the development of the model are shown in Fig. 3. The model is based on a kinetic relation in the two phases given in the extraction process. The typical curves in the development of the model are shown in Fig. 3. The model is based on a kinetic relation in the two phases given in the extraction process. The typical curves in the development of the model are shown in Fig. 3.

Table 3  
Parameters used in the simulation for essential fatty acids by each solvent.

Parameter	A. hexane		B. chloroform		C. acetone	
	Hexane	Water	Hexane	Water	Hexane	Water
$k_f$ (min <sup>-1</sup> )	0.025	0.042	0.027	0.027	0.101	0.125
$k_s$ (min <sup>-1</sup> )	0.025	0.042	0.027	0.027	0.101	0.125

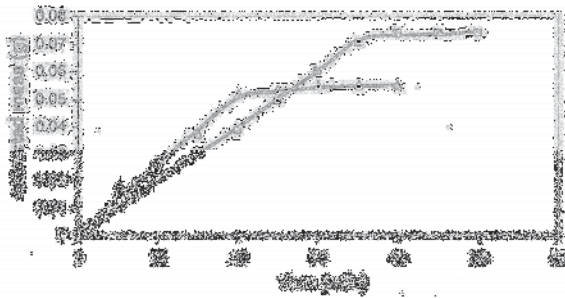


Fig. 3. Steam distillation extraction curves for B. oleracea L. (winter) and B. oleracea L. (autumn) (winter).

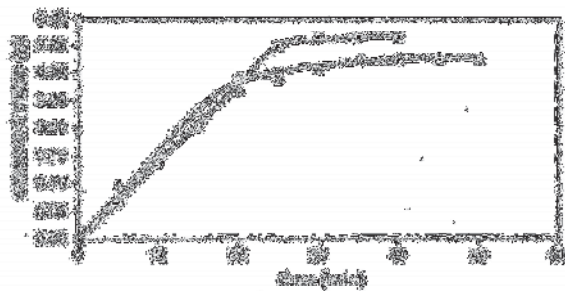


Fig. 4. Steam distillation extraction curves for B. oleracea L. (autumn) and B. oleracea L. (winter).

The results shown in Figs. 1–3 indicate that the overall oil yield of the B. oleracea L. winter and B. oleracea L. winter is slightly higher than the yield obtained in autumn depending on the oil composition. It is possible to present a difference in the relative mass obtained in autumn and winter seasons as can be seen in Table 2. The major components identified in B. oleracea L. were geranyl acetate,  $\alpha$ -pinene, linalyl acetate, and  $\beta$ -caryophyllene. It is noteworthy that the composition of the oil is similar to that reported for B. oleracea L. (winter) and B. oleracea L. (autumn).

5. Conclusions

The CM model is a practical tool for the steam distillation extraction process. It is possible to predict the yield of the oil from the extraction process.

process. The main practical advantage of the model is its ability to simulate extraction curves and identify them by means of the determination of the parameters as mass transfer coefficient and equilibrium constant. Three essential oils for B. oleracea L. were evaluated in winter and autumn and the results demonstrated a small difference regarding to yielding. However, it is possible to

Acknowledgements

The authors thank to the CNPQ and FAPESP.

References

Almeida, M.C., 2007. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2010. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2012. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2014. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2016. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2018. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2019. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2020. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2021. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2022. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2023. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2024. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2025. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2026. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2027. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2028. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2029. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2030. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2031. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2032. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2033. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2034. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2035. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2036. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2037. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2038. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2039. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2040. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2041. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2042. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2043. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2044. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2045. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2046. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2047. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2048. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2049. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.

Almeida, M.C., 2050. *Essential Oils of Brazil*. Elsevier, Amsterdam, 1000 pp.