

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**ELOÍSA CRISTINA PASQUALI**

**ÓLEO ESSENCIAL DA PARTE AÉREA DE *Baccharis dracunculifolia* –  
OBTENÇÃO VIA ARRASTE A VAPOR, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA,  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**

**PATO BRANCO**

**2022**

**ELOÍSA CRISTINA PASQUALI**

**ÓLEO ESSENCIAL DA PARTE AÉREA DE *Baccharis dracunculifolia* –  
OBTENÇÃO VIA ARRASTE A VAPOR, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA,  
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**

**ESSENTIAL OIL FROM THE AERIAL PARTS OF *Baccharis dracunculifolia* –  
OBTAINED VIA STEAM DISTILLATION, CHEMICAL CHARACTERIZATION,  
ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY**

Dissertação apresentada como requisito para  
obtenção do título de Mestre em Tecnologia de  
Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Dra. Sirlei Dias Teixeira.

Coorientador: Dr. Mário Antônio Alves da Cunha.

**PATO BRANCO**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es) e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Campus Pato Branco**



---

ELOISA CRISTINA PASQUALI

**ÓLEO ESSENCIAL DA PARTE AÉREA DE BACCHARIS DRACUNCULIFOLIA OBTENÇÃO VIA ARRASTE A VAPOR, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologia De Processos Químicos E Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Processos Químicos E Bioquímicos.

Data de aprovação: 15 de Dezembro de 2022

Dra. Sirlei Dias Teixeira, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Davi Costa Silva, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dra. Michelle Fernanda Fanta Rodrigues, Doutorado - Luese Óleos Essenciais

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 15/12/2022.

## **AGRADECIMENTOS**

Quero agradecer primeiramente a Deus por ter comigo a bondade de colocar tantas pessoas boas no meu caminho. Agradeço imensamente a minha família, meus pais Lúcia e Maximino por todo apoio durante as minhas jornadas e por sempre se doarem por inteiro para que tudo que eu queira fazer seja possível. Ao meu namorado Bruno por estar ao meu lado durante todo o processo, me auxiliando durante o desenvolvimento do meu trabalho e me fazendo crer em mim mesma quando eu já duvidava, muito obrigada por tanto. Agradeço também aos meus sogros pelos incontáveis almoços de domingo e por sempre se esforçarem para fazer eu me sentir em casa.

À minha orientadora, Dra. Sirlei Dias Teixeira, por ter absoluta fé em mim e em meu trabalho e por ter feito a jornada mais leve. Ao professor Dr. Mário Antônio Alves da Cunha pela orientação no presente trabalho e por emprestar o terço que me auxiliou nas diversas tentativas de análise. Agradeço também a professora Dra. Solange Terezinha Carpes pela ajuda excepcional na realização das análises antimicrobianas e por todos os ensinamentos que eu lembrarei para sempre acerca da metodologia. Também meu muito obrigado à Cledes e todo pessoal do IFPR de Palmas que me auxiliaram em parte da análise antimicrobiana, vocês foram sensacionais.

Agradeço também ao Igor e a Sarah por compartilharem resultados comigo e me auxiliarem com amostras e materiais.

A todo o pessoal da UTF, estagiários e pesquisadores que dividiram comigo ansiedades e conquistas sobre nossos trabalhos. O presente trabalho foi realizado em parte pelo apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Obrigada a todos que fizeram parte da minha vida durante esse período e que me auxiliaram em mais uma conquista.

*Se alguém te obrigar a andar uma milha, vai  
com ele duas.*

(Bíblia Sagrada – Mateus 5:41)

## RESUMO

*Baccharis dracunculifolia* é um arbusto dioico vastamente encontrado no Brasil e em países da América do Sul. Conhecido popularmente como “vassourinha” e “alecrim-do-campo”, vem sendo utilizado na medicina popular há décadas por proporcionar alívio em males do estômago e do fígado e efeito anti-inflamatório. Com foco na bioprospecção de plantas nativas da região sudoeste do Paraná, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção sazonal do óleo essencial da planta coletada na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Pato Branco, pelo método de arraste a vapor, caracterização química, análise antioxidante e antimicrobiana. Como resultado obteve-se óleos referentes às quatro estações do ano, e em sua composição química houve majoritariamente a presença de sesquiterpenos oxigenados e, dentre eles, os componentes Epatulenol e E-nerolidol, independente da época de coleta. As amostras referentes as estações de primavera e verão demonstraram significativa atividade antioxidante pelo método FRAP, captura de radical DPPH e ABTS. As mesmas amostras obtiveram atividade inibitória de crescimento contra *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. gallinarum*, *B. cereus* e *S. typhimurium*. A amostra pura de óleo essencial de primavera demonstrou atividade bactericida contra *S. gallinarum* e *S. epidermidis*.

Palavras-chave: metabólitos secundários; voláteis; terpenos; antioxidante; antimicrobiana.

## ABSTRACT

*Baccharis dracunculifolia* is a dioecious shrub widely found in Brazil and in South American countries. Popularly known as “vassourinha” and “alecrim-do-campo”, it has been used in popular medicine for decades for providing relief in stomach and liver illnesses and anti-inflammatory effect. Focusing on the bioprospecting of native plants in the southwest region of Paraná, the present work aimed to obtain seasonal essential oil from the plant collected at the Federal Technological University of Paraná, campus Pato Branco, by the method of steam distillation, chemical characterization, analysis antioxidant and antimicrobial. As a result, oils related to the four seasons of the year were obtained, and in their chemical composition there was mostly the presence of oxygenated sesquiterpenes and, among them, the components Spathulenol and E-nerolidol, regardless of the season of collection. The samples referring to the spring and summer seasons showed significant antioxidant activity by the FRAP method, DPPH and ABTS radical capture. The same samples obtained showed growth inhibitory activity against *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. epidermidis*, *S. gallinarum*, *B. cereus* and *S. typhimurium*. The pure spring essential oil sample showed bactericidal activity against *S. gallinarum* and *S. epidermidis*.

Key words: secondary metabolites; volatiles; terpenes; antioxidant; antimicrobial.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Rotas originárias de terpenos.....	20
Figura 2- Exemplos de terpenos com funções químicas distintas.....	21
Figura 3- <i>B. dracunculifolia</i> fora do período e em período de floração, respectivamente.....	27
Figura 4- Local de coleta da <i>B. dracunculifolia</i> nas dependências da universidade.....	29
Figura 5- Secagem do material vegetal.....	30
Figura 6- Equipamento de obtenção de óleo essencial por arraste a vapor adaptado.....	30
Figura 7- Óleo essencial obtido por arraste a vapor.....	31
Figura 8- Esquema de realização da análise antioxidante de redução do íon férrico.....	33
Figura 9- Esquema da análise antioxidante de captura do radical DPPH.....	34
Figura 10- Esquema da análise antioxidante de captura do radical ABTS.....	35
Figura 11- Esquema ilustrativo de placa para análise de disco difusão.....	38
Figura 12- Esquema de análise antimicrobiana por disco difusão.....	38
Figura 13- Esquema ilustrativo do conteúdo adicionado às placas de 96 poços.....	40
Figura 14- Esquema ilustrativo da análise de CIM e CBM.....	41
Figura 15- Principais metabólitos em comum identificados nas amostras obtidas.....	47
Figura 16- Gráfico de peso das variáveis e escores dos componentes.....	48
Figura 17- Reação de redução do ferro pelo antioxidante.....	49
Figura 18- Poder antioxidante redutor do íon férrico das amostras de óleo de <i>B. dracunculifolia</i> extraídas em diferentes períodos no ano.....	49
Figura 19- Estabilização do radical DPPH.....	50
Figura 20- Poder antioxidante de captura do radical DPPH das amostras de óleo de <i>B. dracunculifolia</i> extraídas em diferentes períodos no ano.....	51
Figura 21- Estabilização do radical ABTS <sup>+</sup> por ação antioxidante.....	52
Figura 22- Atividade de captura do radical cátion ABTS.....	53
Figura 23- Resultados do método disco difusão para o OEP em <i>E. coli</i> (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>C. albicans</i> (c) e <i>C. tropicalis</i> (d).....	54
Figura 24- Resultados do método disco difusão para o OEV em <i>E. coli</i> (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>C. albicans</i> (c) e <i>C. tropicalis</i> (d).....	54
Figura 25- Resultados do método disco difusão para o OEO em <i>E. coli</i> (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>C. albicans</i> (c) e <i>C. tropicalis</i> (d).....	55
Figura 26- Resultados do método disco difusão para o OEI em <i>E. coli</i> (a) <i>S. aureus</i> (b) <i>C. albicans</i> (c) e <i>C. tropicalis</i> (d).....	55
Figura 27- Placas de poços para análise de inibição de crescimento de <i>L. monocytogenes</i> (A), <i>S. typhimurium</i> (B), <i>B. cereus</i> (C), <i>S. gallinarum</i> (D), <i>S. epidermidis</i> (E) e <i>E. coli</i> (F).....	57
Figura 28- Resultados em placa de avaliação de atividade bactericida contra <i>S. epidermidis</i> (a e b), <i>B. cereus</i> (c e d), <i>S. gallinarum</i> (e), <i>S. typhimurium</i> (f), <i>L. monocytogenes</i> (g) e <i>E. coli</i> (h).....	59



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Rendimento médio de obtenção de óleo essencial por hidrodestilação, da parte aérea de <i>B. dracunculifolia</i> , coletadas em diferentes estações do ano. ....	42
Tabela 2- Metabólitos voláteis obtidos por arraste a vapor da parte aérea de <i>B. dracunculifolia</i> coletados de forma sazonal. ....	43
Tabela 3- Resultados de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima.....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CG-EM	Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DMSO	Dimetilssulfóxido
DPPH	2,2-difenil-1-picrilidrazil
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do Ferro
IA	Índice Aritmético
IAC	Índice Aritmético Calculado
IAL	Índice Aritmético na Literatura
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ISO	International Organization for Standardization
ITC	International Trade Centre
OEI	Óleo Essencial de Verão
OEO	Óleo Essencial de Outono
OEP	Óleo Essencial de Primavera
OEV	Óleo Essencial de Verão

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Produtos naturais</b> .....	<b>16</b>
3.1.1	Histórico dos Produtos Naturais no Brasil .....	17
<b>3.2</b>	<b>Metabolismo vegetal</b> .....	<b>18</b>
3.2.1	Terpenos .....	20
<b>3.3</b>	<b>Óleo essencial</b> .....	<b>22</b>
3.3.1	Métodos de obtenção .....	25
<b>3.4</b>	<b><i>Baccharis dracunculifolia</i></b> .....	<b>26</b>
3.4.1	Óleo essencial de <i>Baccharis dracunculifolia</i> .....	28
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1</b>	<b>Obtenção de material vegetal de <i>Baccharis dracunculifolia</i></b> .....	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Obtenção do óleo essencial de <i>B. dracunculifolia</i></b> .....	<b>30</b>
<b>4.3</b>	<b>Identificação química dos compostos voláteis</b> .....	<b>31</b>
<b>4.4</b>	<b>Atividade antioxidante</b> .....	<b>32</b>
4.4.1	Redução do íon férrico (FRAP) .....	32
4.4.2	Captura do radical DPPH .....	33
4.4.3	Captura do radical cátion ABTS .....	34
<b>4.5</b>	<b>Atividade antimicrobiana</b> .....	<b>36</b>
4.5.1	Disco Difusão .....	36
4.5.2	Concentração inibitória mínima (CIM) .....	39
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>5.1</b>	<b>Rendimento</b> .....	<b>41</b>
<b>5.2</b>	<b>Identificação dos compostos</b> .....	<b>43</b>
<b>5.3</b>	<b>Análise de componente principal</b> .....	<b>47</b>
<b>5.4</b>	<b>Atividade Antioxidante</b> .....	<b>48</b>
5.4.1	FRAP.....	49
5.4.2	Atividade de captura do radical DPPH .....	50
5.4.3	ABTS .....	52
<b>5.5</b>	<b>Atividade Antimicrobiana</b> .....	<b>53</b>

5.5.1 Disco Difusão .....	54
5.5.2 Concentração Inibitória Mínima .....	56
5.5.3 Avaliação de atividade bactericida .....	58
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>62</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Baccharis* é o de maior número da tribo Asterae, pertencente à família Asteraceae (Muller, 2006). Este gênero possui 433 espécies, porém pouco estudado quimicamente, apesar do grande número de substâncias isoladas. Destaca-se na região sudeste e sul do Brasil, onde as espécies conhecidas como carquejas, vassouras e alecrins são usadas na medicina popular como agentes anti-inflamatórios, anti-ulcerogênicos e antioxidantes (Casoti, 2017; Heiden, 2014; Campos et al., 2016).

A *Baccharis dracunculifolia*, também conhecida popularmente como “alecrim-do-campo” e “vassourinha” é um arbusto dioico de rápido crescimento e desenvolvimento (Negreiros *et al.*, 2014). De aspecto lenhoso, o arbusto tem vasto crescimento nas regiões sul, sudeste e centro-oeste brasileiras, principalmente em áreas de pastagem, bem como em áreas em processo de sucessão, onde se adapta facilmente à falta de nutrientes do habitat (Ribeiro *et al.* 2022).

As confirmações, através de estudos, das atividades biológicas das plantas estimulam ainda mais seu uso terapêutico (Ferreira et al., 2014). A busca por novos fármacos de origem natural tem tido grande crescimento, por uma série de fatores, desde os efeitos adversos de medicamentos sintéticos, quanto os prejuízos à saúde pelo uso prolongado (Rates, 2001).

A aplicação de óleos essenciais como fármacos, está relacionada às propriedades terapêuticas advindas da presença em sua composição, de monoterpenos, sesquiterpenos e de fenilpropanoides. Diversas destas atividades já foram observadas, tais como atividade analgésica, antiinflamatória, cardiovascular, antisséptica, dentre outras (Simões *et al.*, 2001; Oliveira, 2012).

A definição de óleo essencial é dada como o produto obtido da planta ou de partes da planta, por destilação, hidrodestilação ou arraste a vapor (Figueiredo et al., 2014). É caracterizado pelo conteúdo de substâncias voláteis, lipofílicas, normalmente de baixo peso molecular, odoríferas e líquidas, compostas por moléculas de natureza terpênica (De Moraes, 2009).

O óleo essencial de *B. dracunculifolia* tem recebido atenção de estudiosos por apresentar diversas propriedades biológicas. Estudos anteriores relataram atividade antioxidante, bactericida e bacteriostática relacionadas aos componentes majoritários

identificados, como por exemplo espatulenol, *E*-nerolidol e  $\beta$ -pineno (Tomazzoli et al. 2021; Cazella et al. 2019).

Dentre os terpenos majoritários, há destaque para o espatulenol, por possuir estudos relatando atividade contra bactérias e também atividade citotóxica moderada (Limberger et al., 2004). Já o sesquiterpeno *E*-nerolidol, é atualmente utilizado como agente flavorizante de alimentos, além de estudos que relatam ação inibidora do crescimento, do agente causador da malária e também do agente causador da leishmaniose tegumentar americana (Arruda et al., 2005; Macedo et al., 2002 apud Santos et al., 2012).

Sabe-se atualmente, que para além da genética da espécie, a sazonalidade é um dos fatores de influência no metabolismo das plantas e, conseqüentemente, em seus metabólitos produzidos. A interação da espécie com o ambiente e suas características, com os microrganismos e com outras plantas pode acarretar em alterações do metabolismo secundário e nos compostos resultantes dele (De Moraes, 2009).

Desta forma, o presente estudo visa avaliar a influência na composição química do óleo essencial da parte aérea de *B. dracunculifolia*, obtido por arraste a vapor, a partir de coleta sazonal, bem como avaliar também, alterações da capacidade antioxidante e antimicrobiana, em função da coleta.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Obter óleo essencial da parte aérea (galhos finos e folhas) da planta *B. dracunculifolia* pelo método de arraste a vapor, utilizando coleta sazonal a fim de analisar a composição química, além de verificar potenciais atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial obtido.

### 2.2 Objetivos específicos

- Coletar a parte aérea composta de galhos finos e folhas da planta *B. dracunculifolia* na cidade de Pato Branco, proceder secagem em estufa e obter o óleo essencial pelo método de arraste a vapor;
- Identificar e quantificar os componentes químicos por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
- Analisar potencial atividade antimicrobiana por disco difusão e concentração inibitória mínima;
- Analisar a potencial atividade antioxidante frente aos radicais DPPH, cátion ABTS e poder de redução do íon férrico;

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Produtos naturais

A história da humanidade está diretamente ligada à história dos produtos naturais. O uso desses metabólitos possibilitou o desenvolvimento de diversas civilizações, com destaque as civilizações Egípcia, Greco-romana e Chinesa, sendo aplicados no controle de pragas, mecanismos de defesa e medicina natural. A medicina tradicional da civilização chinesa ainda nos dias atuais é estudada, sendo que, diversos preparados vegetais ainda têm mecanismos de atuação desconhecidos e compostos a serem isolados (Viegas et al, 2006).

A definição de produtos naturais é dada hoje, como sendo substâncias frequentemente constituídas por estruturas químicas complexas e com orientação espacial bem definida, derivadas de plantas, animais, fungos, microrganismos e organismos marinhos. Desta forma, possuem características específicas de acordo com um determinado grupo de organismos e interagem com eficácia biológica (Felício et al., 2012; Shakya; Naik, 2022).

Principalmente devido a suas características químicas e biológicas, os produtos naturais têm importante destaque como a fonte mais importante de novas substâncias bioativas, ganhando cada vez maior atenção do mercado farmacêutico (Felício et al., 2012). Entre os anos de 1981 a 2019, aproximadamente 1946 pequenas moléculas com propriedades terapêuticas foram aprovadas e 65% dos medicamentos comercializados têm origem em produtos naturais (Newman & Cragg, 2020).

Derivados de plantas, microrganismos e de organismos marinhos, um grande número de medicamentos antitumorais foram identificados (Wali et al., 2019). Neste mesmo sentido, 61% dos compostos anticancerígenos e 49% dos medicamentos anti-infecciosos aprovados nos últimos 30 anos, têm origem em produtos naturais (Shakya; Naik, 2022).

Apesar disso, a ciência de produtos naturais ainda enfrenta diversos obstáculos. Há hoje dificuldades como, em alguns casos, o acesso a material biológico suficiente para isolamento de um componente específico, aplicação de ferramentas de desreplicação para evitar isolamento de um componente já descoberto (Cragg et



al., 1993). Também, produtos naturais que apresentam algum tipo de atividade biológica, podem se deparar com a dificuldade de que componentes que ocorrem naturalmente, nem sempre podem ser patenteados, e, em alguns casos, parte do benefício resultante da patente, deve ser dividido com o país de origem do material biológico (Harrison, 2014; Burton & Evans, 2014).

### 3.1.1 Histórico dos Produtos Naturais no Brasil

O Brasil é detentor da maior floresta tropical úmida do mundo, a Floresta Amazônica. Seu bioma compreende uma área de grandeza continental, e, conseqüentemente, possui vasta biodiversidade que é caracterizada como um dos principais patrimônios naturais do mundo (Mello, 2015).

Historicamente, ainda enquanto o Brasil era colônia de Portugal, os médicos portugueses necessitaram de voltar suas atenções aos remédios naturais utilizados pelos indígenas, por enfrentarem escassez dos medicamentos que eram empregados na Europa (Pinto et al., 2002).

A medida em que as fontes de especiarias, Ásia e Índia, foram sendo tomadas por Inglaterra e Holanda, Portugal começou então a buscar no sertão brasileiro especiarias e produtos como salsa, urucum, madeira, sementes e oleaginosas. Tais produtos começaram a ser então exportados para o país, em milhares de arroba (Pinto et al., 2002). Dentre os principais produtos naturais encontrados no Brasil à época, o Pau Brasil, do qual era obtido um corante de coloração vermelha, usado como corante textil e tinta de escrever, foi extraído incessantemente até sua quase extinção (Viegas et al., 2006).

As primeiras expedições científicas para estudo dos produtos naturais a chegarem em território brasileiro, se deram após a abertura dos portos às nações amigas, após decreto de D. João VI, caracterizando um dos primeiros marcos da ciência brasileira (Freedberg, 1999). Devido a este e outros marcos científicos, a química de Produtos Naturais é a área mais antiga dentro da Química brasileira (Pinto et al., 2002).

Para além da biodiversidade da flora brasileira, dentro da gama de produtos naturais do Brasil, deve-se destacar a segunda fonte biológica mais explorada por

pesquisadores brasileiros, os fungos (Berlinck et al., 2017). Dado aos diferentes biomas contidos no país, o conhecimento deste grupo ainda é escasso (Nascimento, Pires-Zottarelli, 2012). Atualmente tem-se conhecimento de 348 táxons, sendo 120 destes pertencentes a Chytridiomycota, 197 a Oomycota, 18 a Blastocladiomycota, cinco a Hyphochytriomycota, quatro a Labyrinthulomycota e quatro a Plasmodiophoromycota (Milanez et al., 2007; Nascimento et al., 2011 a, b).

Sendo apenas a terceira fonte biológica mais explorada, os organismos marinhos carecem de estudos por questões financeiras, como o custo de coletas de amostras destes organismos, difícil acesso aos biomas que contêm estas espécies e também à fauna marinha brasileira ser diretamente influenciada por correntes vindas do Caribe, dentre outras limitações (Berlinck et al., 2004).

Considerando toda a flora e fauna brasileiras, há uma vasta fonte natural para descoberta de biomoléculas a partir de produtos naturais, como por exemplo organismos marinhos, fungos e microrganismos. Estes últimos, por exemplo as bactérias, representam ainda um grupo fracamente explorado por pesquisadores brasileiros (Berlinck et al., 2017; Lôca et al., 2014).

### **3.2 Metabolismo vegetal**

Metabolismo é definido como o conjunto de reações químicas que ocorrem nas células e, como metabolismo fisiológico, as reações que ocorrem para degradação e a síntese de compostos químicos mandatórios para a manutenção do crescimento e desenvolvimento de organismos animais e vegetais (Almeida, 2017).

Para a maioria das reações químicas envolvidas nestas reações fisiológicas, a presença de enzimas específicas é imprescindível, uma vez que o produto final de algumas reações, é requisito para as reações seguintes e, assim o metabolismo possa ocorrer (Moyna & Menéndez, 2001).

Seres vivos animais ou vegetais possuem metabolismo. O responsável pela síntese de compostos essenciais para manutenção de sua sobrevivência e crescimento, se chama metabolismo primário, que é o metabolismo comum entre as espécies (De Sousa, 2010; Santos, 2001).

Nos vegetais, o metabolismo primário é responsável por processos como ciclo de Krebs,  $\alpha$ -aminoácidos, proteínas e ácidos nucleicos, ou seja, as reações e semi-reações necessárias para sua vitalidade (Schaaf et al., 1995). Os metabólitos primários, responsáveis pela função de manutenção e crescimento dos organismos, são compostos comuns para todas as espécies vegetais, classificados quimicamente como lipídeos, proteínas, ácidos nucleicos e açúcares (Taiz & Zeiger, 2013).

O metabolismo secundário (ou especializado) das plantas é como uma resposta genética dependente de sua espécie, durante estágios de crescimento e desenvolvimento. Por exemplo, o metabolismo secundário responderá de forma singular a estresses como falta de nutrientes ou ataque de insetos e outros microrganismos, e a capacidade genética da planta de reagir a esses fatores em momento determinado regulará seu metabolismo (Mann, 1987).

Em teoria, todas as plantas têm potencial de sintetizar metabólitos secundários. Porém, essa característica é mais observada em plantas selvagens, devido a seu histórico evolutivo de disputa por sobrevivência com outras plantas, e, adaptação a diversos fatores como defesa contra inimigos e formação de estandes puros (Souza Filho & Alves, 2002). Apesar de não possuírem papel significativo no crescimento e desenvolvimento da planta, os metabólitos secundários são fundamentais na proteção contra danos (Samuni-Blank et al., 2012).

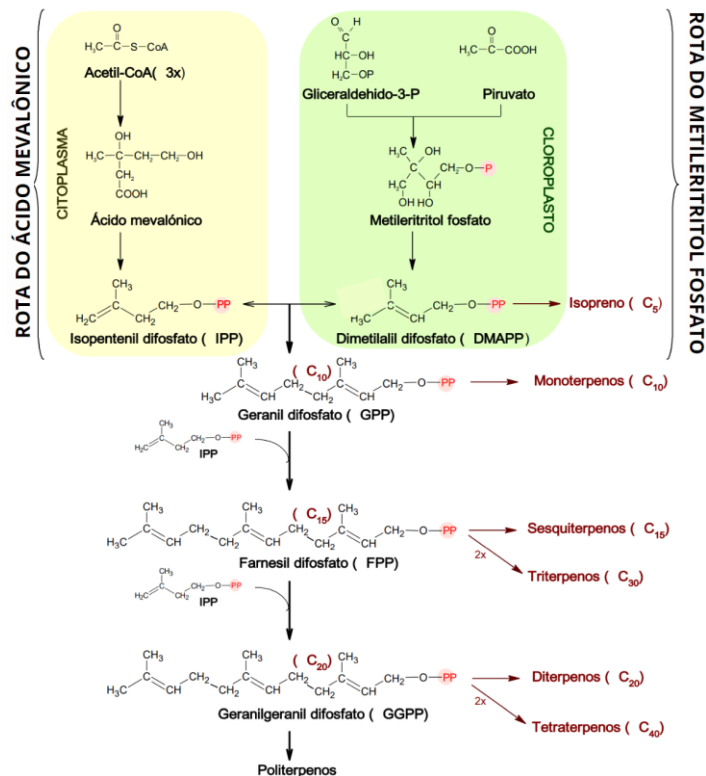
As principais rotas biossintéticas dos metabólitos secundários, são derivadas do metabolismo primário do carbono. Os terpenos derivam de duas rotas: a do ácido mevalônico e a rota do metileritritol fosfato. Os compostos fenólicos derivam da rota do ácido chiquímico e do ácido malônico. Os alcaloides são sintetizados a partir de aminoácidos e ácidos nucleicos (García & Carril, 2011).

Para os seres humanos, os metabólitos secundários são utilizados para outros fins, como aromatizantes, corantes e até como medicamentos (Almeida, 2017). Os alcaloides e terpenos são as substâncias químicas com maior potencial farmacológico (Andrade & Casali, 1999). Muitos metabólitos possuem funções semelhantes aos metabólitos endógenos animais, como por exemplo neurotransmissores, podendo atuar como antidepressivos, sedativos, relaxantes musculares e também anestésicos (Briskin, 2000).

### 3.2.1 Terpenos

Os terpenos são, dos grupos constituintes do metabolismo secundário, o mais numeroso com mais de 40.000 moléculas distintas. São usualmente insolúveis em água e todas as moléculas podem ser classificadas de acordo com o número de unidades de isopreno ( $C_5$ ) presentes em sua construção. Terpenos constituídos de 10 átomos de carbono são chamados de monoterpenos, os constituídos de 15 átomos de carbono são chamados de sesquiterpenos e assim sucessivamente (García & Carril, 2011).

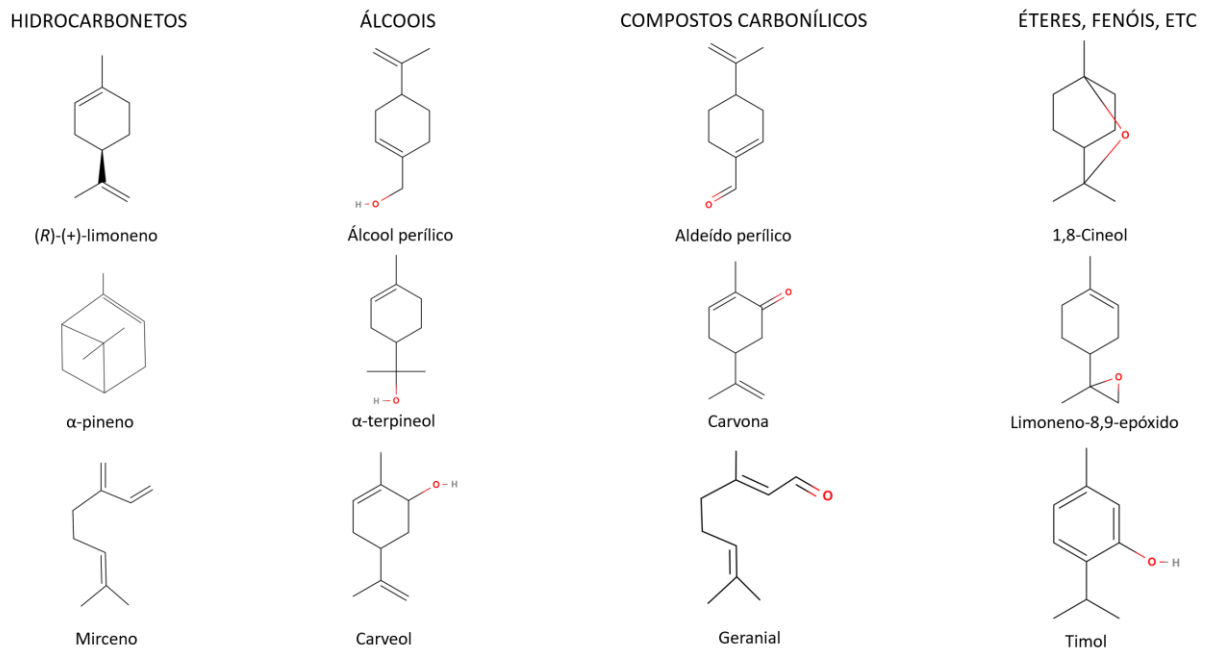
Tais moléculas têm origem por duas rotas distintas, mas que ao final, formam o componente isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero, dimetilalil difosfato (DMAPP), ambos com 5 carbonos. A rota do ácido mevalônico, ocorre no citoplasma das células e se inicia a partir da condensação de 3 moléculas de acetil-coenzima A (acetil-coA), e a rota do metileritritol fosfato (MEP), ocorre no cloroplasto das plantas e se inicia a partir da reação entre 1 molécula de piruvato e 1 molécula de gliceraldeído (García & Carril, 2011). A Figura 1 apresenta as reações envolvidas nas rotas e as moléculas de terpenos originadas a partir delas.



**Figura 1- Rotas originárias de terpenos.**

Fonte: adaptado de García; Carril (2011).

Sendo quimicamente caracterizados como hidrocarbonetos saturados e insaturados, os terpenos constituídos apenas de átomos de carbono e hidrogênio são conhecidos como “alcenos naturais” (Mc Murry, 2011), como exemplo o Limoneno, Mirceno,  $\beta$ -Caroteno. Quando estes possuem um ou mais átomos de oxigênio, são chamados terpenoides e adquirem outras funções químicas como álcool, cetona, fenol, aldeído, etc (Felipe & Bicas, 2017), como o Carveol, Timol e Geranial (Figura 2).



**Figura 2- Exemplos de terpenos com funções químicas distintas.**

Fonte: Autoria própria.

Diversos terpenoides possuem atividades biológicas como atividade contra câncer, malária, inflamações, entre outras. O medicamento anti-câncer Taxol<sup>®</sup> e o medicamento anti-malária Artimesinin<sup>®</sup> são os dois principais exemplos de remédios que tem como base terpenos (Wang, Tang; Bidigare, s.d.).

São considerados metabólitos voláteis, os terpenos nos quais a estrutura possui baixo peso molecular, característica importante para sua aplicação em diversos setores industriais que buscam aromas naturais de flores, frutas e especiarias (Farkas; Mohácsi-Farkas, 2014). Como exemplo de uso em perfumaria e volatilidade dos terpenos, o perfume Chanel N<sup>o</sup> 5 possui como nota de saída os aldeídos ylang, néroli, nas notas do meio ou de coração são rosa de maio, jasmim ou lírio florentino e lírio-

do-vale, nas notas de saída ou de fundo são sândalo, vetiver, almíscar, baunilha, civeta e musgo de carvalho. Ao entrar para a história, o perfume foi um grande sucesso e criou a atualmente classe dominante dos perfumes que são as notas de topo aldeídicas (Sell, 2019; Rezende, 2011).

Não menos importantes, terpenos com maior peso molecular (di, tri e tetraterpenos) que pouco ou não contribuem para o aroma, são os principais constituintes da secreção conhecida como oleorresina, mistura de óleo essencial com resina, secretada por algumas plantas e muito conhecida por ser fixadora de perfumes, constituintes de ceras e tintas e também pela aplicação na medicina popular (Hartmann, 2007).

O diterpeno labdano, em estudo em conjunto com taninos, apresentou atividade inseticida contra a larva do mosquito transmissor da dengue *Aedes aegypti* (Valloto et al., 2011). Triterpenos chamados de limonoides, conhecidos por seu sabor amargo, também são vastamente estudados por seus efeitos inseticidas (Luo et al., 1999; Viegas-Júnior, 2003). Margosan-O<sup>®</sup>, inseticida disponível no mercado, possui como componente principal a azadiractina, triterpeno limonoide (Sundaram & Curry, 1989).

A classe de carotenoides, tetraterpenos, são responsáveis pela coloração de diversos vegetais e frutas, com cores distintas de amarelo a vermelho, acessórios do processo de fotossíntese das plantas e, já nos animais, desempenham papel de precursores da vitamina A. Não obstante a isso, alguns carotenoides possuem atividade antioxidante (Felipe & Bicas, 2017; Yuan et al., 2015).

### **3.3 Óleo essencial**

A definição de óleo essencial é dada pela ISO 9235-2021 como o produto obtido de material de origem natural por destilação a vapor, processo mecânico do epicarpo de frutas cítricas ou destilação a seco (ISO 9235-2021). São caracterizados como a mistura resultante de substâncias voláteis, lipofílicas, normalmente de baixo peso molecular, odoríferas e líquidas, compostas por moléculas de natureza terpênica. A volatilidade dá a característica marcante de odor agradável pelos quais são mundialmente conhecidos, e a concentração de compostos dá o odor

característico de cada planta (De Moraes, 2009; Figueiredo et al., 2007). São normalmente solúveis em solventes orgânicos, podem não apresentar coloração ou serem amarelados, sensíveis a variação de luz, calor e umidade e possuem atividade óptica (Simões et al., 2010).

A composição química dos óleos essenciais está diretamente relacionada com diversos fatores, dentre eles a genética da planta e o ambiente em que está inserida. Características ambientais, juntamente com características fisiológicas como estágio de desenvolvimento e idade, e fatores abióticos como a luminosidade do ambiente, quantidade de chuva e temperatura também agem em conjunto para exercer influência no metabolismo. Ao redirecionar a rota metabólica da espécie para que esta sintetize diferentes compostos, altera-se a interação da mesma com microrganismos, insetos e outras plantas (De Moraes, 2009).

Há atualmente diversas normas técnicas para produção e comercialização de OEs. Além da ISO 9235, a ISO 3218 regulamenta, por exemplo, os fatores a serem considerados para dar o nome oficial a um OE como a origem botânica da planta, as partes utilizadas, o método de obtenção e se houve ou não um pré tratamento da parte vegetal (ISO 3218:2014).

O Brasil atua no setor de óleos essenciais comercializando-os há quase 100 anos, produzindo desde óleo essencial de espécies nativas do território como o pau-rosa, a espécies exóticas como a laranja e menta (Bizzo, Hovell & Rezende, 2009).

Atualmente, os OEs produzidos artesanalmente em pequena escala, de qualquer espécie vegetal, não possuem especificações técnicas no país. Desta forma, considerando a herança genética das plantas utilizadas e os fatores climáticos aos quais estão inseridas, são comumente encontrados óleos essenciais da mesma espécie com composições químicas diferentes (Figueiredo et al., 2008; Da Silva et al., 2016).

O mercado internacional de OE em 2021, movimentou em torno de US\$ 8 bilhões, sendo os principais países envolvidos, a Índia, os EUA, a França, a China e o Brasil. Desde 2017, a Índia tem liderado o mercado em valores de exportação com o óleo essencial de *Mentha arvensis* (ITC; Bizzo & Rezende, 2022).

No ranking, o Brasil se mantém em quinto lugar há anos, em relação aos valores exportados, mas lidera quanto à quantidade exportada, em função do OE de laranja, subproduto da indústria de sucos (ITC, 2022). Neste sentido, os últimos dados

disponíveis do IBGE acerca da produção do OE no Brasil, relatam que foram produzidas 154,6 mil toneladas do óleo, sendo 0,1% óleo de *petitgrain* (destilação das folhas e ramos) com receita equivalente a US\$ 418 milhões. Porém, deste total apenas 16,9% da produção foi exportada (Bizzo & Rezende, 2022; IBGE; MDIC).

Para além do OE de laranja, o Brasil comercializa também quantidades significativas de OE de limão siciliano (820 toneladas em 2020) e OE de eucalipto (aproximadamente 570 toneladas em 2020), dentre outros em menor quantidade (Bizzo & Rezende, 2022).

É de grande importância o conhecimento de que os OE de frutas cítricas são vastamente utilizados em diversos setores industriais. Na indústria de alimentos a aplicação se dá principalmente em doces e bebidas, como aromatizante. São utilizados também em materiais de limpeza e na indústria farmacêutica (Bousbia et al., 2009).

A razão para o aumento da busca e utilização dos óleos essenciais se dá, em parte, pelo ressurgimento do interesse por antigas práticas da medicina popular, por tratamentos tradicionais. Tal filosofia também se aplica na indústria alimentar, quando se trata da procura por um estilo de vida mais natural.

A procura por estas substâncias naturais têm alavancado o uso de óleos essenciais como antioxidante e antimicrobiano em alimentos, por serem biodegradáveis e de baixa toxicidade aos mamíferos (FIGUEIREDO et al., 2007).

O *R-(+)*-limoneno é o produto natural quiral mais abundante e é encontrado no OE de *petitgrain*. É utilizado com finalidade aromatizante, mas também em indústrias farmacêuticas como antifúngico e anti-séptico e, em indústrias de processamento de minerais, para flotação de alguns compostos (Baptistella et al., 2009).

Outras atividades biológicas são atribuídas aos mais diversos óleos essenciais como no OE de patchouli, que contém propriedades antidepressiva, antiséptica, antifúngica e anti-inflamatória (Deguerry et al., 2006). O OE de *Cordia verbenácea*, popularmente conhecida como erva-baleeira, rico nos sesquiterpenos  $\alpha$ -humuleno e *E*-cariofileno, possui atividade anti-inflamatória muito provavelmente, pela inibição da ativação e/ou liberação de diferentes mediadores inflamatórios (Fernandes et al., 2007).



### 3.3.1 Métodos de obtenção

Os primeiros registros de extração de óleos essenciais datam da era da pedra polida (7.000 a.C. a 4.000 a.C.) onde o homem, por meio de utensílios de pedra, já começava a obtê-los (Marques & Toledo, 2007). O primeiro processo de destilação, com serpentina refrigerada para obtenção de óleo essencial, foi realizado durante o período das cruzadas, onde o conhecimento acerca dos voláteis foram difundidos para o leste e Arábia (Grace, 1999).

A técnica de hidrodestilação, principalmente utilizada para obtenção em pequena escala, se utiliza do aparelho tipo Clevenger. O processo consiste em mergulhar, a matéria-prima vegetal diretamente na água em ebulição, onde o óleo essencial evaporará juntamente com a água que será direcionada ao condensador. Neste, ocorrerá o resfriamento e então se procederá a separação do óleo essencial por diferença de densidade (Jakiemiu, 2008).

O método por prensagem a frio, consiste em colocar frutos inteiros numa prensa hidráulica onde este serão esmagados. Após este processo, é coletado o suco e o óleo essencial presente no fruto. O óleo essencial então deve ser separado do suco, por meio de jato d'água que forma uma espécie de emulsão, composta de 1 a 3% de óleo essencial e fragmentos sólidos do fruto. Após, o óleo essencial é colocado em centrífuga, onde é realizado o processo chamado de clarificação, onde são obtidas três fases: fase leve (rica em óleo essencial), fase intermediária (rica em água) e a fase pesada (rica em sólidos insolúveis). A fração leve é concentrada novamente por centrifugação, e então, em tanques de decantação, ocorre a separação final do óleo essencial (Pinheiro, 2003; Silveira et al., 2012).

O método de obtenção por solventes orgânicos, é geralmente utilizado, quando se tem vegetais mais delicados. As plantas são submetidas a contato com solventes orgânicos polares ou apolares, como benzeno, hexano, metanol, etanol, propanol, acetona, pentano e outros tipos de solventes clorados, em aparelho de extração tipo Soxhlet, onde tal mistura é colocada dentro de um balão redondo de vidro, que deverá ser aquecido por manta aquecimento até a ebulição. O vapor do solvente arrastará os componentes do óleo essencial e a mistura será resfriada, por meio de condensador. As fases sólida e líquida se separarão e o óleo essencial deve ser obtido pela

evaporação do solvente presente na fase líquida (Berwick, 1996 apud Neves, 2011; Azambuja, 2016; Steffani, 2003 apud Silveira et al., 2012).

O método de obtenção por meio de fluídos supercríticos, utiliza gases entre as fases líquida e gasosa, o chamado estado supercrítico, onde estes devem agir como solvente. O gás mais utilizado nesta técnica, é o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), principalmente em razão de que, a temperatura crítica e a pressão crítica desse gás, serem consideravelmente baixas, 31,1°C e 72,85 atm, respectivamente. Neste método, utiliza-se um cilindro com capa de metal poroso nas pontas, onde se dará a circulação do fluído supercrítico e das substâncias dissolvidas. O contato entre o solvente e a planta, solubilizará os componentes do óleo essencial até sua solubilidade de equilíbrio. Assim, a solução gasosa sairá do extrator e deverá passar por uma válvula para redução da pressão, onde se dará a precipitação dos componentes dentro do separador e o gás deve ser separado do óleo essencial (Rodrigues et al., 2019).

A obtenção de óleo essencial pelo método de destilação por arraste a vapor é o método mais utilizado pelas indústrias. A planta é colocada em um recipiente com furos para que o material não entre em contato com água em ebulição. O vapor d'água que deve estar abaixo do recipiente, quando saturado e superaquecido, entra em contato com a planta provocando o rompimento das bolsas secretoras presentes no tecido vegetal, que então liberarão o óleo essencial. Este, será arrastado até o condensador, onde será refrigerado com água e ocorrerá a separação do óleo essencial da água residual, que também é conhecida como hidrolato (Koketsu & Gonçalves, 1991; Jakiemiu, 2008).

### **3.4 *Baccharis dracunculifolia***

A família Asteraceae é atualmente destaque mundial pela diversidade de espécies e importância econômica, tanto como planta ornamental, quanto medicinal (Funk *et al.* 2009), sendo também utilizada como corante, planta alimentícia e agente aromatizante (Casoti, 2017). No Brasil, estão estimadas 2.070 variedades de espécies desta família, sendo distribuídas em 280 gêneros, representando a terceira maior família das angiospermas no país (BFG, 2015).

O gênero *Baccharis*, pertencente à família Asteraceae, compreende 433 espécies. Destas, 178 espécies ocorrem no Brasil, das quais 115 são endêmicas. É um gênero considerado endêmico também em diversos países, onde espécies são encontradas desde o sudeste do Canadá até o sul da Argentina. Por ter alto número de espécies, algumas plantas do gênero permanecem floridas de dois a oito meses, sendo estes em variadas estações do ano (Heiden, 2014).

Dentre as espécies do gênero, as mais estudadas quanto às características químicas e atividades biológicas estão *Baccharis dracunculifolia*, *B. trimera*, *B. trinervis*, *B. grisebachii*, *B. tricuneata*, *B. megapotamica*, *B. salicifolia*, *B. coridifolia*, *B. crispa* e *B. incarum* (Verdi *et al.*, 2005).

*B. dracunculifolia* (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**), conhecida popularmente como “vassourinha” e “alecrim-do-campo”, é um arbusto dioico, de rápido crescimento e aspecto lenhoso, abundante nas regiões sul, sudeste e centro-oeste brasileiras, onde é encontrada principalmente, em áreas de pastagem e também em áreas em processo de sucessão, por sua fácil adaptação à falta de nutrientes do habitat (Negreiros *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.* 2022).



**Figura 3- *B. dracunculifolia* fora do período e em período de floração, respectivamente.**  
Fonte: autoria própria.

Considerada como fonte de produtos naturais (Veiga *et al.*, 2017; Zuccolotto *et al.*, 2019), *B. dracunculifolia* é amplamente utilizada na medicina popular sob

diversas formas, como por exemplo, a infusão feita com suas folhas, é empregada para tratar de problemas do fígado e disfunções estomacais (Monteiro et al., 2010).

#### 3.4.1 Óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia*

Estudos recentes acerca da atividade biológica do óleo essencial de *B. dracunculifolia* revelaram propriedades antioxidante, antiinflamatória bactericida, bacteriostática, fungicida e fungistática (Tomazzoli et al. 2021; Rockenbach, 2021; Cazella et al. 2019).

Estudo realizado por Massignani et al. (2009), apresentou como componentes principais do OE, nerolidol (23,58%), germacreno-D (21,54%), biciclogermacreno (19,24%), *trans*-cariofileno (7,12%) e espatulenol (6,03%). O óleo essencial demonstrou, atividade biológica ao diminuir lesões de úlceras gástricas em ratos e sem efeitos de intoxicação, possibilitando seu uso para futuros medicamentos contra esta patologia.

Estudo de Parreira et al. (2010), obteve como componentes majoritários do OE, *E*-nerolidol (33,51%), espatulenol (16,24%),  $\alpha$ -muurolol (4,66%) e  $\beta$ -cariofileno (2,28%). Avaliando a atividade do OE frente a *S. mansoni* (agente causador da esquistossomose) e atividade antileishmaniose *in vitro* obtiveram significativos resultados positivos. Contra o agente causador da esquistossomose, o OE foi capaz de matar platelmintos adultos e afetar o desenvolvimento de seus ovos.

Em estudo reportado por Chaaban et al. (2017), o OE de *B. dracunculifolia* apresentou como componentes majoritários,  $\beta$ -pineno (9,94%), *D*-limoneno (9,59%),  $\beta$ -nerolidol (7,93%), cariofileno (7,69%) e espatulenol (6,69%). O OE demonstrou satisfatória atividade contra larvas maduras de mosca varejeira. Também, os autores afirmaram que, devido à composição química do óleo essencial, este poderá ser útil no tratamento de infestação de larvas de moscas na pele de animais.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Obtenção de material vegetal de *Baccharis dracunculifolia*

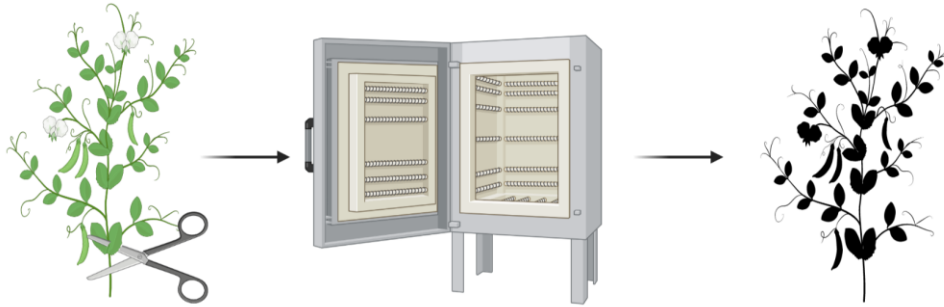
A planta foi coletada nas dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) campus Pato Branco, no estado do Paraná, Brasil, (Figura 4) latitude -26.197209 S, longitude -52.687708 W.



**Figura 4-** Local de coleta da *B. dracunculifolia* nas dependências da universidade.  
Fonte: autoria própria.

Foram coletadas folhas, flores quando em época de floração e galhos, sendo que estes não ultrapassaram 10 milímetros de diâmetro. As coletas foram realizadas nos meses de março, maio, julho e setembro, de modo que abrangessem as quatro estações do ano. As partes de interesse foram cortadas com tesoura de poda sempre das 13:30 às 14:00.

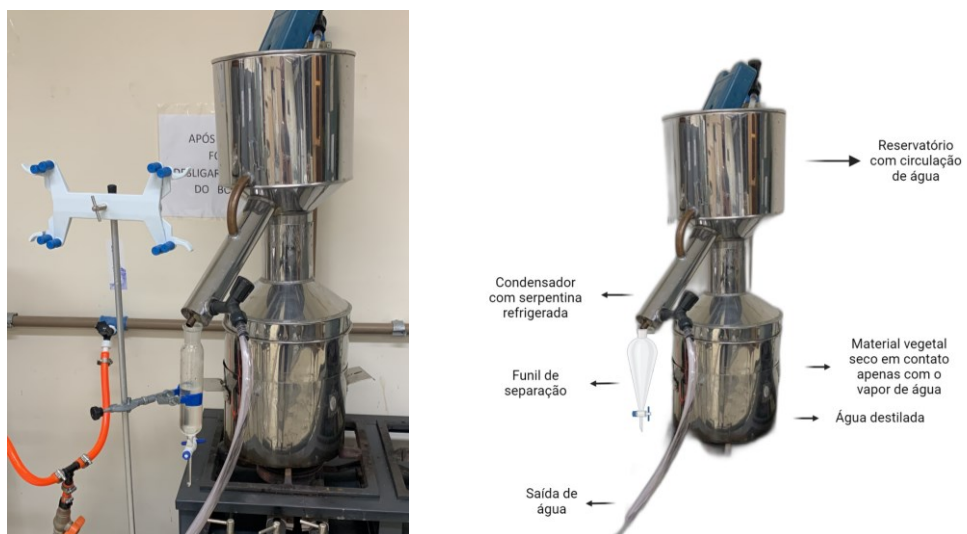
O material foi acondicionado em sacos de papel, que foram levados para uma estufa com circulação de ar a 35 °C até que o material estivesse uniformemente seco (Figura 5).



**Figura 5- Secagem do material vegetal.**  
Fonte: autoria própria.

#### 4.2 Obtenção do óleo essencial de *B. dracunculifolia*

A obtenção do óleo essencial de *B. dracunculifolia* foi realizada pelo método de arraste a vapor em um equipamento adaptado para reproduzir em laboratório o método normalmente utilizado para obtenção de óleo essencial em larga escala (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). Neste, foram adicionados 2 litros de água destilada e, sem contato com a água, o material seco foi adicionado em pedaços pequenos. Na parte superior, ocorre circulação de água e pedaços de gelo foram adicionados para o resfriamento do condensador.



**Figura 6- Equipamento de obtenção de óleo essencial por arraste a vapor adaptado.**  
Fonte: autoria própria.

Na parte final do condensador, com auxílio de um suporte universal posicionou-se um funil de separação para coleta do óleo essencial obtido (Figura 7).



**Figura 7- Óleo essencial obtido por arraste a vapor.**  
Fonte: autoria própria.

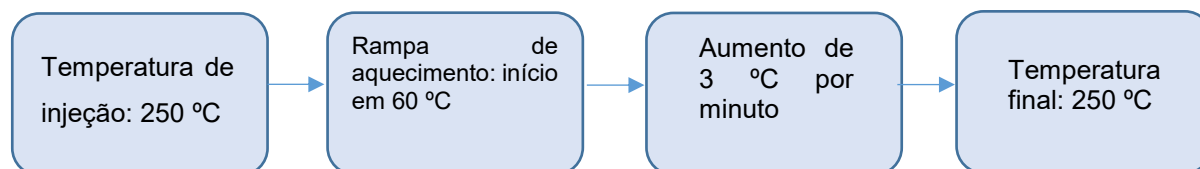
Após o procedimento, o óleo essencial coletado, foi encaminhado para a análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, a ser realizada no Departamento de Química da UFPR, em Curitiba-PR.

### **4.3 Identificação química dos compostos voláteis**

Os componentes dos óleos essenciais obtidos foram identificados utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas, para separação e quantificação de cada substância. O cromatógrafo utilizado foi CG-EM da marca Shimadzu modelo GC-2010 Plus, acoplado a detector de massas em tandem do tipo triplo quadrupolo modelo TQ8040 e injetor automático modelo AOC-5000 Plus e sistema de ionização de 70 eV para análises de amostras líquidas, gasosa (headspace) e microextração em fase sólida (SPME).

A coluna capilar utilizada foi composta de sílica fundida Rtx-5MS (5% difenil + 95% dimetil polissiloxano) com dimensões 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm e o gás inerte

foi hélio a  $1,02 \text{ mL min}^{-1}$ . Foi utilizado hexano pureza 99,5% para diluição das amostras de óleos essenciais e, a injeção de  $1 \mu\text{L}$  de cada amostra, foi procedida de acordo com as condições a seguir:



Os componentes das amostras de óleo essencial foram identificados com base no índice aritmético (IA), determinado por meio da utilização de uma série homóloga de hidrocarbonetos lineares saturados contendo de  $\text{C}_8$ - $\text{C}_{25}$  átomos de carbono, coinjectados nas mesmas condições cromatográficas. Os índices aritméticos foram calculados com base nos tempos de retenção obtidos, sendo então comparados com os índices aritméticos da literatura, (ADAMS, 2001; VAN DEN DOOL; KRATZ, 1963) e seus respectivos espectros de massas.

#### 4.4 Atividade antioxidante

As potenciais atividades antioxidantes dos OEs obtidos, foram avaliadas frente ao poder de redução do íon férrico pelo método FRAP e, a capacidade de eliminação dos radicais DPPH e ABTS. As amostras foram testadas puras e quando necessário, diluídas para melhor adequação ao método.

Os protocolos utilizados são relatados a seguir.

##### 4.4.1 Redução do íon férrico (FRAP)

O protocolo seguido nesta análise foi descrito por RUFINO et al., (2007) e WOOTTON-BEARD, MORAN e RYAN (2011).

O reagente FRAP foi preparado com 25 mL de solução tampão acetato de sódio em concentração  $300 \text{ mmol L}^{-1}$  e pH 3,6, juntamente com 2,5 mL de solução

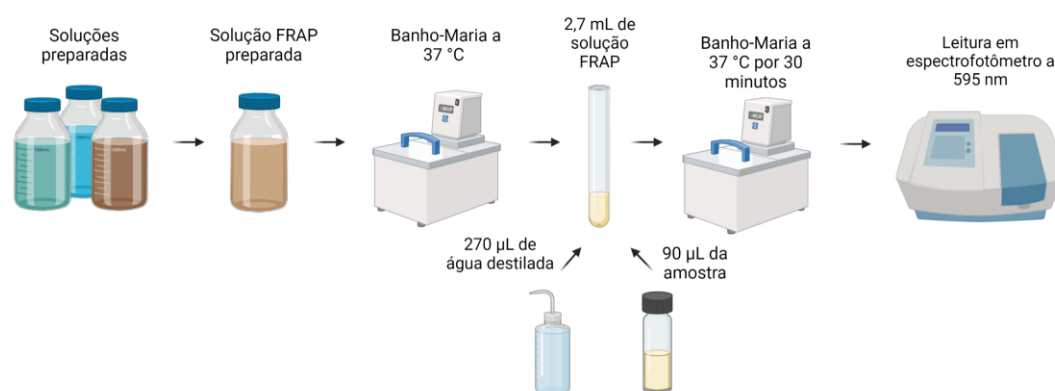


TPTZ em concentração  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  dissolvidos em HCl  $40 \text{ mmol L}^{-1}$  e 2,5 mL de solução de cloreto férrico  $20 \text{ mmol L}^{-1}$ . Todas as soluções citadas foram preparadas no mesmo dia da análise.

O procedimento foi realizado com  $90 \mu\text{L}$  da amostra pura, misturada com  $270 \mu\text{L}$  de água destilada e 2,7 mL de solução FRAP. O conteúdo foi armazenado na ausência de luz, por 30 minutos em banho-maria a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ , então procedeu-se a leitura em espectrofotômetro a  $595 \text{ nm}$ .

A solução FRAP foi utilizada como branco, e as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos foram expressos em  $\mu\text{mol FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  por meio de correlação com curva de calibração, utilizando sulfato ferroso em concentração  $0,2$  a  $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ , submetido ao mesmo protocolo de análise.

Um esquema de realização da análise está representado na Figura 8.



**Figura 8- Esquema de realização da análise antioxidante de redução do íon férrico.**  
Fonte: autoria própria.

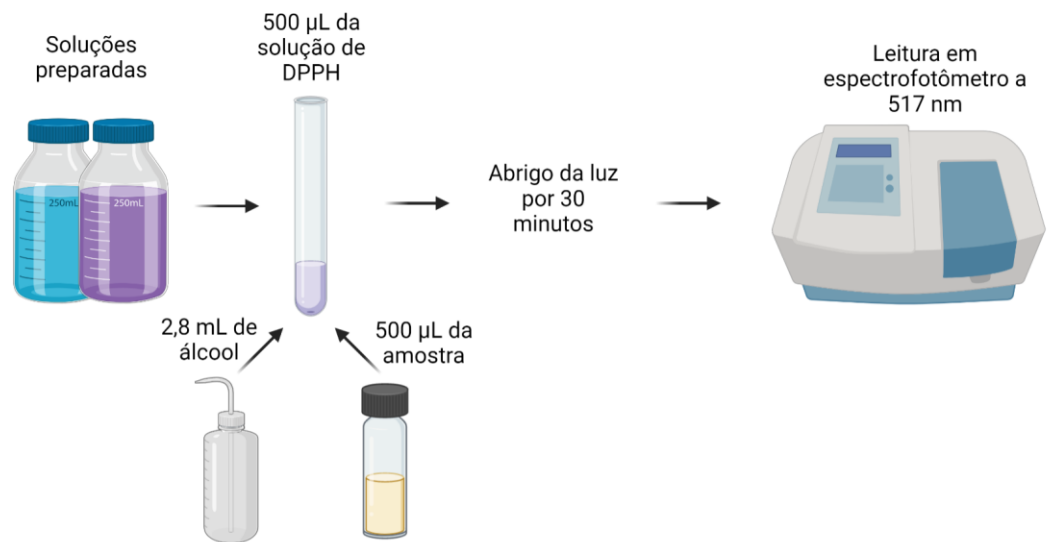
#### 4.4.2 Captura do radical DPPH

A avaliação da potencial atividade de captura do radical DPPH pelos óleos essenciais obtidos, foi realizada de acordo com os procedimentos relatados por Brand-Williams; Cuvelier; Berset (1995) e Ubeda et al. (2011).

Inicialmente preparou-se as soluções necessárias, DPPH  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  e Trolox  $2,0 \text{ mmol L}^{-1}$ . A solução mãe de Trolox foi ainda diluída à concentração  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  e posteriormente, fez-se as diluições desta para geração da curva de calibração, sendo estas concentrações de  $0,05$ ,  $0,15$ ,  $0,25$ ,  $0,50$ ,  $0,75$ ,  $1,0$ ,  $1,5$  e  $2,0$

mmol L<sup>-1</sup>. Todas as soluções e concentrações necessárias foram preparadas no dia da análise.

Tanto as amostras de OE quanto as diferentes concentrações de Trolox foram submetidas ao mesmo procedimento: 500 µL destas foram adicionadas a tubo de ensaio, onde foram adicionados também 2,8 mL de etanol P.A. e 500 µL da solução de DPPH 0,5 mmol L<sup>-1</sup> previamente preparada. Os tubos foram protegidos da luz e após 30 minutos, o conteúdo foi colocado em espectrofotômetro para leitura a 517 nm tendo como branco, o etanol P.A. (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**). A capacidade de captura do radical DPPH foi expressa em µM de Trolox equivalente por litro.



**Figura 9- Esquema da análise antioxidante de captura do radical DPPH.**  
Fonte: autoria própria.

#### 4.4.3 Captura do radical cátion ABTS

O potencial de captura do radical cátion ABTS pelos óleos essenciais obtidos foi avaliado seguindo metodologia descrita por RUFINO et al., (2007) e WOOTON-BEARD, MORAN e RYAN (2007) com adaptações.

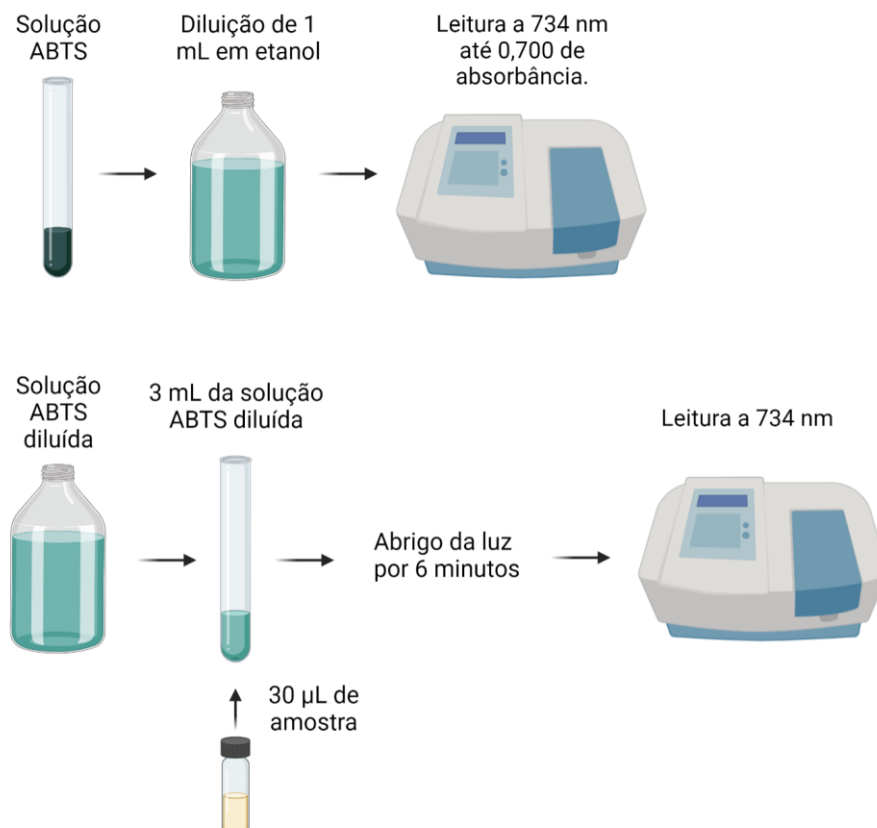
Primeiramente, foram preparadas as soluções de persulfato de potássio 140 mmol L<sup>-1</sup>, e ABTS 7 mmol L<sup>-1</sup>. A solução do radical cátion ABTS foi então obtida com a mistura de 5 mL de solução de ABTS e 88 µL da solução de persulfato de potássio preparadas previamente e misturadas em tubo de ensaio. Essa solução foi

mantida ao abrigo de luz, em temperatura ambiente, durante 16 horas. Posteriormente, diluiu-se 1 mL da mesma em álcool etílico, até alcance de absorvância de 0,70 ( $\pm 0,05$ ) no comprimento de onda de 734 nm.

Com a solução de ABTS pronta, preparou-se também a solução de Trolox 2,0 mmol L<sup>-1</sup> para diluição nas concentrações: 0,1, 0,25, 0,5, 1,0 e 1,5 mmol L<sup>-1</sup> para posterior construção da curva padrão. Após prontas, cada concentração da solução de Trolox seguiu o mesmo procedimento da amostra e leitura em espectrofotômetro.

Para análise da amostra, adicionou-se então, em tubos de ensaio, 30  $\mu$ L de amostra pura juntamente com 3 mL da solução de ABTS diluída em etanol. Os tubos foram agitados e deixados ao abrigo luz por 6 minutos até leitura de absorvância em espectrofotômetro em 734 nm (Figura 10). Como controle utilizou-se água destilada e as análises foram procedidas em triplicata.

Posteriormente os resultados foram expressos em mmol L<sup>-1</sup> de Trolox equivalente L<sup>-1</sup> pela correlação com curva padrão de Trolox nas seguintes concentrações: 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0 mmol L<sup>-1</sup>.



**Figura 10- Esquema da análise antioxidante de captura do radical ABTS.**

Fonte: autoria própria.

## 4.5 Atividade antimicrobiana

As amostras de óleo essencial de *B. dracunculifolia* obtidas pelo método de arraste a vapor foram submetidas à análise de atividade antimicrobiana para verificação de possível inibição de atividade das leveduras *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida tropicalis* ATCC 28707, e atividade contra as bactérias *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pelo protocolo de disco difusão.

Contra as bactérias *Salmonella Gallinarum* ATCC 9184, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella typhimurium* ATCC 0028, pelo protocolo de Concentração Inibitória Mínima, foi avaliada a menor concentração possível do óleo essencial para inibição da atividade antimicrobiana.

Para padronização dos resultados, as técnicas utilizadas foram baseadas no protocolo padrão CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), antigo NCCLS (National Committee For Clinical Laboratory Standards), documentos M02-A11 (Padrões de desempenho para testes em disco de susceptibilidade antimicrobiana), M7-A6 (Metodologia do Teste de Sensibilidade a Agentes Antimicrobianos por Diluição para Bactéria de Crescimento Aeróbico), com algumas modificações. Os microrganismos utilizados no estudo são provenientes da American Type Culture Collection (ATCC®). Ambos os testes foram realizados em triplicata.

### 4.5.1 Disco Difusão

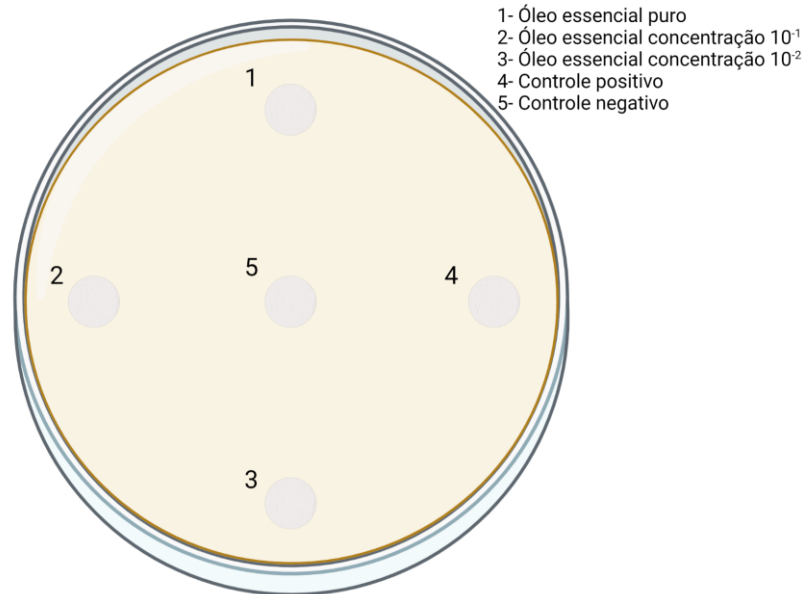
A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi avaliada pelo método de disco difusão em sua aplicação contra os microrganismos anteriormente citados, já em substância biologicamente ativa em meio sólido, e o mesmo microrganismo na substância ativa sem o óleo essencial para fins de comparação de sua zona de crescimento (OSTROSKY et al. 2008).

O óleo essencial foi analisado sem diluição, e nas diluições  $10^{-1}$  (100  $\mu\text{L}$  de óleo, 10  $\mu\text{L}$  de Dimetilsulfóxido (DMSO), 890  $\mu\text{L}$  de solução salina esterilizada) e  $10^{-2}$  (10  $\mu\text{L}$  da solução anterior ( $10^{-1}$ ), 90  $\mu\text{L}$  de solução salina esterilizada) onde assegura-se que em DMSO 10% não ocorre inibição do crescimento dos microrganismos (KARAMAN et al. 2003).

O método seguido foi sugerido por Rabanal et al (2002) e por Karaman et al (2003) com embasamento nos protocolos CLSI (M44-A2; M02-A11) com adaptações, onde as bactérias foram inoculadas por superfície em ágar Mueller Hinton e as leveduras em ágar Sabouraud.

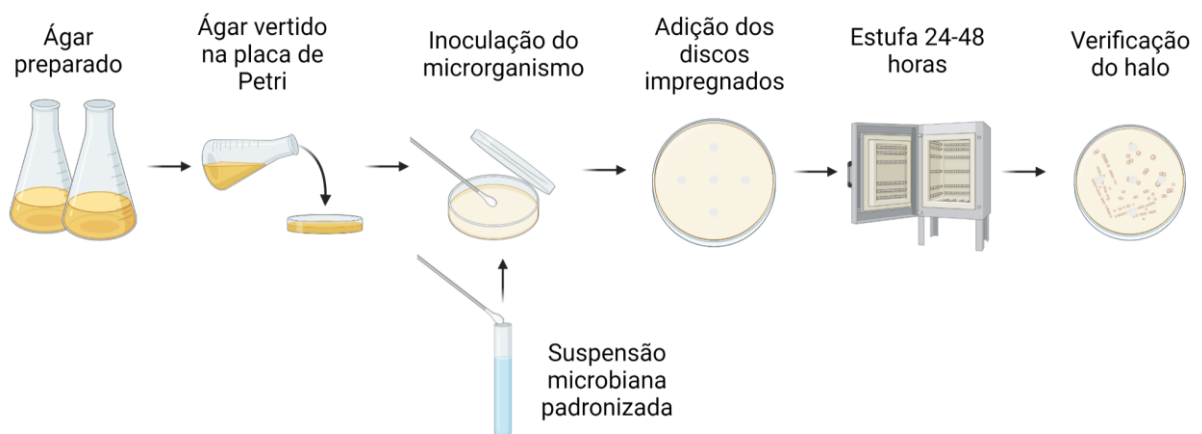
Foram preparados repiques de culturas inoculadas no meio de cultura citado acima e incubadas por 24 h a temperatura de 35 °C, a fim de se obter culturas ativas. Após as 24 h, as cepas foram repicadas para tubo de ensaio contendo solução salina 0,9% esterilizada, até atingir turbidez correspondente à concentração 0,5 da escala McFarland ( $\cong 1,5 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ ). As culturas obtidas foram semeadas em placas de petri contendo o ágar adequado, por meio de um swab, mergulhado no tubo com a suspensão microbiana. Em seguida, 10  $\mu\text{L}$  do óleo essencial puro e suas diluições, foram impregnados em discos testes de 5 mm e colocados sobre o meio de cultura previamente inoculado com as bactérias e leveduras a serem testadas, para avaliação de seu desempenho de atividade inibitória (Figura 11).

Para controle positivo foi preparada uma solução de tetraciclina pesando-se 0,001 g do antimicrobiano, 10  $\mu\text{L}$  de DMSO e 990  $\mu\text{L}$  de solução salina 0,9% esterilizada, obtendo-se uma concentração de 1  $\text{mg mL}^{-1}$ . O controle negativo foi uma solução de dimetilsulfóxido 1%.



**Figura 11- Esquema ilustrativo de placa para análise de disco difusão.**  
Fonte: autoria própria.

Após os procedimentos, as placas foram encaminhadas à estufa microbiológica por 24-48 horas sob temperatura de 35-37 °C e a leitura do halo foi feita, utilizando-se paquímetro, sendo observada a medida a partir da circunferência do disco, até a margem de crescimento do microrganismo. Segundo metodologia de Ostrosky, de acordo com o tamanho do halo classifica-se os microrganismos como sensível, moderadamente sensível e resistente (OSTROSKY et al. 2008).



**Figura 12- Esquema de análise antimicrobiana por disco difusão.**  
Fonte: autoria própria.

#### 4.5.2 Concentração inibitória mínima (CIM)

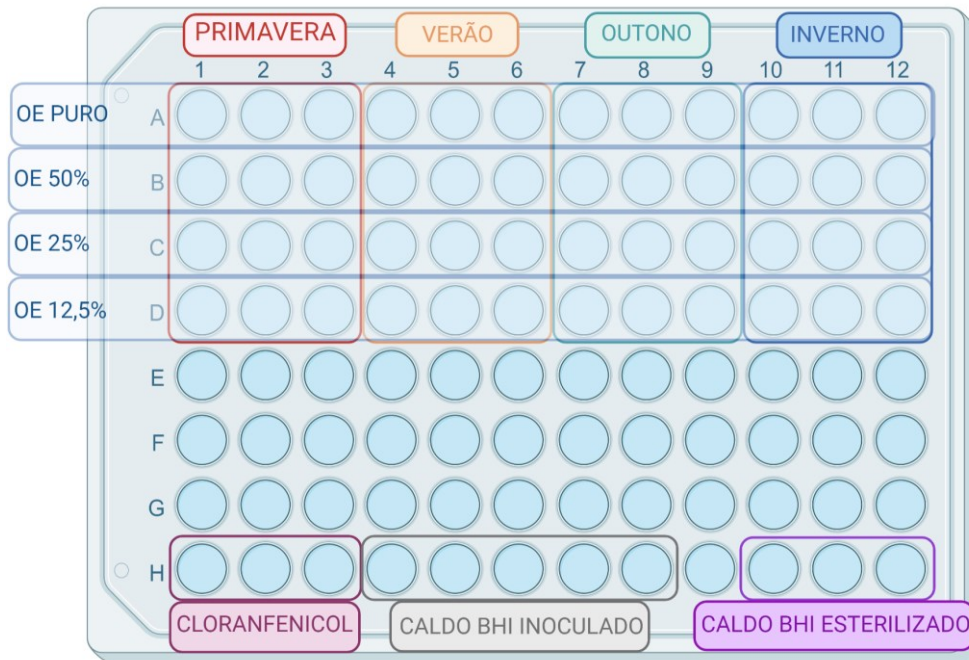
A CIM das amostras de óleo essencial obtidas foi avaliada frente ao OE puro e três diferentes concentrações (50%, 25% e 12,5%). Foram aplicadas para que pudesse ser identificada suas respectivas atividades de inibição, ou seja, quanto menor a diluição que demonstre ausência de crescimento dos microrganismos, menor a CIM do óleo obtido, demonstrando sua efetividade frente ao organismo testado.

A metodologia utilizada foi sugerida por Brandt et al., 2010 e protocolos CLSI (M27-A3; M7-A6).

Inicialmente preparou-se o caldo BHI (caldo infusão cérebro-coração), de acordo com as instruções do fabricante e autoclavou-se juntamente com o material a ser utilizado durante os procedimentos. As concentrações das amostras de OE foram preparadas e, a cultura das bactérias foi padronizada em solução salina estéril, segundo os protocolos onde obteve-se leitura de absorbância de aproximadamente 0,135 a 660 nm.

Foram utilizadas placas de Elisa com 96 poços, compostos de 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Todos os poços receberam 190  $\mu$ L do caldo BHI (já previamente inoculado com 50  $\mu$ L da suspensão de bactérias), foram adicionados 10  $\mu$ L das diluições previamente preparadas e do OE puro.

Como controle positivo foi utilizado cloranfenicol a 0,12% e como controle negativo apenas o caldo BHI sem inoculação do microrganismo. Uma linha da placa de poços foi destinada para os controles onde nos três primeiros poços foi adicionado o caldo inoculado e cloranfenicol, os cinco próximos poços receberam apenas o caldo inoculado e os três últimos poços receberam o caldo sem microrganismo. Um esquema da placa é ilustrado na Figura 13.

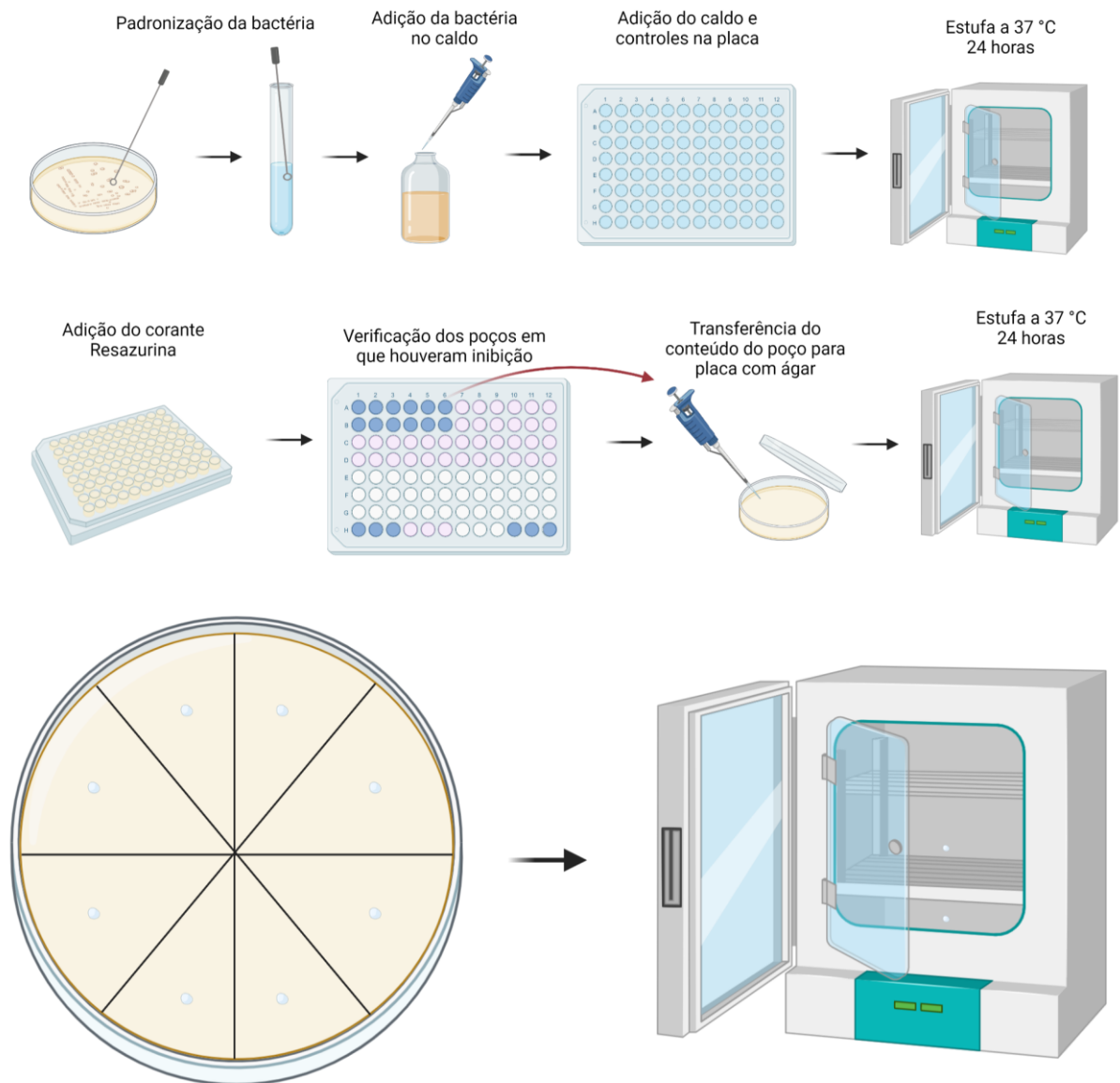


**Figura 13- Esquema ilustrativo do conteúdo adicionado às placas de 96 poços.**  
Fonte: autoria própria.

As placas foram mantidas em estufa microbiológica por um período de 24 horas à temperatura de 35-37 °C. Posteriormente foram acrescentados aos poços, 30 µL do corante resazurina a 0,01 % para verificação de coloração dos poços.

Os poços que apresentaram coloração rosa, indicam acidificação do meio de cultura, ou seja, presença de células viáveis e falta de ação do OE no crescimento das bactérias. Quando mantiveram a coloração azul, identifica-se a ausência de células viáveis e ação do OE contra o crescimento bacteriano. 10 µL do conteúdo presente em cada um destes últimos poços, foi transferido para placas de petri contendo ágar nutriente, para verificação de potencial atividade bactericida e as placas foram mantidas em estufa por 24 horas. Um esquema de todos os passos é ilustrado na Figura 14.





**Figura 14- Esquema ilustrativo da análise de CIM e CBM.**

Fonte: autoria própria.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Rendimento

O rendimento do OE obtido de plantas coletadas sazonalmente foi avaliado pelo método de hidrodestilação para avaliação mais exata de sua quantidade. Os dados foram obtidos de um trabalho de conclusão de curso em andamento na UTFPR-Pato Branco. O cálculo do rendimento foi feito seguindo a equação abaixo, onde R = o rendimento obtido em porcentagem, V = volume de óleo obtido em mL, mi = massa seca do material vegetal.

$$R = \frac{V}{m_i} \times 100$$

A partir do cálculo do rendimento na obtenção de óleo essencial, da parte aérea de *B. dracunculifolia*, por meio de hidrodestilação em diferentes estações do ano, foram obtidos os valores médios relatados na Tabela 1. Os dados

**Tabela 1-** Rendimento médio de obtenção de óleo essencial por hidrodestilação, da parte aérea de *B. dracunculifolia*, coletadas em diferentes estações do ano.

Estação	Rendimento médio (%)
Outono	0,694% ± 0,48
Verão	0,830% ± 0,83
Inverno	0,583% ± 0,12
Primavera	0,722% ± 0,19

Os valores de rendimento obtidos neste estudo foram condizentes com os valores reportados por Agostini et al. (2005), para outras espécies do gênero *Baccharis*, que variaram de 0,1 a 0,5%.

Utilizando a mesma espécie e metodologia deste trabalho, Rodrigues et al., 2019, obtiveram rendimento semelhante, 0,8% e, em estudo sobre adubação orgânica na produtividade de óleos essenciais, Santos et al. (2011) obtiveram rendimento de 0,38% para *B. dracunculifolia*.

Segundo esses resultados (Tabela 1), a melhor época para coleta e obtenção do óleo essencial de *B. dracunculifolia*, nesta região (Pato Branco- PR), é o verão, com rendimento médio de 0,83%.

## 5.2 Identificação dos compostos

Foram identificados 57 componentes nos óleos essenciais obtidos ao longo do ano (Tabela 2), sendo nove deles presentes nas 4 amostras de OE analisadas:  $\beta$ -Pineno, Limoneno, *E*-Cariofileno, Aromadendreno,  $\gamma$ -Cadineno, *E*-Nerolidol, Espatuleno, Globulol e  $\alpha$ -Cadinol.

**Tabela 2-** Metabólitos voláteis obtidos por arraste a vapor da parte aérea de *B. dracunculifolia* coletados de forma sazonal.

Componentes	IRL	OEP	OEV	OEO	OEI
		IRC (%)	IRC (%)	IRC (%)	IRC (%)
Monoterpenos Hidrocarbonetos		17,53	1,93	4,49	3,02
(2 <i>E</i> )-Hexenal	846	849 (0,93)	-	-	-
Acetato de isopentenila	869	871 (1,94)	-	-	-
Pent-4-enoato de etila	884	886 (1,77)	-	-	-
(4 <i>Z</i> )-Heptenal	893	900 (0,69)	-	-	-
<i>n</i> -Nonano	900	906 (3,25)	-	-	-
$\alpha$ -Pineno	932	-	-	933 (0,31)	931 (0,31)
(2 <i>E</i> )-Heptenal	947	939 (1,69)	-	-	-
(3 <i>Z</i> )-Heptenol	947	947 (1,20)	-	-	-
$\beta$ -Pineno	979	979 (2,99)	969 (0,68)	978 (1,53)	976 (1,84)
Mirceno	988	-	-	989 (0,21)	988 (0,15)
<i>m</i> -Menta-1(7),8-dieno	1000	1003 (1,99)	-	-	-
Limoneno	1024	1029 (1,08)	1030 (1,25)	1030 (2,44)	1028 (0,72)
Sesquiterpenos hidrocarbonetos		12,96	19,85	27,7	12,06
$\alpha$ -Ylangeno	1373	-	-	1377 (0,18)	-
$\beta$ -Bourboneno	1387	-	-	1385 (0,15)	-
$\beta$ -Cubebeno	1387	-	-	1389 (0,25)	-

$\beta$ -Elemeno	1389	-	-	1391 (0,35)	-
<i>E</i> -Cariofileno	1417	1417 (2,61)	1421 (2,75)	1421 (4,33)	1412 (2,69)
$\beta$ -Gurjuneno	1431	-	-	1432 (0,18)	-
Aromadendreno	1439	1439 (1,45)	1441 (1,07)	1441 (1,08)	1431 (0,49)
$\alpha$ -Humuleno	1452	-	1457 (0,56)	-	1448 (0,59)
<i>allo</i> -Aromadendreno	1458		1460 (0,36)	-	-
<i>E</i> -Cadina-1(6),4-dieno	1475	-	1477 (0,45)	1483 (6,65)	-
$\gamma$ -Muuroleno	1478	1478 (3,14)	1483 (3,76)	1478 (0,34)	-
D-germacreno	1481	-	-	-	1473 (7,00)
<i>cis</i> - $\beta$ -Guaieno	1492	-	1494 (0,66)	-	-
$\gamma$ -Amorfeno	1495	-	-	1494 (0,60)	-
Biciclogermacreno	1500	1500 (3,32)	1498 (6,22)	1498 (10,33)	-
$\alpha$ -Muuroleno	1500	-	-	1501 (0,40)	1491 (0,54)
Cupareno	1504	-	1506 (0,71)	-	-
$\gamma$ -Cadineno	1513	1522 (2,44)	1516 (0,88)	1515 (0,60)	1504 (0,75)
$\delta$ -Cadineno	1522	-	1521 (2,43)	1521 (2,25)	-
<b>Sesquiterpenos oxigenados</b>		<b>60,22</b>	<b>59,95</b>	<b>47,42</b>	<b>59,97</b>
<i>E</i> -Nerolidol	1561	1561 (20,07)	1566 (22,06)	1565 (14,99)	1555 (16,52)
Palustrol	1567	-	1574 (0,63)	1574 (0,61)	-
Espatuleno	1577	1577 (18,40)	1584 (22,32)	1583 (17,56)	1568 (20,95)
Óxido de Cariofileno	1582	-	-	1586 (0,84)	1572 (1,27)
<i>allo</i> -Cedrol	1589	1586 (1,59)	-	-	-
Globulol	1590	1598 (4,63)	1600 (3,84)	1599 (3,47)	1585 (7,98)
Ledol	1602	1608	-	-	-

		(2,05)			
Junenol	1618	-	1614 (0,62)	-	-
Isolongifolan-7- $\alpha$ -ol	1618	1618 (0,62)	-	-	-
1,10-di- <i>epi</i> -Cubenol	1618		-	-	1619 (0,76)
1- <i>epi</i> -Cubenol	1627	-	1632 (0,73)	1632 (0,52)	-
$\alpha$ -Acorenol	1632	-	-	1639 (1,38)	-
(Z)-Cadin-4-en-7-ol	1635	1636 (1,27)	-	-	-
<i>epi</i> - $\alpha$ -Cadinol	1638	1646 (0,90)	-	-	1633 (2,00)
Cariofilo-4(12),8(13)-dien-5 $\alpha$ -ol	1639	-	1643 (0,41)	1643 (0,40)	-
<i>epi</i> - $\alpha$ -Muurolol	1640	-	-	1649 (0,40)	1635 (0,96)
$\alpha$ -Muurolol	1644	-	1647 (0,60)	-	1638 (1,15)
Cubenol	1645	1650 (1,05)	1652 (1,00)	-	-
$\alpha$ -Cadinol	1652	1658 (3,93)	1661 (2,23)	1661 (2,79)	1647 (4,49)
14-hidróxi-9- <i>epi</i> ( <i>E</i> )-Cariofileno	1668	1672 (1,03)	-	-	-
Acetato de elemol	1680	1678 (0,64)	-	-	-
Óxido A-bisabolona	1684	1681 (1,31)	-	-	-
Germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- $\alpha$ -ol	1685	1688 (2,73)	1690 (2,96)	1690 (2,25)	-
Shyobunol	1688	-	-	-	1684 (2,18)
(2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> )-Farnesal	1713	-	1718 (1,82)	1718 (1,54)	1707 (1,11)
Isobyciclogermacrenal	1733	-	1738 (0,73)	1737 (0,67)	1723 (0,60)

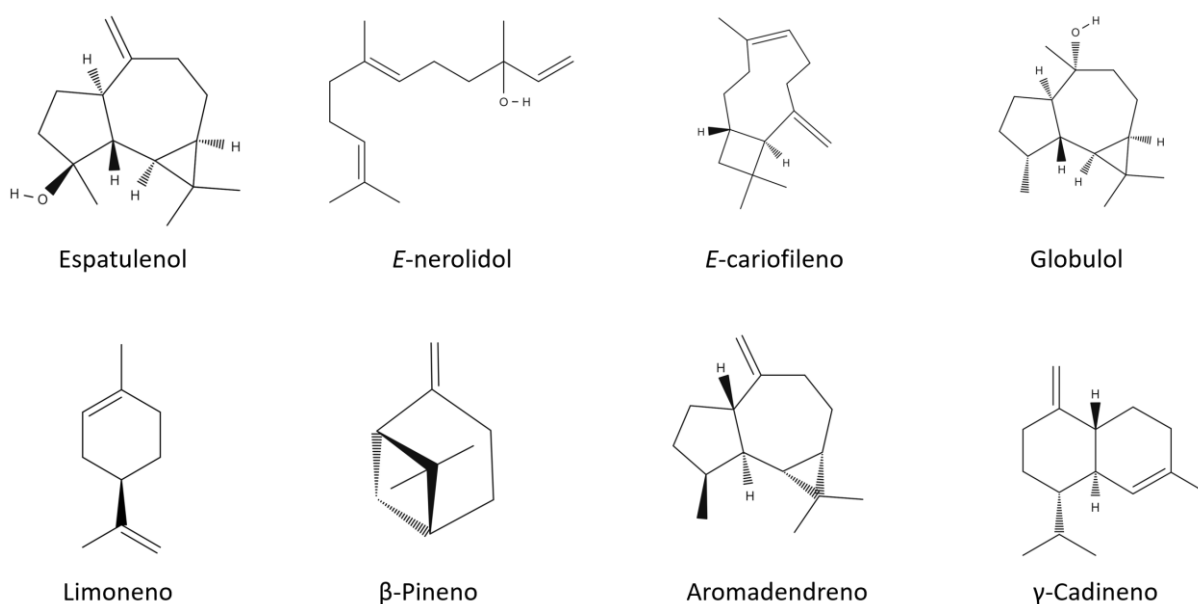
IRL: índice de retenção na literatura. IRC: índice de retenção calculado. OEP: óleo essencial de primavera. OEV: óleo essencial de verão. OEO: óleo essencial de outono. OEI: óleo essencial de inverno.

A grande maioria dos componentes identificados nas amostras de primavera, verão, outono e inverno de OE são sesquiterpenos oxigenados, 60,22, 59,95, 47,42 e 59,97% respectivamente. As moléculas de *E*-nerolidol e espatulenol foram

identificadas como componentes majoritários nas amostras de OE de primavera (20,07% e 18,40%), verão (22,06% e 22,32%), outono (14,99% e 17,56%) e inverno (16,52% e 20,95%), esses resultados estão de acordo com estudo realizado por Sousa (2007). Nas amostras de OE de primavera, verão e outono observou-se a presença do componente biciclogermacreno com altas porcentagens relativas, 3,32%, 6,22% e 10,33% respectivamente, condizentes com valores observados por Rockenbach (2021). O sesquiterpeno  $\gamma$ -Cadineno foi identificado nas amostras de OEP (2,44%), OEV (0,88%), OEO (0,60%) e OEI (0,75%) em quantidades similares às observadas por Rockenbach (2021). Ainda estando de acordo com esse estudo, o  $\alpha$ -Humuleno e o *E*-Cariofileno, foram identificados nas amostras de OEV (0,56% e 2,75%), OEO (0,68% e 4,33%) e OEI (0,59% e 2,69%), sendo o *E*-Cariofileno também identificado na amostra de OEP com 2,61%, sendo mais um composto em comum entre todas as amostras. O sesquiterpeno *E*-Cariofileno também foi observado por Santos et al. (2012) em quantidades similares. O componente Globulol, foi identificado nas amostras de OEP, OEV, OEO e OEI, chegando a 7,53% da composição, nesta última. Salazar et al. (2018) também observaram tal componente químico no OE de *B. dracunculifolia* coletada na Floresta Atlântica do Paraná.

As amostras de óleo essencial obtidas de plantas coletadas na Primavera apresentaram perfil químico um pouco diferente das amostras coletadas nas demais estações. Confirmando esta diferença, a concentração de monoterpenos hidrocarbonetos, 17,53% nas amostras de Primavera e 1,93%, 4,49% e 3,02% nas amostras de verão, outono e inverno, respectivamente. Dentre os monoterpenos hydrogenados, o componente  $\beta$ -Pineno foi observado nas amostras correspondentes às estações de primavera, verão, outono e inverno, sendo que na Primavera o  $\beta$ -Pineno teve porcentagem significativa de 2,99%. Já o Limoneno foi obtido nas amostras referentes às quatro estações, estando presente em maior quantidade nas amostras OEO (2,44%). O Limoneno foi anteriormente identificado por Belini (2015), em amostras de OE de *B. dracunculifolia* obtidos em dois anos consecutivos. O monoterpeno Mirceno foi identificado nas amostras de OEO e OEI, e foi identificado também em amostras de *B. dracunculifolia* por Santos et al. (2012). Em seu trabalho, Santos et al. (2012) também identificou  $\beta$ -Pineno e Limoneno.

Os componentes majoritários e comuns às quatro amostras, estão ilustrados na Figura 15.



**Figura 15- Principais metabólitos secundários, identificados em todas as amostras de OE obtidas.**

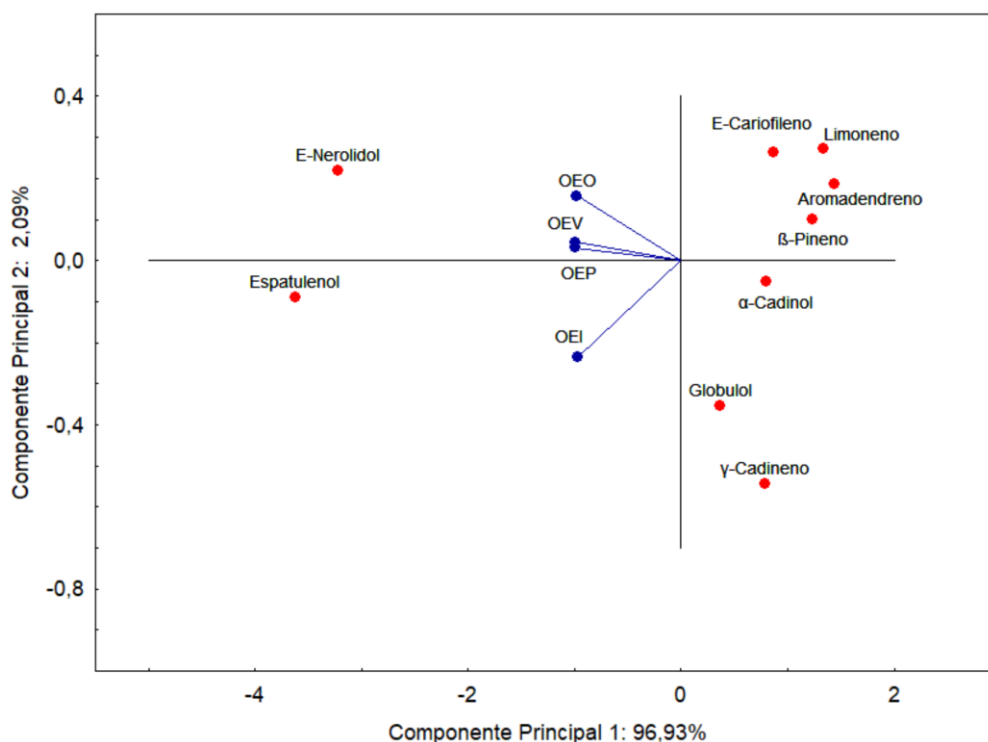
Fonte: autoria própria.

O metabólito espatulenol já possui estudos relatando atividade contra bactérias e também atividade citotóxica moderada (Limberger et al., 2004). O sesquiterpeno *E*-nerolidol é um agente flavorizante de alimentos, com ação inibidora do crescimento do agente causador da malária e também do agente causador da leishmaniose tegumentar americana (Arruda et al., 2005; Macedo et al., 2002) apud (Santos et al., 2012).

Globulol possui estudos relatando atividade antimicrobiana frente à *Xanthomonas vesicatoria* e *Bacillus subtilis* (Tan et al., 2008). Em estudo publicado por Salgado (2003), ação fungitóxica de OE de *E. urophylla* contra as espécies de fungo *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana* foi atribuída ao Globulol.

### 5.3 Análise de componente principal

A Figura 16 apresenta o gráfico de escores dos principais componentes juntamente com o peso das variáveis.



**Figura 16- Gráfico de peso das variáveis e escores dos componentes.**  
Fonte: autoria própria.

Os compostos utilizados na análise foram os majoritários e comum entre as quatro amostras. O componente principal 1 representa 96,93% da variância dos dados e o componente principal 2 representa 2,09%, totalizando 99,02% do total da variância dos dados apresentados.

Observa-se que todas as amostras de OE estão fortemente correlacionadas aos compostos *E*-nerolidol e Espatuleno, confirmando a identificação desses compostos como majoritários. OEI está correlacionado aos maiores valores nos compostos  $\alpha$ -Cadinol, Globulol e  $\gamma$ -Cadineno. OEO está fortemente correlacionado aos maiores valores de *E*-cariofileno e Limoneno. OEP e OEV estão em posições similares e correlacionados a valores altos de *E*-nerolidol, e valores medianos dos componentes situados à direita do gráfico.

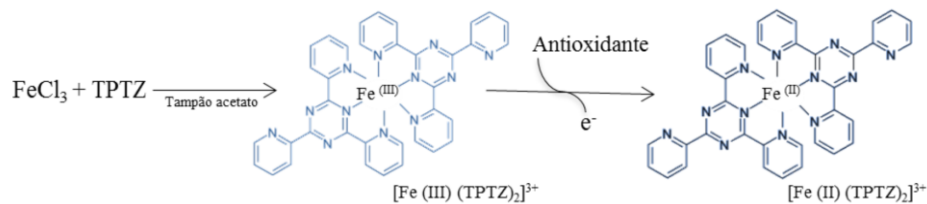
Com os resultados gráficos obtidos, confirma-se a predominância dos componentes majoritários Espatuleno e *E*-nerolidol, seguidos de Globulol.

#### 5.4 Atividade Antioxidante



### 5.4.1 FRAP

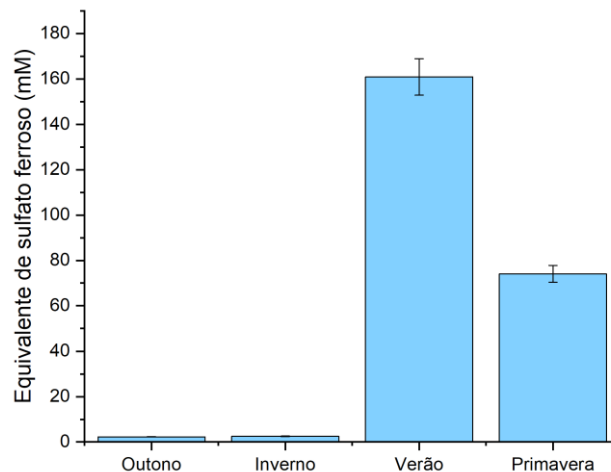
Segundo Pulido et al. (2000) e Huang et al. (2012), o método de avaliação do Poder Antioxidante de Redução do Ferro (FRAP) é uma das alternativas de estudo de poder antioxidante do ferro em fluidos biológicos e soluções aquosas, por método colorimétrico, onde há a formação de Fe (II)-tripiridiltriazina (coloração azul) a partir de Fe (III) incolor e antioxidantes doadores de elétrons, podendo quantificar a atividade por espectrofotômetro. A Figura 17 demonstra a reação de redução do Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> presente no complexo TPTZ.



**Figura 17- Reação de redução do ferro pelo antioxidante.**

Fonte: Urrea-Victoria et al., (2016).

O potencial antioxidante dos óleos essenciais expresso como a capacidade de redução do ferro III (FRAP) está demonstrado na Figura 18.



**Figura 18- Poder antioxidante redutor do íon férrico das amostras de óleo de *B. dracunculifolia* extraídas em diferentes períodos no ano.**

Fonte: autoria própria.

Conforme pode ser verificado na Figura 18, o período de coleta do óleo demonstrou ter grande influência sobre a capacidade de redução do íon férrico pelo

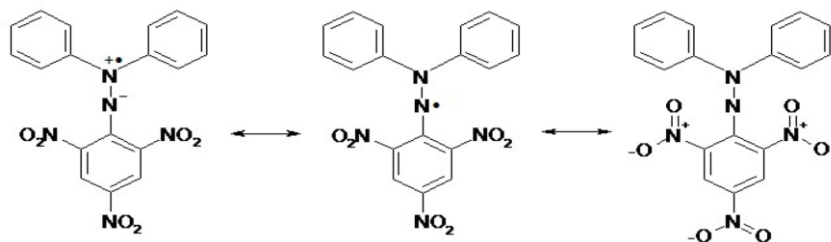
óleo de *B. dracunculifolia*. Amostras coletadas no outono e no inverno apresentaram baixo potencial de redução do íon férrico, com valores de 2,24 e 2,5 mmol de sulfato ferroso equivalente/L, respectivamente. Por outro lado, os óleos extraídos de plantas coletadas na primavera apresentaram um poder redutor do íon férrico de 74,08 mmol L<sup>-1</sup>. Na estação de verão tal atividade foi potencializada 86,5% comprada a primavera, sendo observada uma atividade de redução do íon férrico de 160,60 mmol L<sup>-1</sup>.

Oliveira et al. (2019) utilizando OE de *B. oreophila* extraído na estação de inverno, reportaram resultados de atividade frente ao radical FRAP de 0,409 mmol equivalente de sulfato ferroso por mL de OE. Casagrande (2019), em estudo com extratos de *B. dracunculifolia* obteve valores entre 0,308 e 0,704 mmol equivalente de sulfato ferroso por grama de material.

Não foram encontrados estudos na literatura científica com dados relativos a análise antioxidante pelo método FRAP utilizando OE de *B. dracunculifolia*. Iurckevicz et al. (2021) avaliaram o poder redutor antioxidante do íon férrico em extrato metanólico de folhas de *B. dracunculifolia* e reportaram valores relativamente baixos (1,58 de de sulfato ferroso mmol/g).

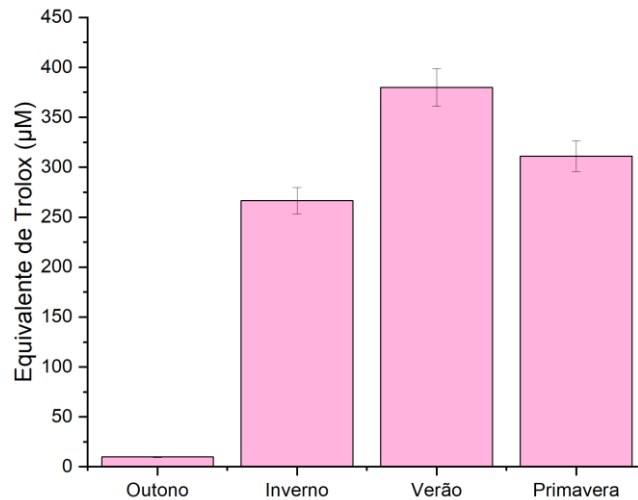
#### 5.4.2 Atividade de captura do radical DPPH

O DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é um radical estável, de coloração violeta devido a deslocalização de um elétron que impede a dimerização da molécula. Quando misturado com uma substância capaz de doar elétrons e assim reduzir o radical, ele perde sua coloração (MOLYNEUX et al., 2004). A Figura 19 demonstra a estabilização do radical DPPH• pelo deslocamento do elétron desemparelhado.



**Figura 19- Estabilização do radical DPPH.**  
Fonte: Oliveira (2015).

Os resultados obtidos para as amostras de OE são descritos na Figura 20.



**Figura 20- Poder antioxidante de captura do radical DPPH das amostras de óleo de *B. dracunculifolia* extraídas em diferentes períodos no ano.**

Fonte: autoria própria.

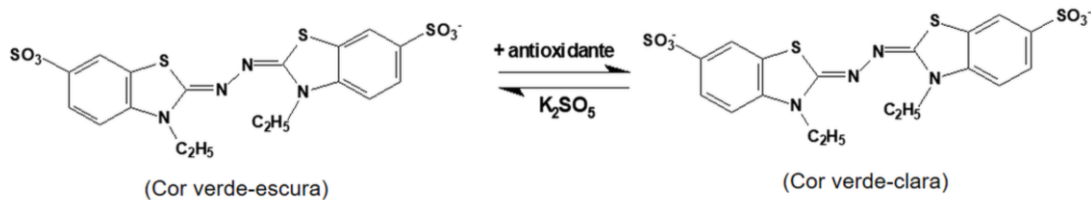
Similarmente ao observado em relação ao poder redutor do íon férrico, a estação de coleta da planta também influenciou na capacidade de eliminação do radical DPPH pelo óleo extraído. Baixa atividade de eliminação do radical DPPH foi verificada nos óleos obtidos de plantas coletadas no outono (9,87 µmol TE/L). Valores maiores foram encontrados em óleos extraídos no inverno (266,53 µmol de Trolox equivalente por L) e na primavera (311,20 µmol TE/L), e no verão a capacidade de eliminação do radical DPPH alcançou o maior valor (379,86 µmol TE/L).

Estudos anteriores demonstraram baixa ou nenhuma atividade antioxidante para OE de *B. dracunculifolia* frente ao radical DPPH. Em um estudo publicado por Miranda, et al. (2016), o OE de *B. dracunculifolia* ao reportarem valores de IC<sub>50</sub>, o OE não apresentou atividade de captura do radical DPPH em concentrações de 250 µg mL<sup>-1</sup>. Em estudo feito por Luchesi et al. (2020), o valor encontrado foi 12,08 µmol de Trolox por mL do OE testado. Já Paroul et al. (2016), avaliando o potencial de captura do radical DPPH e expressando os resultados como IC<sub>50</sub>, reportaram valores de 3,521 mg mL<sup>-1</sup> de OE.

Os baixos valores de atividade antioxidante frente ao radical DPPH podem ser explicados pela presença de moléculas sem átomos de hidrogênio nas posições alílica e/ou benzílica (Ruberto & Baratta, 2000). Estudo publicado por Tomazzoli et al. (2021) relata uma correlação negativa entre atividade antioxidante frente ao radical DPPH em OE de *B. dracunculifolia* e a presença do componente espatulenol.

### 5.4.3 ABTS

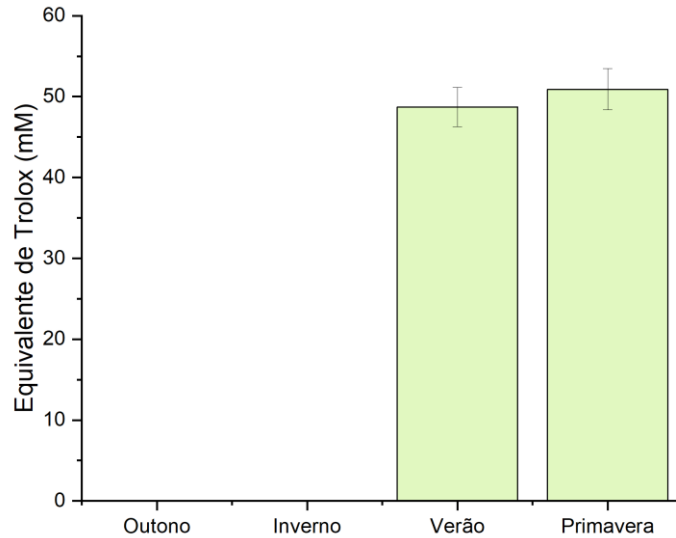
A espécie química  $ABTS^{\bullet+}$  é produzida a partir de um precursor, o ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico (Miller et al., 1993). É um composto altamente solúvel em água e cromóforo quimicamente estável. O método de análise antioxidante a partir deste radical se dá pela capacidade do componente antioxidante em capturar o cátion  $ABTS^{\bullet+}$ , causando um decréscimo em sua absorbância em diferentes tempos (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2006). A Figura 21 contém ilustração da estabilização do radical por ação antioxidante.



**Figura 21- Estabilização do radical  $ABTS^{\bullet+}$  por ação antioxidante.**

Fonte: adaptado de Rufino et al., 2007.

Os valores obtidos para as amostras analisadas estão descritos na Figura 22.



**Figura 22- Atividade de captura do radical cátion ABTS.**  
Fonte: autoria própria.

Os óleos extraídos no outono e inverno não apresentaram potencial de captura do radical ABTS. No entanto, nas estações de verão e primavera foram encontrados valores de 48,72 e 50,91 mmol TE/L, respectivamente

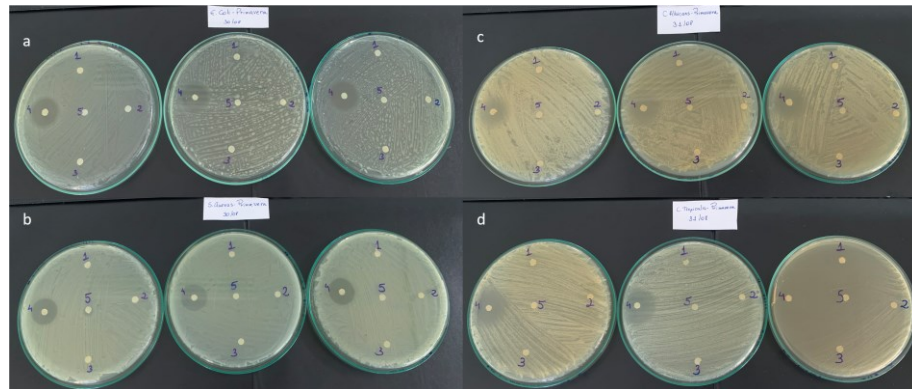
Baixos valores de atividade de captura do radical ABTS por óleos extraídos de *B. oreophila* tem sido descrito na literatura científica. Em estudo publicado por Oliveira, et al. (2019), OE de *B. oreophila* apresentaram resultados de atividade frente ao radical ABTS de 0,145 mmol de Trolox equivalente por 100 mL de OE. Já em estudo realizado por Della Torre (2018), o OE obtido de *B. trimera* apresentou atividade antioxidante frente ao radical ABTS de 0,020 mg de Trolox equivalente por grama de amostra.

Os resultados podem, em parte, serem explicados pela limitação da técnica em avaliar a capacidade de sequestrar radicais livres de nitrogênio. Porém, na maioria dos sistemas biológicos as espécies reativas de oxigênio são as mais frequentes (Apak et al., 2016).

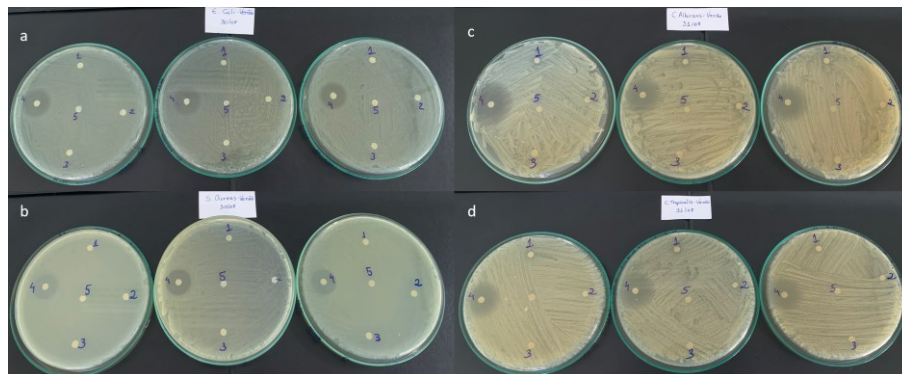
## 5.5 Atividade Antimicrobiana

### 5.5.1 Disco Difusão

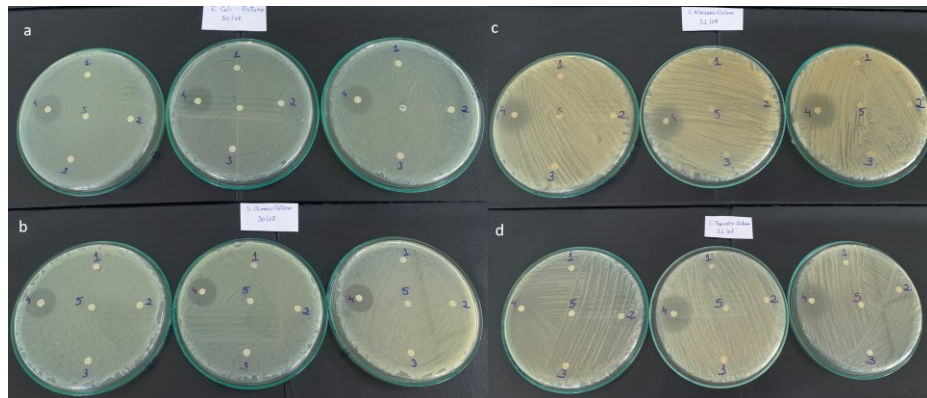
Seguindo o protocolo de análise de atividade antimicrobiana utilizando discos impregnados de óleo essencial sobre placa contendo microrganismos em superfície, os seguintes resultados foram obtidos.



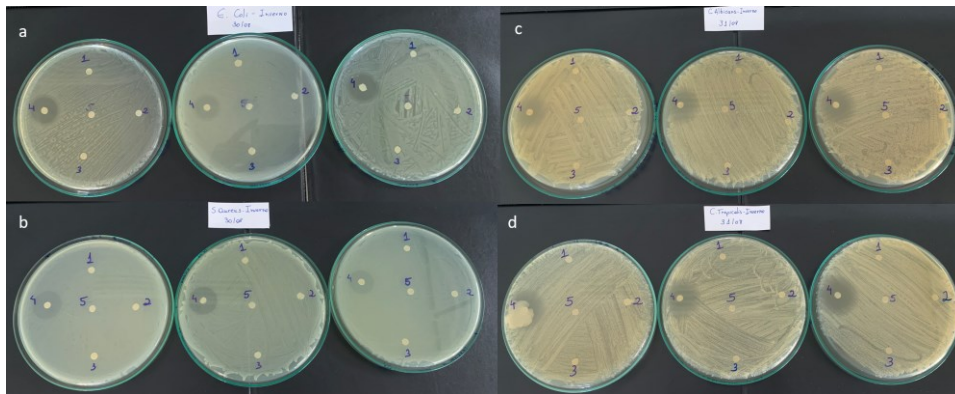
**Figura 23- Resultados do método disco difusão para o OEP em *E. coli* (a) *S. aureus* (b) *C. albicans* (c) e *C. tropicalis* (d).**  
Fonte: autoria própria.



**Figura 24- Resultados do método disco difusão para o OEV em *E. coli* (a) *S. aureus* (b) *C. albicans* (c) e *C. tropicalis* (d).**  
Fonte: autoria própria.



**Figura 25- Resultados do método disco difusão para o OEO em *E. coli* (a) *S. aureus* (b) *C. albicans* (c) e *C. tropicalis* (d).**  
Fonte: autoria própria.



**Figura 26- Resultados do método disco difusão para o OEI em *E. coli* (a) *S. aureus* (b) *C. albicans* (c) e *C. tropicalis* (d).**  
Fonte: autoria própria.

Nenhuma concentração de óleo essencial em nenhuma das estações analisadas apresentou inibição de atividade frente as bactérias *S. aureus* ATCC 25923 e *E. coli* ATCC 25922 e as leveduras *C. albicans* ATCC 10231 e *C. tropicalis* ATCC 28707 testados nesta metodologia. O método foi validado por apresentar formação de halo, no disco correspondente a tetraciclina e ao fluconazol, os controles positivos, e por não apresentar formação de halo no disco correspondente ao DMSO (controle negativo).

Utilizando a mesma metodologia, Ferronato et al. (2007) utilizando OE puro de *B. dracunculifolia*, observaram atividade inibitória de crescimento frente à *Escherichia coli* ATCC 25922 (halo de 18, 92 mm) e *Staphylococcus aureus* ATCC

25923 (halo de 14,63 mm) em 10 µL de OE. Também frente a estas duas bactérias, Dambros Filho et al. (2021) relataram resultados positivos de atividade inibitória de crescimento, com halo de 13 mm correspondente ao OE em concentração 1:1 frente a *S. aureus*. Já Costa (2016) obteve valores mais altos de halo para a espécie *S. aureus* ATCC 29213, de 22,3 e 20,6 mm.

Gelinski et al. (2007) não observaram a presença de halo de inibição frente a *S. aureus* ATCC 25923, porém relataram a formação de halo de, em média 12 mm, frente a *E. coli*.

Em trabalho realizado por Piantino (2008), onde foi feita a extração de compostos fenólicos de alecrim do campo com dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) supercrítico e posterior teste de atividade contra o crescimento de *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*, relatou que os extratos supercríticos e alcoólicos, apresentaram halo apenas contra *S. aureus* (9 mm). Frente a *C. albicans* e *E. coli* não houve atividade.

Pode-se atribuir a limitação da técnica ao fato de que o papel filtro utilizado, que possui em sua composição celulose, contém moléculas de água adsorvidas em sua estrutura e assim restringe o espalhamento do OE em sua superfície, influenciando na quantidade de OE que entra em contato com o microrganismo. A partir dessa observação, novos testes microbiológicos foram feitos, utilizando outra metodologia, a concentração inibitória de atividade mínima.

### 5.5.2 Concentração Inibitória Mínima

Os resultados de concentração inibitória de atividade mínima podem ser observados na Figura 27.



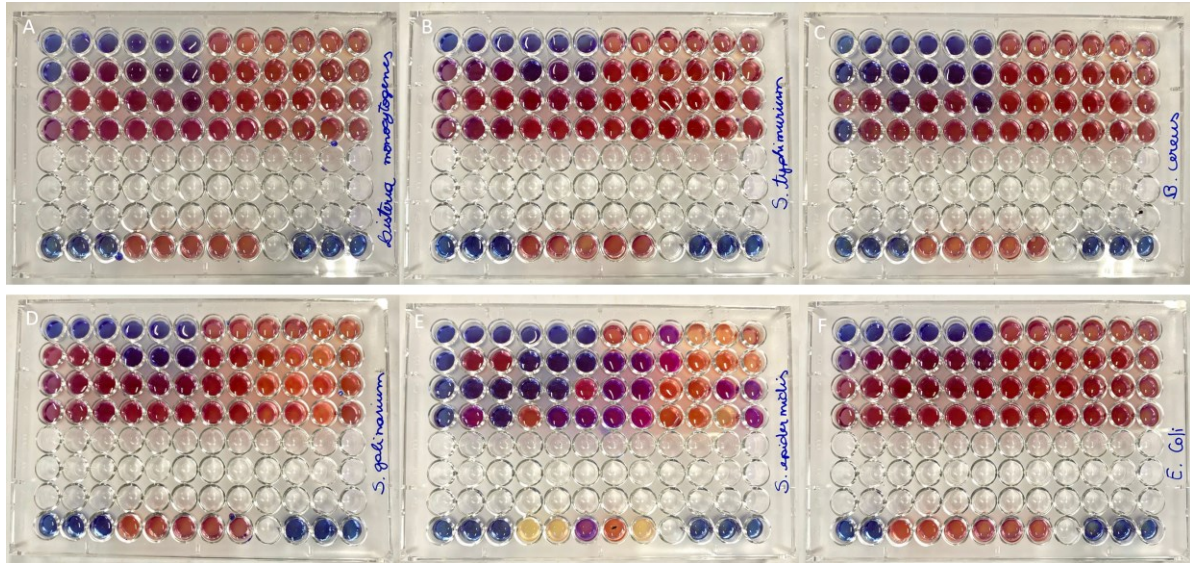


Figura 27- Placas de poços para análise de inibição de crescimento de *L. monocytogenes* (A), *S. typhimurium* (B), *B. cereus* (C), *S. gallinarum* (D), *S. epidermidis* (E) e *E. coli* (F).

Fonte: autoria própria.

Para as bactérias *L. monocytogenes* ATCC 19111 e *E. coli* ATCC 25922, somente o OE de primavera e verão a 100% demonstraram atividade contra o crescimento do microrganismo. Para *S. typhimurium* ATCC 0028, e *S. gallinarum* ATCC 9148, o OE de primavera e verão a 100% apresentaram resultado positivo ao inibir crescimento das bactérias, bem como a concentração de 50% do OE de verão. Em relação à bactéria *B. cereus* ATCC 10876, tanto o OE puro de primavera e verão, quanto na concentração de 50%, ambos tiveram atividade inibitória de crescimento do microrganismo. Para *S. epidermidis* ATCC 12228, as amostras de OE puros de primavera e verão apresentaram atividade inibitória de crescimento e as concentrações de 50% no OE de verão, de 25% nas amostras de OE de primavera e de verão e OE de primavera, também na concentração 12,5%. Os resultados quantitativos estão expressos na Tabela 3.

**Tabela 3-** Resultados de Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima.

OE	<i>S. epidermidis</i>		<i>S. gallinarum</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>	
	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CIM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	CBM ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
OEP	6,25	50	50	50	50	>50	50	>50	50	>50	25	>50

OEV	12,5	>50	25	>50	25	>50	50	>50	50	>50	25	>50
OEO	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50
OEI	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50	>50

Salazar et al. (2018) demonstraram em seu estudo CIM de  $102 \mu\text{g mL}^{-1}$  do OE de *B. dracunculifolia* contra cepa de *S. aureus* ATCC 25923. No mesmo estudo, contra a bactéria *E. coli* a concentração mínima necessária foi  $\geq 1024 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Cazella et al. (2019) apresentaram resultados de  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  e  $6320 \mu\text{g mL}^{-1}$  de OE necessários para inibição do crescimento de *S. aureus* ATCC 6538 e *E. coli* ATCC 35218, respectivamente. No mesmo trabalho, contra a bactéria *B. cereus* (isolado clinicamente), a CIM foi de  $1100 \mu\text{g mL}^{-1}$  e contra *L. monocytogenes* (NCTC 7973) foram necessários  $12650 \mu\text{g mL}^{-1}$  para inibição de seu crescimento.

Bonin et al. (2020), em estudo com extratos de *B. dracunculifolia* obtiveram resultados de MIC de  $125 \mu\text{g mL}^{-1}$  contra *S. aureus* ATCC 25923 e  $250 \mu\text{g mL}^{-1}$  contra *B. cereus* ATCC 11778.

Não foram encontrados na literatura estudos sobre concentração inibitória mínima de OE de *B. dracunculifolia* contra as bactérias *S. typhimurium*, *S. epidermidis* e *S. galinarum*.

Em comparação com os estudos já publicados, os resultados obtidos demonstram grande potencial de inibição do crescimento bacteriano tanto em bactérias gram-positivas quanto gram-negativas em concentrações menores, aumentando seu escopo de potencial uso antimicrobiano.

### 5.5.3 Avaliação de atividade bactericida

Os óleos essenciais que apresentaram atividade inibitória de crescimento bacteriano foram testados para potencial atividade bactericida. Os resultados estão ilustrados na Figura 28.

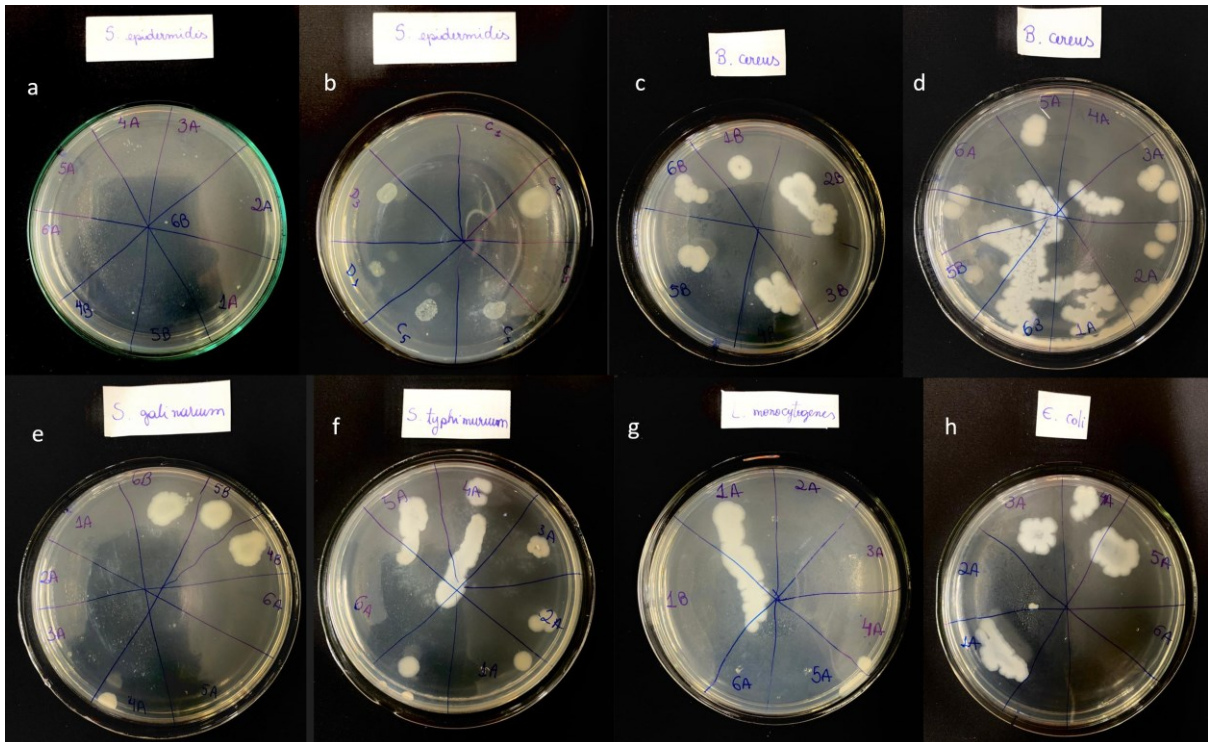


Figura 28- Resultados em placa de avaliação de atividade bactericida contra *S. epidermidis* (a e b), *B. cereus* (c e d), *S.gallinarum* (e), *S. typhimurium* (f), *L. monocytogenes* (g) e *E. coli* (h).  
Fonte: autoria própria.

O OE puro da estação de primavera obteve resultado de atividade bactericida contra *S. gallinarum* e *S. epidermidis*. Frente as bactérias *S. epidermidis*, *S. typhimurium*, *B. cereus*, *L. monocytogenes* e *E. coli*, os OE puros de verão e suas concentrações obtiveram apenas atividade bacteriostática. A Tabela 3 acima demonstra os resultados quantitativos para a concentração bactericida mínima (CBM).

Em seu estudo, Cazella et al. (2019) obtiveram resultado de CBM de 1500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para *B. cereus*, 8430  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para *E. coli*, 16870  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para *L. monocytogenes* e 2100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para *S. aureus* (ATCCs citados no item anterior).

Bonin et al. (2020) encontraram valores de CBM 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para a cepa de *S. aureus* e 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para *B. cereus* em estudo com extratos hidroalcoolicos de *B. dracunculifolia*.

Não foram encontrados em literaturas anteriores estudo de concentração bactericida mínima com OE de *B. dracunculifolia* frente as bactérias *S. typhimurium*, *S. epidermidis* e *S. gallinarum*.

Parte dos altos valores e até inabilidade dos OE obtidos em apresentar atividade bactericida contra os microrganismos testados classificados como gram-negativos pode ser em decorrência da presença de uma membrana externa nestas espécies, que atua como um tipo de barreira contra substâncias potencialmente perigosas (Forsythe, 2013).

## 6 CONCLUSÃO

Os metabólitos secundários voláteis encontrados nas amostras sazonais de OE de *B. dracunculifolia* foram condizentes com estudos anteriores, apresentando predominância de sesquiterpenos oxigenados. Destaca-se também, a presença dos componentes Espatulenol e *E*-nerolidol, em todas as amostras de OE, em diferentes concentrações.

Nas análises antioxidantes procedidas, houve maior ação do OE das estações de verão e primavera, sendo que, o OEV apresentou maior atividade antioxidante, quando analisado pelos métodos FRAP e captura do radical DPPH. Já o OEP, teve maior ação antioxidante na captura do radical ABTS. Dessa forma, justifica-se o potencial uso do OE de *B. drancunculifolia* como antioxidante natural. As amostras de OE das estações de inverno e de outono, apresentaram baixa e nenhuma atividade antioxidante pelo método FRAP e ABTS, respectivamente. OEI demonstrou satisfatória atividade de captura do radical DPPH enquanto OEO apresentou baixa atividade na mesma.

Referente às análises antimicrobianas, o método disco difusão não se mostrou adequado para as amostras de OE analisadas, muito possivelmente em função da dificuldade de migração das moléculas pelo papel filtro, limitando a técnica e consequentemente, alterando o resultado. Com relação à concentração inibitória mínima, OEO e OEI não apresentaram atividade contra nenhuma bactéria testada. Já OEV e OEP, obtiveram resultados contra as 6 bactérias, onde o OE de primavera chegou a inibir crescimento de *S. epidermidis* na concentração de 12,5%.

A análise de concentração bactericida mínima foi positiva com o OE puro, da estação de primavera, sendo que, a amostra foi capaz de matar as células de *S.*

*epidermidis* e *S. gallinarum*. Os resultados de CIM e CBM são promissores para futuros estudos do uso do OE de alecrim-do-campo como antimicrobiano.

Em função do alto interesse industrial acerca do OE de *Baccharis dracunculifolia*, o estudo de seu rendimento é importante para relatar de sua melhor época de obtenção. Com isso, conclui-se que, na cidade de Pato Branco, a melhor época de coleta é durante o verão, aliando seu maior rendimento juntamente com maiores propriedades antioxidantes e antimicrobianas.

Por fim, conclui-se que a busca por propriedades biológicas advinda de produtos naturais ainda é um vasto campo a ser explorado no Brasil. Sua rica flora proporciona objetos de estudo cada vez mais promissores para aplicação em diversos setores industriais com os mais diversos benefícios à sociedade.

A sazonalidade no óleo essencial da planta *B. dracunculifolia* de fato influenciou tanto na composição química como na porcentagem dos metabólitos voláteis identificados, provocando significativas variações na ação antioxidante e antimicrobiana das amostras de OE estudadas.

Futuros estudos acerca da propriedade antioxidante e antimicrobiana são recomendados, para determinação dos metabólitos voláteis responsáveis pelas mesmas, bem como por sua variação ao longo das estações.

## REFERÊNCIAS

- A. F. WALI, S. MAJID, S. RASOOL et al., (2019) "Natural products against cancer: review on phytochemicals from marine sources in preventing cancer," Saudi Pharmaceutical Journal, vol. 27, no. 6, pp. 767–777.
- ADAMS, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Vol. 456. Carol Stream: Allured publishing corporation.
- ALMEIDA, D. F. L. D. S. (2017). Estudo das vias metabólicas das plantas na síntese de pigmentos naturais (Doctoral dissertation).
- ANDRADE, F. M. C. D., & CASALI, V. W. D. (1999). Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário.
- APAK R, ÖZYÜREK M, GÜÇLÜ K, ÇAPANOĞLU E (2016). Antioxidant Activity/Capacity Measurement. 1. Classification, Physicochemical Principles, Mechanisms, and Electron Transfer (ET)-Based Assays. Journal of Agricultural and Food Chemistry 64: 997-1027.
- ARRUDA, D., D'ALEXANDRI, F., KATZIN, A., & ULIANA, S. (2005). Antileishmanial Activity of the Terpene Nerolidol. Antimicrobial agents and chemotherapy, 1679-1687. doi:10.1128/AAC.49.5.1679– 1687.2005
- AZAMBUJA, J. Produção e extração de óleos essenciais em pequenas propriedades rurais. CURITIBA, (PA), 2012.
- AZAMBUJA, W. Métodos de extração de óleos essenciais. 2016.
- BAPTISTELLA, L. H. B.; IMAMURA, P. M.; DE MELO, L. V.; CASTELLO, C.; Preparação do (+)- $\alpha$ -terpineol a partir do (+)-limoneno: monoterpenos de odor agradável em um projeto para química orgânica experimental. Química Nova 2009, 32, 1069
- Berlinck, R. G. et al. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. Química Nova, 40, 706-710. 2017.
- BERLINCK, R. G. S., HAJDU, E., DA ROCHA, R. M., et al.; J. Nat. Prod. 2004, 67, 510.
- BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. Rodriguésia 66: 1085- 1113.
- BIZZO, H. R., & REZENDE, C. M. (2022). O Mercado De Óleos Essenciais No Brasil E No Mundo Na Última Década. Química Nova, 45, 949-958.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M.; Quim. Nova 2009, 32, 588.

BONIN, E., CARVALHO, V. M., AVILA, V. D., DOS SANTOS, N. C. A., BENASSI-ZANQUETA, É., LANCHEROS, C. A. C., ... & DO PRADO, I. N. (2020). *Baccharis dracunculifolia*: Chemical constituents, cytotoxicity and antimicrobial activity. *Lwt*, 120, 108920.

BOUSBIA, N.; VIAN, M. A.; FERHAT, M. A.; MEKLATI, B.Y.; CHEMAT, F. A. A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*. v.90. 2009. p. 409-413.

BRANDT, A.L., CASTILLO, A., HARRIS, K.B., KEETON, J.T., HARDIN, M.D. AND TAYLOR, T.M. (2010), Inhibition of *Listeria monocytogenes* by Food Antimicrobials Applied Singly and in Combination. *Journal of Food Science*, 75: M557-M563. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01843.x>

BRISKIN, D. P. (2000). Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health. *Plant physiology*, 124(2), 507-514.

BS EN ISO 9235:2021; BSI Standards Publication Aromatic Natural Raw Materials—Vocabulary. ISO: Geneva, Switzerland, 2021.

BURTON, G. & EVANS-ILLIDGE, E. A. Emerging R and D law: the Nagoya Protocol and its implications for researchers. *ACS Chem. Biol.* 9, 588–591 (2014).

CAMPOS, F.R., BRESSAN, J., JASINSKI, V.C.G., ZUCCOLOTTO, T., SILVA, L.E., CERQUEIRA, L.B. *Baccharis* (Asteraceae): Chemical Constituents and Biological Activities. Review. *Chemical and Biodiversity*. v.13, p.1–17, 2016.

CASAGRANDE, M. Otimização de extração de compostos bioativos de *Baccharis dracunculifolia* visando aplicação em processo produtivo industrial. 2019. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual do Centro Oeste, Guarapuava, 2019.

CASOTI, R. (2017). Estudos metabolômicos do gênero *Baccharis* (Asteraceae), avaliação do potencial anti-inflamatório in vitro e suas correlações através de métodos in silico (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

CAZELLA, L. N. et al. Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) Aerial Parts at Flowering Period. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, n. 27, p. 1-9, 2019.

CHAABAN, A., MARTINS, C. E. N., BRETANHA, L. C., MICKE, G. A., CARRER, A. R., ROSA, N. F., ... MOLENTO, M. B. (2017). Insecticide activity of

*Baccharis dracunculifolia* essential oil against *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). *Natural Product Research*, 1–5.

COSTA, G. M. B. A. (2016). Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos e de óleo essencial de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*).

D. J. NEWMAN, G. M. CRAGG, “Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019,” *Journal of Natural Products*, vol. 83, no. 3, pp. 770–803, 2020.

DA SILVA, E. R.; DE OLIVEIRA, D. R.; DE FÁTIMA FIGUEIREDO MELO, M.; BIZZO, H. R.; LEITÃO, S. G.; BRAZ, J. *Pharmacogn.* (2016). 26, 647.

DAMBROS FILHO, E., HEY, A., DANGUI, A. Z., SANCHES, C. G. S., DE DAVID, L. E., CARRARO, E., ... & PEREIRA, R. A. (2021). Estudo comparativo da atividade antimicrobiana in vitro de extratos e óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC, Contra *Escherichia coli* E *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Development*, 7(1), 5830-5848.

DE MORAIS, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. S3299-S3302, ago. 2009. CD-ROM. Suplemento. Trabalho apresentado no 49. Congresso Brasileiro de Olericultura, Águas de Lindóia, SP..

DE SOUZA, M. A. A. (2010). Essencial e avaliação do metabolismo de *Mentha arvensis* L. sob diferentes condições de cultivo. Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, no Programa de Pós Graduação em Química, Área de Concentração em Química Agrária. Seropédica, RJ: Instituto de Ciências Exatas.

DEGUERRY, F.; PASTORE, L.; WU, S.; CLARK, A.; CHAPPELL, J.; SCHALK, M.; The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 2006, 37.

DELLA TORRE, A. (2018). Óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC.: estudos de genotoxicidade, mutagenicidade e metabolismo (Doctoral dissertation, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Instituto de Biologia).

FARKAS, J., MOHÁCSI-FARKAS, C. In: MOTAJERMI, Y. (ed). 1° Ed. Safety of foods and beverages: spices and seasonings. *Encyclopedia of Food Safety*. Volume 3: Foods, Materials, Technologies and Risks. Elsevier, 2014. p. 324-330.



FELÍCIO, R. D., OLIVEIRA, A. L. L. D., & DEBONSI, H. M. (2012). Bioprospecção a partir dos oceanos: conectando a descoberta de novos fármacos aos produtos naturais marinhos. *Ciência e Cultura*, 64(3), 39-42.

FELIPE, L. O., & BICAS, J. L. (2017). Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola*, 39(2), 120-130.

FERNANDES, E. S.; PASSOS, G. F.; MEDEIROS, R.; DA CUNHA, F. M.; FERREIRA, J.; CAMPOS, M. M.; PIANOWSKI, L. F.; CALIXTO, J. B. (2007). Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenácea*. *European Journal of Pharmacology*, 569, 228-233.

FERREIRA, T. S., MOREIRA, C. Z., CÁRIA, N. Z., VICTORIANO, G., SILVA JR, W. F., & MAGALHÃES, J. C. (2014). Phytotherapy: an introduction to its history, use and application. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 16, 290-298.

FERRONATTO, R., MARCHESAN, E. D., PEZENTI, E., BEDNARSKI, F., & ONOFRE, S. B. (2007). Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* DC e *Baccharis uncinella* DC (Asteraceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17, 224-230.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Plantas aromáticas e medicinais-óleos essenciais e voláteis. *Revista da APH N.º*, v. 114, p. 30, 2014.

FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO, J. G.; PEDRO, L. G.; SCHEFFER, J. J. C.; *Flavour Fragr. J.* 2008, 23, 213.

FIGUEIREDO, A.C., et al., *Plantas Aromáticas e Mediciniais. Fatores que afectam a produção.* pp. 1-18. In: Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. (Eds), *Potencialidades e Aplicações das Plantas Aromáticas e Mediciniais. Curso Teórico-Prático, 3.ª Ed., Edição da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa - Centro de Biotecnologia Vegetal, Lisboa, Portugal, 2007.*

FORSYTHE, S. J. (2013). *Microbiologia da segurança dos alimentos.* Porto Alegre. Rio Grande do Sul, Brasil: Artmed.

FREEDBERG, D.; *Ciência, Comércio e Arte em o Brasil dos Holandeses 1630-1654*, Herkenhoff, P., org.; GMT Editores Ltda.: Rio de Janeiro, 1999.

FUNK, V.A.; SUSANNA, A.; STUSSEY, T.F. & BAYER, R.J. (2009). *Systematics, evolution and biogeography of Compositae.* IAPT, Vienna. 965p.

GARCÍA, A. Á., & CARRIL, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2(3).

GELINSKI JMLN. et. al. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e de seu composto ativo nerolidol em combinação ao EDTA ou lisozima. Evidência. Joaçaba(SC). 2007; 7(2): 131-144.

GRACE, K. Introdução à Aromaterapia. In: GRACE, K. Aromaterapia: o poder curativo dos aromas. São Paulo: Mandarine, 1999.

HARRISON, C. (2014). Patenting natural products just got harder. *Nat. Biotechnol.* 32, 403–404.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry.* v. 68, nº 22-24, p. 2831-2846, 2007.

HEIDEN, G. Systematics of *Baccharis* (Asteraceae: Astereae). Ph.D. Thesis. University of São Paulo, 2014.

HUANG, S.Q. et al. (2012). “Antioxidant activities of five polysaccharides from *Inonotus obliquus*”. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 50, p. 1183–1187.

IBGE, Tabela 6705, disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6705>, acessada em março 2022.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.; ISO 3218:2014. Essential oils - Principles of nomenclature; International Organization for Standardization: Genebra, 2014.

IÓCA, L. P.; ALLARD, P.-M.; BERLINCK, R. G. S. *Nat. Prod. Rep.* 2014, 31, 646.

ITC Trade Map, disponível em <https://www.trademap.org/Index.aspx>, acessada em março 2022.

IURCKEVICZ, G., DAHMER, D., CASAGRANDE, M., CALEGARI, G. C., OLDONI, T. L. C., DEKKER, R. F. H., ... & CUNHA, M. A. A. (2021). Bioactive compounds in the leaves of *Baccharis dracunculifolia*: extraction process and characterization. *Acta Scientiarum. Technology*, 43, e49826-e49826.

JAKIEMIU, E.A.R. (2008). Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). Curitiba: UFPR.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, L.S. (1991). Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 24p.

LIMBERGER, R.P. et al. (2004). Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. *Química Nova*, v.27, n.6, p.916-919.

LUCHESI, L. A., PAULUS, D., BUSSO, C., FRATA, M. T., & OLIVEIRA, J. B. (2020). Chemical composition, antifungal and antioxidant activity of essential oils from *Baccharis dracunculifolia* and *Pogostemon cablin* against *Fusarium graminearum*. *Natural Product Research*, 1–4. doi:10.1080/14786419.2020.1802267

LUO, X.; MA, Y.; WU, S.; WU, D.; *J. Nat. Prod.* (1999), 62, 1022.

MANN, J. *Secondary metabolism*. New York, Oxford University, 2 ed. 1987, 374 p.

MARQUES, M.O; TOLEDO, R. (2007). Óleos essenciais... história e sua importância para a indústria de perfumaria. *Revista Brasileira de Jornalismo Científico*, n. 91.

MASSIGNANI, J. J., LEMOS, M., MAISTRO, E. L., SCHAPHAUSER, H. P., JORGE, R. F., SOUSA, J. P. B., ... & DE ANDRADE, S. F. (2009). Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Baccharis dracunculifolia* on different experimental models in rats. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(10), 1355-1360.

MCMURRY, J. (2011). 7° Ed. *Química Orgânica - Combo*. São Paulo: Cengage Learning,. 1344 p.

MDIC, Comex Stat, disponível em <http://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>, acessada em março 2022.

MELLO, A. F. (2015). Dilemas e desafios do desenvolvimento da Amazônia: o caso brasileiro. *Revista Crítica de Ciências Sociais*,v. 107, p. 91-108.

MILANEZ, A.I.; PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. & GOMES, A.L. (2007). *Brazilian zoosporic fungi*. Conselho Nacional de Pesquisa, São Paulo. 112p.

MILLER NJ, RICE-EVANS CA, DAVIES MJ, GOPINATHANN V, MILNER A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993;84(4):407-12.

MIRANDA, C. A. S. F., CARDOSO, M. D. G., BATISTA, L. R., RODRIGUES, L. M. A., & FIGUEIREDO, A. C. D. S. (2016). Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. *Revista Ciência Agronômica*, 47, 213-220.

MONTEIRO, J.M., DE LIMA ARAÚJO, E., AMORIM, E.L.C. et al. Local Markets and Medicinal Plant Commerce: A Review with Emphasis on Brazil. *Econ Bot* 64, 352–366 (2010). <https://doi.org/10.1007/s12231-010-9132-1>

MONTEIRO, SIOMARA DA CRUZ, AND CLARA LIA COSTA BRANDELLI. (2017). "Farmacobotanica: Aspectos leóricos e Aplicação." *Sustinere - Revista de Saúde e Educação*, vol. 5, no. 2, July-Dec. p. 374.

MOYNA, P. E MENÉNDEZ, P. (2001). Biotransformação de produtos naturais. In: Serafini, L. A.; Barros, N. M. e Azevedo, J. L. (2001). *Biotechnology na agricultura e na agroindústria*. Agropecuária, pp. 201-226.

MÜLLER, J. (2006) Systematic of *Baccharis* (Compositae-Asteraceae) in Bolivia, including an overview of the genus. *Systematic Botany Monographs*. v.76, p.1–341.

NASCIMENTO, C. A; PIRES-ZOTTARELLI, C. L. A. (2012). Diversidade de fungos zoospóricos da Reserva Biológica de Mogi Guaçu, estado de São Paulo, Brasil. *Rodriguesia*, 63(3): 587-611.

NASCIMENTO, C.A.; GOMES, E.P.C. & PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. (2011a). Occurrence and distribution of zoosporic organisms in water bodies from Brazilian Cerrado. *Mycologia* 103: 261-272

NASCIMENTO, C.A.; SOUZA, J.I.; GOMES, E.P.C. & PIRES-ZOTTARELLI, C.L.A. (2011b). Zoosporic true fungi and heterotrophic straminipiles assemblages from soil of Brazilian Cerrado areas. *Fungal Ecology*, doi:10.1016/j.funeco.2011.08.001

NEGREIROS D., ESTEVES D., FERNANDES G.W., BERBARA R.L.L., OKI Y., VICHATO M., CHALUB C. (2014). Growth-survival tradeoff in the widespread tropical shrub *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae) in response to a nutrient gradient. *Tropical Ecology* 55(2): 167–176.

NEVES, J. S. (2011). *Aromaterapia: Um tema para o ensino de química*. Trabalho de Conclusão de Curso, Curso Superior de Química, Instituto de Química da Universidade de Brasília: Brasília (DF).

OLIVEIRA, MB. (2018). *Extração, Caracterização e avaliação da atividade larvacida do óleo essencial do Citrus Limon Linneo (limão) frente ao mosquito Aedes aegypti*. [dissertação] São Luis: Universidade Federal do Maranhão.

OLIVEIRA, G. L. D. S. (2015). Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH•: estudo de revisão. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17, 36-44.

PAROUL, N., ROSA, R. L. D., PIAZZA, S. P., BERTELLA, T., PUTON, B. M. S., FALCÃO, L., ... & CANSIAN, R. L. (2016). Composição química e atividade

antioxidante de *Baccharis trimera* PERS e *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Rev Perspect*, 40, 55-64.

PARREIRA, N. A., MAGALHÃES, L. G., MORAIS, D. R., CAIXETA, S. C., DE SOUSA, J. P., BASTOS, J. K., ... & DA SILVA FILHO, A. A. (2010). Antiprotozoal, schistosomicidal, and antimicrobial activities of the essential oil from the leaves of *Baccharis dracunculifolia*. *Chemistry & biodiversity*, 7(4), 993-1001.

PÉREZ-JIMÉNEZ J, SAURA-CALIXTO F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Res Int* (2006);39:791-800.

PIANTINO, C. R. (2008). Extração de compostos fenólicos de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) com dióxido de carbono supercrítico, 99 p., Dissertação (Mestrado), UNICAMP.

PINHEIRO, A. L. A (2003). Produção de óleos essenciais. Viçosa: CPT.

PINTO, A. C. et al. (2002). Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Química nova*, v. 25, p. 45-61.

PULIDO, R. et al. (2000), "Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay". *Journal Agriculture and Food Chemistry*, v. 48, p. 3396-3402.

RATES, S. M. K. (2001). Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino da farmacognosia. *Rev. Bras. Farmacogn.* 11(2): 57-69.

REZENDE, C. (2011). Há algo no ar: a química e os perfumes. *Ciência Hoje*, 48(283), 26-31.

RIBEIRO, V.P., CCANA-CCAPATINTA, G.V., ALDANA-MEJIA, J.A., BERRETTA, A.A., MORAES, L.A. AND BASTOS, J.K. (2022) Chemical characterization of Brazilian propolis using automated direct thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J Sci Food Agric*. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11788>

ROCKENBACH, A. (2021). Composição química e bioatividades do óleo essencial de espécimes feminino e masculino de *Baccharis draunculifolia* DC (Bachelor's thesis, Universidade Tecnológica Federal do Paraná).

RODRIGUES, Michelle FF et al. (2019). Techno-economic evaluation of artemisinin extraction from *Artemisia annua* L. using supercritical carbon dioxide. *Industrial crops and products*, v. 132, p. 336-343.

RUBERTO G, BARATTA MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem.* (2000) May;69(2):167-74. doi:10.1016/S0308-8146(99)00247-2.

RUFINO, M. S. M. ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C.G.; PÉEZ-JIMN, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. (2007). Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+. Comunicado técnico online, v.128.

SALAZAR, G. J. T., DE SOUSA, J. P., LIMA, C. N. F., LEMOS, I. C. S., DA SILVA, A. R. P., DE FREITAS, T. S., ... & DESCHAMPS, C. (2018). Phytochemical characterization of the *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) essential oil and antibacterial activity evaluation. *Industrial Crops and Products*, 122, 591-595.

SAMUNI-BLANK, M. et. al. (2012). Intraspecific directed deterrence by the mustard oil bomb in a desert plant. *Current Biol.*, 22 (13), pp. 1218-1220.

Santos, R. F., M.T.C. Isobe, J.G. Lalla, L.L. Haber, M.O.M. Marques, and L.C. Ming. (2012). "Composição Química E Produtividade Dos Principais Componentes Do óleo Essencial De *Baccharis Dracunculifolia* DC. Em Função Da Adubação Orgânica Chemical Composition and Productivity of Essential Oil of *Baccharis Dracunculifolia* DC. as Affected by Organic Compound." *Revista Brasileira De Plantas Medicinai*s 14.Spe. 224-34. Web.

SANTOS, R. I. (2001). Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: Simões, C. M. O et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed.Universidade/UFRGS/Ed.UFSC.

SCHAAF, J. et. al. (1995). Primary metabolism in plant defense. *Plant Physiol.*, 108, pp. 949-960.

SELL, C. S.; *Fundamentals of Fragrance Chemistry*, Wiley-VCH: Weinheim, 2019.

SHAKYA, A. K., & NAIK, R. R. (2022). The Chemotherapeutic Potentials of Compounds Isolated from the Plant, Marine, Fungus, and Microorganism: Their Mechanism of Action and Prospects. *Journal of Tropical Medicine*, 2022.

SILVA ER, LAZAROTTO DC, PAWLOWSKI A, SCHWAMBACH J, SOARES GLG. (2018). Antioxidant evaluation of *Baccharis patens* and *Baccharis psiadioides* essential oils. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, 2018 May;21:485-92. doi: 10.1080/0972060X.1470944

SILVEIRA, J.C. et al. (2012). Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer: Goiânia, v.8, n.15; p. 2038.

SIMÕES, C. et al. (2010). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6 (th) ed. Florianópolis: UFSC.

SIMÕES, C. M. O., et al. (2001). Farmacognosia: da planta ao medicamento, 3 ed. Porto Alegre. Ed. da Universidade UFRGS.

SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (2002). Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 260 p.

SUNDARAM, K. M. S., & CURRY, J. (1994). Initial deposits and persistence of azadirachtin in fir and oak foliage after spray application of "Margosan-O"® formulation. Pesticide Science, 41(2), 129–138. doi:10.1002/ps.2780410209.

TAIZ, L; ZEIGER, E. (2013). Fisiologia vegetal. 5a ed. Porto Alegre, Artmed. p. 918.

TEREZINHA DE OLIVEIRA, C., LAMEIRO DE NORONHA SALES MAIA, B. H., PORTES FERRIANI, A., APARECIDA QUEIROZ SANTOS, V., ANTÔNIO ALVES DA CUNHA, M., & DIAS TEIXEIRA, S. (2019). Chemical characterization, antioxidant capacity and antimicrobial potential of essential oil from the leaves of *Baccharis oreophila* Malme. Chemistry & Biodiversity, 16(2), e1800372.

TOMAZZOLI, M. M., AMARAL, W. D., CIPRIANO, R. R., TOMASI, J. D. C., GOMES, E. N., FERRIANI, A. P., ... & DESCHAMPS, C. (2021). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from populations of *Baccharis dracunculifolia* DC. in southern Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology, 64.

URREA-VICTORIA, V., PIRES, J., TORRES, P. B., SANTOS, D. Y. A. C., & CHOW, F. (2016). Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. Instituto de Biociências: Universidade de São Paulo.

VALOTTO, C. F. B., SILVA, H. H. G. D., CAVASIN, G., GERIS, R., RODRIGUES FILHO, E., & SILVA, I. G. D. (2011). Alterações ultraestruturais em larvas de *Aedes aegypti* submetidas ao diterpeno labdano, isolado de *Copaifera reticulata* (Leguminosae), e à uma fração rica em taninos de *Magonia pubescens* (Sapindaceae). Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 44, 194-200.

VAN DEN DOOL, H. A. N. D., AND P. DEC KRATZ. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. No. RESEARCH.

VEIGA, R. S., MENDONÇA, S., MENDES, P. B., PAULINO, N., MIMICA, M. J., LAGAREIRO NETTO, A. A., et al. (2017). Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia*. *Journal of Applied Microbiology*, 122(4), 911–920. <https://doi.org/10.1111/jam.13400>.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. (2005). Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, Econômicos e Biológicos. *Química Nova*, v. 28, p.85-94.

VIEGAS JR, C.; et al. (2006) Os produtos naturais e a química medicinal moderna. *Química nova*, v. 29, p. 326-337.

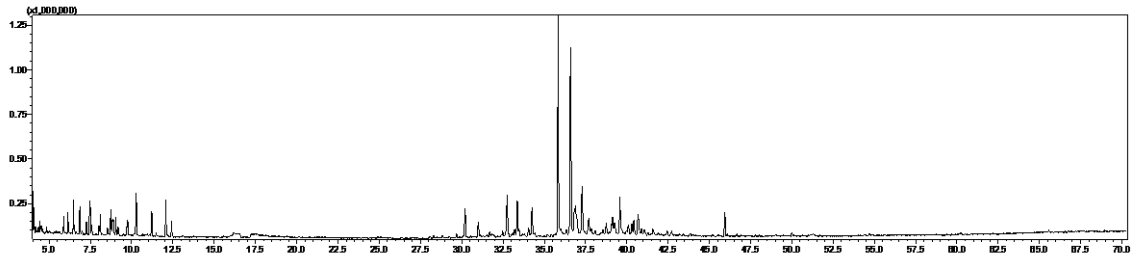
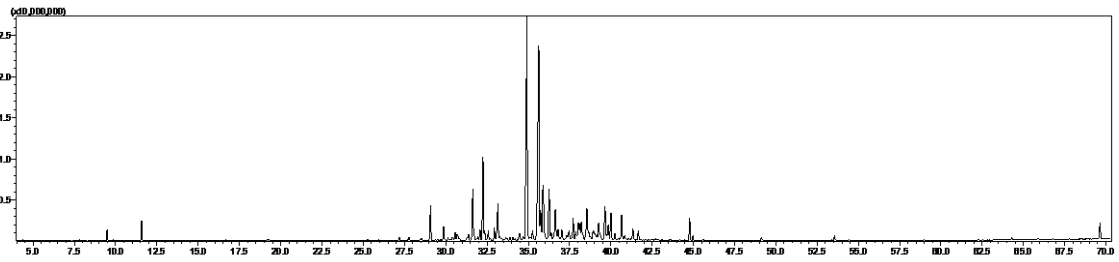
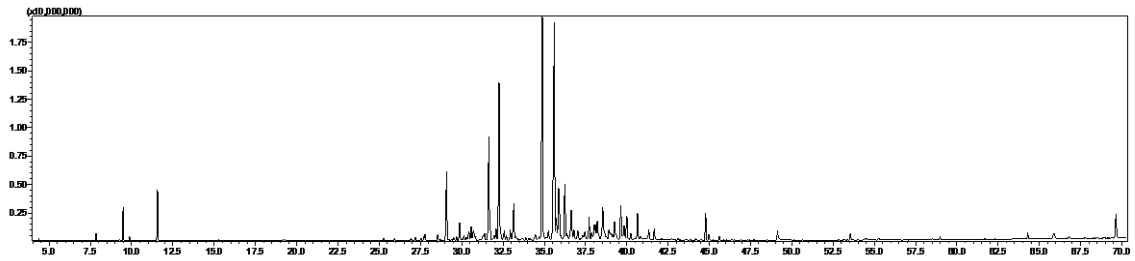
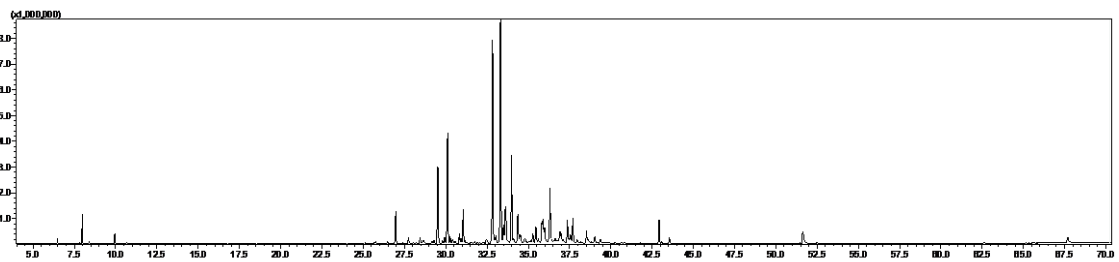
VIEGAS JÚNIOR, C. (2003). Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, 26, 390-400.

WANG, G., TANG, W., & BIDIGARE, R. R. (n.d.). Terpenoids As Therapeutic Drugs and Pharmaceutical Agents. *Natural Products*, 197–227. doi:10.1007/978-1-59259-976-9\_9.

YUAN, H., ZHANG, J., NAGESWARAN, D., Li, L. (2015). Carotenoid metabolism and regulation in horticultural crops. *Nature Review: Horticulture Research*. v. 2, 11 p.

ZUCCOLOTTO, T., BRESSAN, J., LOURENÇO, A. V. F., BRUGINSKI, E., VEIGA, A., MARINHO, J. V. N., et al. (2019). Chemical, antioxidant, and antimicrobial evaluation of essential oils and an anatomical study of the aerial parts from *Baccharis* species (Asteraceae). *Chemistry and Biodiversity*, 4, 1–38.



**ANEXOS****Figura 29- Cromatograma OEP.****Figura 30- Cromatograma OEV.****Figura 31- Cromatograma OEO.****Figura 32- Cromatograma OEI.**

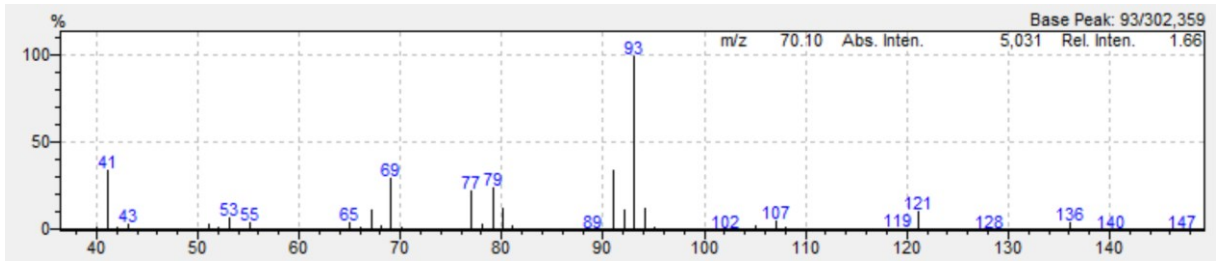


Figura 33- Espectro de massas obtido para  $\beta$ -Pineno.

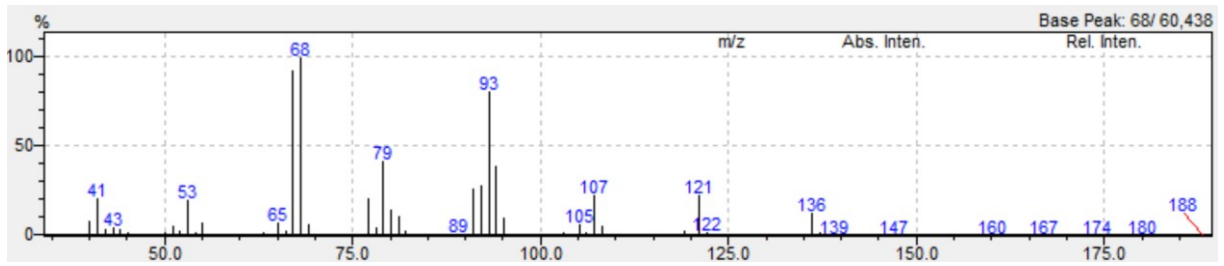


Figura 34- Espectro de massas obtido para Limoneno.

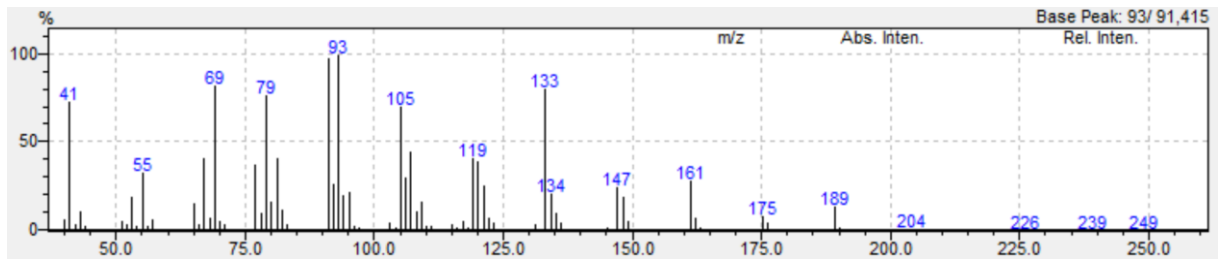


Figura 35- Espectro de massas obtido para *E*-Cariofileno.

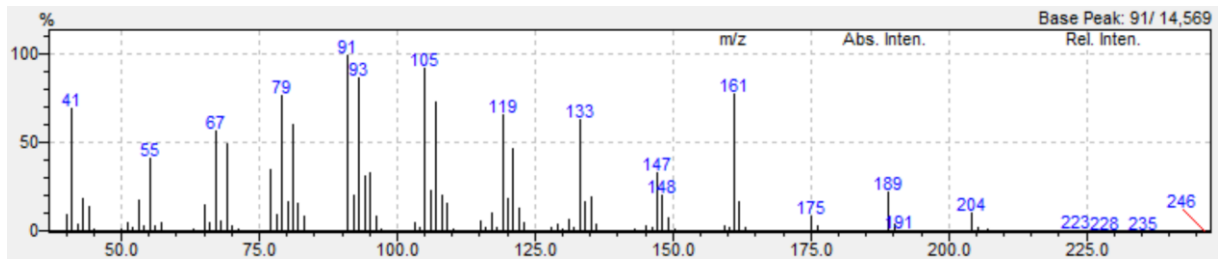


Figura 36- Espectro de massas obtido para Aromadendreno.

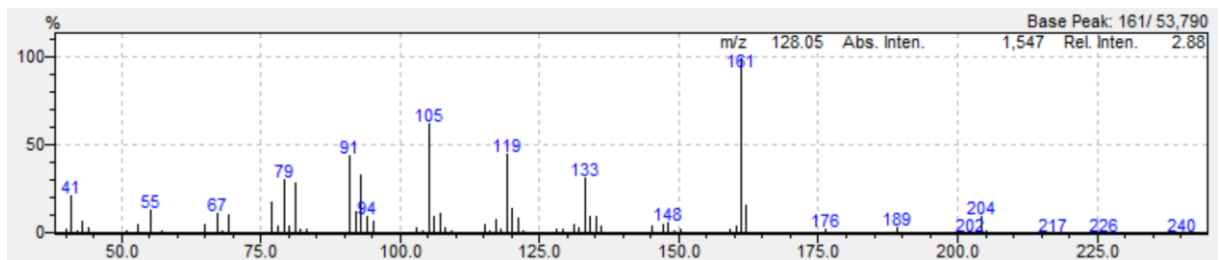


Figura 37- Espectro de massas obtido para  $\gamma$ -Cadineno.

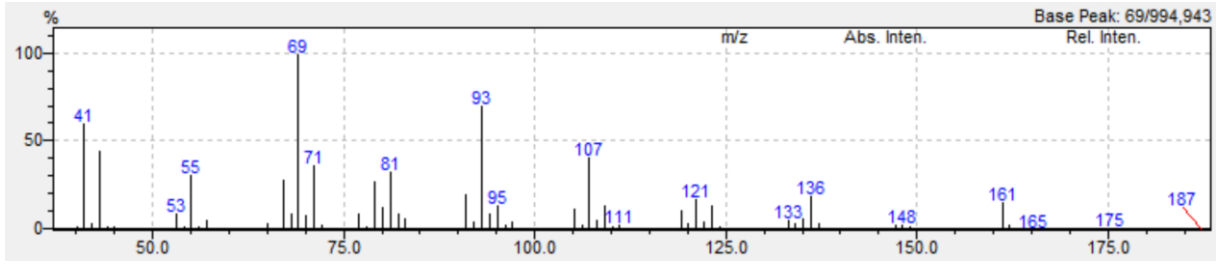


Figura 38- Espectro de massas obtido para *E*-nerolidol.

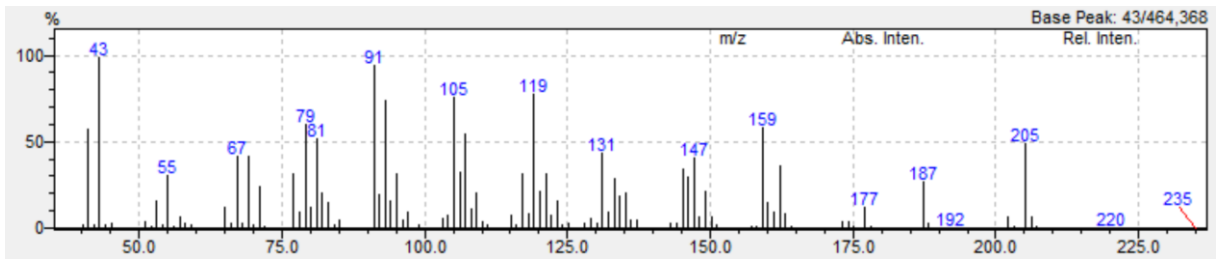


Figura 39- Espectro de massas obtido para Espatulenol.

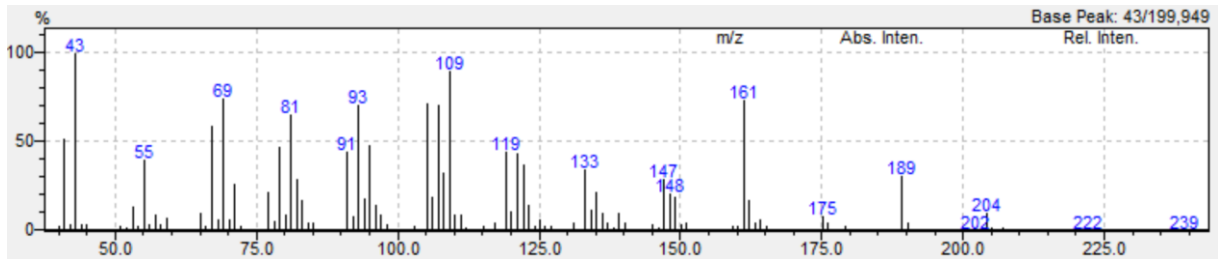


Figura 40- Espectro de massas obtido para Globulol.

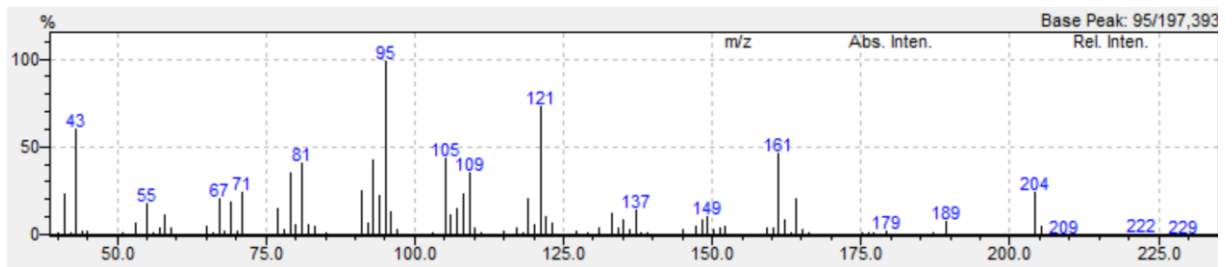


Figura 41- Espectro de massas obtido para  $\alpha$ -Cadinol.