

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS DE CURITIBANOS
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA, BIODIVERSIDADE E FLORESTAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL

Ricardo Fernandes dos Santos

Extração de óleos essenciais das folhas de *Eugenia uniflora* em diferentes condições de secagem

Curitibanos

2022

Ricardo Fernandes dos Santos

Extração de óleos essenciais das folhas de *Eugenia uniflora* em diferentes condições de secagem

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Florestal do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Cristian Soldi

Curitibanos

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santos, Ricardo Fernandes dos
Extração de óleos essenciais das folhas de Eugenia
uniflora em diferentes condições de secagem / Ricardo
Fernandes dos Santos ; orientador, Cristian Soldi, 2022.
54 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Campus
Curitibanos, Graduação em Engenharia Florestal,
Curitibanos, 2022.

Inclui referências.

1. Engenharia Florestal. 2. Espécies nativas. 3.
Extração de óleos essenciais. 4. Rendimento. 5.
Caracterização. I. Soldi, Cristian. II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia
Florestal. III. Título.

Ricardo Fernandes dos Santos

Extração de óleos essenciais das folhas de *Eugenia uniflora* em diferentes condições de secagem

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Engenharia Florestal” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia Florestal

Curitiba, 11 de julho de 2022



Documento assinado digitalmente
MARCELO BONAZZA
Data: 20/07/2022 12:41:15-0300
CPF: 047.641.899-25
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Marcelo Bonazza.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
Cristian Soldi
Data: 20/07/2022 15:04:41-0300
CPF: 032.833.289-51
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Cristian Soldi.
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
Joni Stolberg
Data: 20/07/2022 14:47:15-0300
CPF: 683.796.929-34
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof. Dr. Joni Stolberg
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina



Documento assinado digitalmente
KARINA SOARES MODES
Data: 20/07/2022 12:48:42-0300
CPF: 003.082.240-86
Verifique as assinaturas em <https://v.ufsc.br>

Prof^a. Dr^a. Karina Soares Modes
Avaliadora
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me dado força e motivação para superar os obstáculos e chegar até aqui.

À minha esposa Andressa Padilha, pela compreensão dos momentos em que estive distante, por ter me apoiado durante minha graduação e ter me ajudado a manter o foco, continuando comigo nos momentos mais difíceis.

À minha filha, Lara Padilha dos Santos, pois sua chegada, além de alegrar minha vida, me motivou a evoluir no âmbito pessoal, acadêmico e profissional.

Aos meus pais, que sempre estiveram presentes em minha vida, sempre me incentivando a continuar estudando.

À Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de ingressar no ambiente acadêmico, por todo o conhecimento adquirido e pelo oferecimento da Bolsa Estudantil, que foi de grande ajuda para minha permanência na universidade.

Aos meus compadres Fernando Gatner e Closeli Gatner, e ao meu amigo Dézio Dalsenter Júnior, por contribuírem com minha pesquisa disponibilizando material vegetal de pitangueiras de suas propriedades rurais.

À Ato Madeiras, por ter me dado a oportunidade de estágio, contribuindo para minha experiência profissional.

À FAPESC, CNPQ e UFSC pelo apoio financeiro que possibilitou a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Cristian Soldi, por ter aceitado me orientar, pelas dicas e pelo apoio para este trabalho ser concluído.

Muito obrigado a todos!

RESUMO

A pitangueira é uma espécie frutífera nativa do Brasil, sendo encontrada em quase todo o território nacional, além de estar na Argentina, Paraguai e Uruguai. É ornamental e muito utilizada para arborização urbana, sendo presente em pomares domésticos por conta do seu fruto, que pode ser utilizado como alimento. Apesar da espécie ser conhecida por conta do fruto, as folhas detêm aroma devido à produção e acúmulo de óleo essencial. Os óleos essenciais são metabólitos secundários presentes em diversas partes da planta. São compostos voláteis, agindo como hormônios reguladores, repelentes de predadores e atraindo polinizadores. O objetivo deste trabalho foi otimizar a extração do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* quanto à diferentes condições de secagem. As folhas foram coletadas e levadas ao laboratório de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, campus de Curitibanos – SC, onde foram submetidas aos tratamentos. Posteriormente, as folhas foram submetidas à extração dos óleos voláteis, onde foi empregada a técnica de hidrodestilação, utilizando aparato Clevenger modificado. A análise estatística dos dados foi feita em Delineamento Inteiramente Casualizado e os tratamentos foram arrançados em esquema fatorial 2x2 + testemunha, sendo os fatores tempo (2 e 4h) e temperatura (40 e 60°C). Foi feita a extração de folhas frescas como testemunha. Para analisar os componentes químicos presentes no óleo essencial de *E. uniflora* foi utilizado o cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (GCMS), instalado no Laboratório Multiusuário de Análise Instrumental (LAMAI), no Campus de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina. Para o rendimento de óleo, não houve interação entre os fatores. Para o fator Tempo, não houve diferença significativa entre os tratamentos. O rendimento do tratamento testemunha (Folhas frescas) foi de 0,5062 g/100g de massa vegetal seca e para folhas secas a 2 e 4 horas foi de 0,8566 e 0,6584g/100g de m.s. respectivamente. Para o fator temperatura, o tratamento de secagem a 60°C apresentou maior rendimento, enquanto que o tratamento a 40°C apresentou resultado estatisticamente igual à testemunha. Se utilizou o tratamento de secagem que obteve maior rendimento de óleo essencial entre as árvores de ambiente urbano para comparar com o material vegetal proveniente de áreas rurais. Entre os ambientes rurais e urbanos, não houve diferença significativa para o rendimento. Os componentes químicos majoritários encontrados no óleo volátil do material vegetal proveniente de ambiente urbano foram os compostos sesquiterpênicos oxigenados germacrona e silfiperfol-6-en-5-ona, seguidos de epi- α -muurolol, δ -cadineno e hinesol. Este é o primeiro relato do silfiperfol-6-en-5-ona no óleo essencial das folhas da pitangueira. Os diferentes tratamentos de secagem resultaram em diferenças nos teores para a maioria dos componentes químicos, sendo que para a germacrona a quantidade diminuiu com o tratamento de secagem a 60°C por 4 horas e para o silfiperfol-6-en-5-ona os diferentes tratamentos não resultaram em diferenças significativas. Foram observadas diferenças no perfil químico do óleo de folhas de ambiente rural e urbano, sendo o γ -cadineno e o germacreno B encontrados como majoritários para os ambientes rurais.

Palavras-chave: Pitanga. Myrtacea. Hidrodestilação.

ABSTRACT

The pitangueira is a fruit species native to Brazil, being found in almost the entire national territory, in addition to being in Argentina, Paraguay and Uruguay. It is ornamental and widely used for urban afforestation, being present in domestic orchards because of its fruit, which can be used as food. Although the species is known for the fruit, the leaves have an aroma due to the production and accumulation of essential oil. Essential oils are secondary metabolites present in different parts of the plant. They are volatile compounds, acting as regulatory hormones, repelling predators and attracting pollinators. The objective of this work was to optimize the extraction of essential oil from *Eugenia uniflora* leaves under different drying conditions. The leaves were collected and taken to the Chemistry Laboratory of the Federal University of Santa Catarina, Curitibanos - SC campus, where they were subjected to treatments. Subsequently, the leaves were subjected to the extraction of volatile oils, where the hydrodistillation technique was used, using a modified Clevenger apparatus. The statistical analysis of the data was performed in a completely randomized design and the treatments were arranged in a 2x2 + control factorial scheme, being the factors time (2 and 4h) and temperature (40 and 60°C). Fresh leaves were extracted as a control. To analyze the chemical components present in the essential oil of *E. uniflora*, a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GCMS) was used, installed at the Multiuser Laboratory of Instrumental Analysis (LAMAI), at the Curitibanos Campus of the Federal University of Santa Catarina. For the oil yield, there was no interaction between the factors. For the Time factor, there was no significant difference between treatments. The yield of the control treatment (Fresh leaves) was 0.5062 g/100g of dry vegetable mass and for dry leaves at 2 and 4 hours it was 0.8566 and 0.6584g/100g of dry material, respectively. For the temperature factor, the drying treatment at 60°C presented higher yield, while the treatment at 40°C presented a result statistically equal to the control. The drying treatment that obtained the highest yield of essential oil among trees from urban environments was used to compare with plant material from rural areas. Between rural and urban environments, there was no significant difference for income. The major chemical components found in the volatile oil of plant material from urban environments were the oxygenated sesquiterpene compounds germacrone and silphiperfol-6-en-5-one, followed by epi- α -muurolol, δ -cadinene and hynesol. The different drying treatments resulted in differences in the contents for most of the chemical components, being that for the germacrone the amount decreased with the drying treatment at 60°C for 4 hours and for the silphiperfol-6-en-5-one the different treatments did not result in significant differences. Differences were observed in the chemical profile of oil from leaves from rural and urban environments, with γ -cadinene and germacrene B found to be the majority for rural environments.

Keywords: Pitanga. Myrtaceae. Hidrodestillation.

SUMÁRIO

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 9 |
| 1.1 | OBJETIVOS..... | 10 |
| 1.1.1 | Objetivo Geral | 10 |
| 1.1.2 | Objetivos Específicos..... | 10 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 11 |
| 2.1 | A PITANGUEIRA – ASPECTOS GERAIS DA <i>Eugenia uniflora</i> | 11 |
| 2.1.1 | Morfologia e características botânicas da <i>Eugenia uniflora</i>..... | 12 |
| 2.1.2 | Biologia Reprodutiva da pitangueira | 14 |
| 2.1.3 | Aspectos fenológicos da pitangueira | 15 |
| 2.2 | ÓLEOS ESSENCIAIS | 15 |
| 2.2.1 | Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais | 16 |
| 2.2.2 | Breve histórico das pesquisas com óleos essenciais no Brasil..... | 17 |
| 2.2.3 | O mercado dos óleos essenciais no Brasil..... | 17 |
| 2.3 | MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS..... | 18 |
| 2.3.1 | Destilação por arraste a vapor | 18 |
| 2.3.2 | Hidrodestilação | 19 |
| 2.3.3 | Extração por solvente orgânico..... | 20 |
| 2.3.4 | Enfleurage | 21 |
| 2.3.5 | Prensagem de cítricos..... | 22 |
| 2.3.6 | Extração por dióxido de carbono supercrítico | 22 |
| 2.4 | CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO ESPECTÔMETRO DE MASSAS (GCMS)..... | 23 |
| 3 | METODOLOGIA | 25 |
| 3.1 | COLETA DO MATERIAL VEGETAL | 25 |
| 3.2 | DESCRIÇÃO DA ÁREA..... | 26 |
| 3.2.1 | Clima, território e população | 26 |
| 3.2.2 | Solos | 27 |
| 3.2.3 | Vegetação | 27 |
| 3.3 | SECAGEM E EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS | 27 |
| 3.4 | DETERMINAÇÃO DE MASSA SECA..... | 29 |
| 3.5 | DETERMINAÇÃO DE RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL | 30 |
| 3.6 | ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA | 31 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 3.7 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 32 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 4.1 | DETERMINAÇÃO DE RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL..... | 34 |
| 4.2 | CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL..... | 38 |
| 4.2.1 | Caracterização do óleo essencial das folhas de árvores em ambiente urbano.... | 38 |
| 4.2.2 | Diferenças na caracterização entre folhas de árvores de ambiente urbano e rural | 43 |
| 5 | CONCLUSÕES | 47 |
| | REFERÊNCIAS | 48 |

1 INTRODUÇÃO

A pitangueira é uma espécie frutífera nativa do Brasil, sendo encontrada em quase todo o território nacional, além de estar na Argentina, Paraguai e Uruguai. Possui adaptabilidade a quase todo tipo de solo (BEZERRA; SILVA JÚNIOR; LEDERMAN, 2018). Pertence à classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Myrtales, família Myrtaceae, gênero *Eugenia* e espécie *E. uniflora* L. (CRONQUIST, 1988). É ornamental, e por esse motivo é muito utilizada para arborização urbana, porém é presente em pomares domésticos por conta do seu fruto, que pode ser utilizado como alimento. É uma espécie recomendada para plantios de reflorestamento heterogêneos, visando a recomposição de áreas degradadas e fornecimento de alimento para a avifauna através do seu fruto (LORENZI, 1992).

Embora a espécie seja mais conhecida popularmente pelo uso dos seus frutos para consumo, as folhas detêm aroma devido à produção e acúmulo de óleo essencial. Os óleos essenciais são metabólitos secundários presentes em diversas partes de plantas em forma de pequenas gotas entre as células. São voláteis, com composição química complexa, e agem como hormônios reguladores e catalisadores, tendo como função de auxiliar a planta a se adaptar ao meio, além de atrair insetos polinizadores e repelir predadores (PINHEIRO, 2003). Algumas espécies apresentam óleo com atividade antimicrobiana, protegendo o tecido vegetal contra ataques de fungos e bactérias. Podem ser usados como importantes princípios ativos em produtos destinados ao tratamento para pessoas, por possuírem uma variedade de efeitos farmacológicos (MIRANDA *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2018).

O óleo essencial das folhas da pitangueira ainda é pouco explorado na agricultura familiar. Apesar de existirem estudos acerca dos óleos essenciais de *E. uniflora*, poucos abordam o efeito combinado da temperatura e tempo de secagem. Os processos de secagem são importantes quando se deseja preservar as características físico-químicas das folhas, pois devido à interrupção dos processos metabólicos que ainda ocorrem nas folhas frescas, o material apresenta maior estabilidade química (PIMENTEL *et al.*, 2008). A redução do teor de água promovida pela secagem diminui a atividade enzimática, diminuindo a velocidade de deterioração do material possibilitando a conservação das partes coletadas por maior tempo (LIMA *et al.*, 2008 *apud* CARVALHO *et al.*, 2015).

A problemática central do presente trabalho é observar como o tratamento de secagem das folhas interfere no rendimento e no perfil dos componentes químicos dos óleos essenciais. Para a extração do óleo essencial das folhas da pitangueira, ainda não se tem um consenso na literatura sobre a temperatura e o tempo ideal de secagem da espécie para melhores rendimentos

do óleo essencial, e os conflitos de resultados podem ser decorrentes das pesquisas serem feitas com material procedente de diferentes condições edafoclimáticas.

A primeira hipótese é que a secagem irá interferir no rendimento e no perfil dos componentes químicos do óleo, uma vez que esta diminui o teor de água e a atividade metabólica, reduzindo a deterioração biológica e química do material. Outra hipótese é que o rendimento e composição química terão respostas diferentes entre os ambientes urbanos e rurais, devido às diferenças edafoclimáticas, visto que em ambientes urbanos as árvores estão mais suscetíveis a situações de estresse e expostas à poluição do ar, enquanto que em ambientes rurais as árvores estão inseridas em ambientes com maior diversidade de espécies, sem estarem expostas à poluição.

Nesse sentido, o presente estudo reporta uma otimização da metodologia de extração do óleo essencial das folhas da pitangueira, combinando a temperatura e o tempo de secagem, usando o rendimento e perfil de componentes voláteis como resposta. A análise da composição química pode ajudar outros pesquisadores que desejam fazer alguma aplicação do óleo, seja para fins medicinais, perfumaria, sanitizantes ou cosméticos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Otimizar a extração do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* quanto à diferentes condições de secagem.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Extrair o óleo essencial das folhas de *E. uniflora*, através do método de hidrodestilação, sob diferentes condições de secagem das folhas.
- Avaliar a influência das diferentes condições de secagem das folhas sobre o rendimento e sobre o perfil de componentes voláteis do óleo essencial.
- Comparar o rendimento e a composição química dos óleos essenciais de árvores em áreas urbanas e rurais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A PITANGUEIRA – ASPECTOS GERAIS DA *Eugenia uniflora*

A família Myrtaceae é uma das maiores famílias botânicas, com aproximadamente 130 gêneros e 4.000 espécies, sendo uma das famílias mais complexas do ponto de vista taxonômico em razão do número de espécies. A distribuição se dá predominantemente em regiões tropicais e subtropicais (SOUZA; LORENZI, 2005; MANICA, 2002). Apresenta importância ecológica, pois seus frutos são suculentos e carnosos, servindo de alimento à fauna silvestre, que muitas vezes acabam dispersando as sementes e favorecendo a sobrevivência das espécies (PIZO, 2003 *apud* GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006). Esta família possui a maior riqueza de espécies nas florestas úmidas e no Cerrado do leste brasileiro, abrangendo cerca de 10-15% do total de espécies arbóreas nesses locais (LUCAS *et al.*, 2007). Dentre os gêneros da família Myrtaceae, quatro possuem importância econômica na fruticultura, sendo eles, *Eugenia*, *Acca*, *Plinia* e *Psidium* (MANICA, 2002).

A pitangueira pertence à classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Myrtales, família Myrtaceae, gênero *Eugenia* e espécie *E. uniflora* L. (CRONQUIST, 1988).

A *Eugenia uniflora* tem seu nome derivado do tupi “pi’tãg”, que quer dizer vermelho. É uma espécie frutífera nativa do Brasil, sendo encontrada em quase todo o território nacional, além de estar na Argentina, Paraguai e Uruguai. Possui adaptabilidade a quase todo tipo de solo. (BEZERRA; SILVA JÚNIOR; LEDERMAN, 2018). Habita os biomas Cerrado, Mata Atlântica e Pampa, em áreas antropizadas e nas formações florestais Cerrado, Floresta Ciliar ou Galeria, Floresta Estacional Perenifólia, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila, Floresta Ombrófila Mista e na Restinga, como indicado na Figura 1 (FLORA E FUNGA DO BRASIL, 2022).

Figura 1 – Distribuição geográfica da pitangueira no Brasil



Fonte: Flora e Funga do Brasil (2022).

A madeira da pitangueira (Figura 2) é dura, moderadamente pesada, compacta, resistente e de longa durabilidade natural. Dentre as utilidades, usa-se a madeira para confeccionar cabos de ferramentas e utensílios agrícolas. Por ser ornamental, a planta é frequentemente utilizada no paisagismo e amplamente cultivada em pomares domésticos para utilizar o fruto em fins alimentícios. Recomenda-se seu plantio em reflorestamentos heterogêneos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente, visando fornecer alimento para a avifauna (LORENZI, 1992).

Figura 2 – Madeira da pitangueira



Fonte: Lorenzi (1992).

2.1.1 Morfologia e características botânicas da *Eugenia uniflora*

Seu porte é pequeno, podendo ser arbustivo, com 2 a 4 metros, ou árvores sendo de 6 a 9 metros, ramificada, com copa arredondada de 3 a 6 metros de diâmetro curto (Figura 3), com folhagem persistente ou semidecídua, sendo opostas simples e com pecíolo. As folhas, ao serem maceradas, exalam um odor característico da espécie. O sistema radicular é profundo e com raízes pivotantes (SANCHOTENE, 1985; VILLACHICA *et al.*, 1996).

Figura 3 – Indivíduo de *Eugenia uniflora*



Fonte: O autor (2022).

Possui folhas dorsiventrals, hipoestomáticas (estômatos na face inferior), sendo os estômatos do tipo paracítico (duas células subsidiárias com seus eixos maiores dispostos paralelamente ao das células-guarda), com epiderme glabra (ALVES *et al.*, 2008). A forma da folha é elíptica, com base e ápices agudos, de textura cartácea (finas e rígidas) (Figura 4).

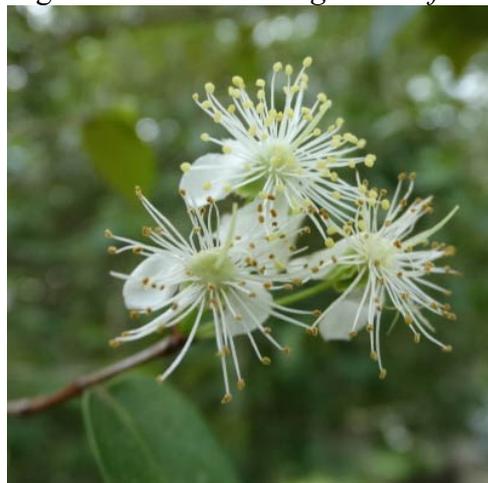
Figura 4 – Folhas de *Eugenia uniflora*



Fonte: Oliveira (2014).

As flores, apresentadas na Figura 5, são hermafroditas, solitárias ou fasciculadas. O cálice possui 4 sépalas oblongo-elípticas, sendo pequenas (2,5 a 4,0 mm de comprimento). A corola possui 4 pétalas brancas obovadas. Os estames são numerosos e o ovário é bilocular (dois lóculos), podendo ter até três óvulos, sendo glabro e com saliências. O estilete é filiforme, com 6 mm de comprimento e o estigma é captado (forma de cabeça) (SANCHOTENE, 1985; VILLACHICA *et al.*, 1996).

Figura 5 – Flores de *Eugenia uniflora*



Fonte: Museu Nacional – UFRJ (2022).

O fruto é uma baga globosa, do tipo drupa, contendo vitamina C e outros nutrientes (LORENZI, 2002), com 7-10 sulcos mais ou menos marcados no sentido longitudinal, de 1,5 a

5,0 centímetros de diâmetro, corado com as sépalas persistentes e com endocarpo avermelhado. No início do processo de maturação dos frutos o epicarpo muda de cor, passando do verde e indo para o amarelo, alaranjado, vermelho, podendo ficar com uma coloração escura (Figura 6). Possui endocarpo de coloração avermelhada, de 3 a 5 mm. Pode ter até 3 sementes, sendo globosas e achatadas, com o tegumento bastante aderente à amêndoa (FOUQUÉ, 1981; SANCHOTENE, 1985; VILLACHICA *et al.*,1996).

Figura 6 – Frutos da pitangueira



Fonte: SPDM (2015).

2.1.2 Biologia Reprodutiva da pitangueira

A pitangueira se propaga mais facilmente por sementes, embora a propagação vegetativa seja uma alternativa mais viável em casos de interesse comercial, para formar pomares com populações homogêneas. Para propagar por sementes, estas devem ser oriundas de frutos maduros e despulpadas, lavadas, secas à sombra e germinadas em sacos plásticos pretos de 12x16cm (duas por saquinho), usando como substrato uma mistura de terra e esterco de gado ou galinha, na proporção de 3:1 ou 6:1. No caso da propagação vegetativa, a planta se reproduz por enxertia do tipo garfagem, utilizando-se porta-enxerto da própria pitangueira com 9 ou 12 meses de idade, produzidos em sacos plásticos pretos de 25x35cm. Também é possível propagar por borbúlia e estaquia (BEZERRA; SILVA JÚNIOR; LEDERMAN, 2018).

A pitangueira necessita de insetos polinizadores para melhorar a frutificação, porém pode ser considerada auto fértil, pois o pólen germina e cresce no pistilo da própria flor, chegando até os óvulos ocorrendo sua fecundação (FRANZON, 2008). A frutificação pode ocorrer por geitonogamia, ocorrendo polinização com a transferência do pólen entre flores da mesma planta (SILVA-SANTOS *et al.*, 2006).

2.1.3 Aspectos fenológicos da pitangueira

A *Eugenia uniflora* apresenta padrão de floração em nível populacional, em massa e anual, com picos de emissões florais. Por uma semana, em média, os indivíduos produzem grande quantidade de flores. O florescimento ocorre no final do inverno, entre agosto a outubro, e o amadurecimento dos frutos ocorre entre setembro a novembro. Apresenta nova fenofase de floração entre fevereiro e março e novos frutos imaturos em abril. No entanto há eventos em que os indivíduos produzem flores o ano inteiro, porém em pequenas quantidades (SILVA-SANTOS *et al.*, 2006).

Possui poucas folhas de maio a junho e inicia nova brotação no período de aparecimento de botões florais, em agosto e fevereiro (ALVES *et al.*, 2010). A brotação nesta época está correlacionada com aumentos da temperatura média e do fotoperíodo (MARCHIORETTO; MAUHS; BUDKE, 2007).

Nota – se uma assincronia entre os indivíduos dentro das populações de pitangueira, sendo possível encontrar plantas na fase reprodutiva ao mesmo tempo em que se encontram indivíduos na fase vegetativa. Esta característica faz com que aumentem as chances de ocorrer polinizações cruzadas dentro da população, pois promove uma maior amplitude de forrageio dos polinizadores em busca de alimento (BAWA, 1983 *apud* SILVA; PINHEIRO, 2003).

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os óleos essenciais são metabólitos secundários presentes em diversas partes das plantas. Eles possuem composição química complexa e são voláteis. Podem ser usados como importantes princípios ativos em produtos destinados ao tratamento para pessoas, por possuírem uma variedade de efeitos farmacológicos (MIRANDA *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2018).

Os óleos essenciais enquadram-se no grupo dos Produtos Florestais Não Madeireiros (PFNM). Os PFNM são produtos florestais não-lenhosos de origem vegetal, tais como resina, cipó, óleos, sementes, plantas ornamentais, plantas medicinais, entre outros. Esses produtos são utilizados para diversos fins pelos povos extrativistas e também nos espaços urbanos, embora em menor intensidade, onde são comercializados em forma de alimento, medicamentos, cosméticos, utensílios, entre outros (EMBRAPA, 2012).

Estima-se que cerca de um bilhão de pessoas, principalmente de países subdesenvolvidos, dependem dos PFNM's para atender às suas necessidades primárias de saúde

e nutrição. Além disso, esses recursos trazem melhoria dos meios de subsistência e estimulam a conservação da floresta, trazendo benefícios ecológicos e sociais, principalmente para as mulheres dessas comunidades, em que se observa uma maior participação nesse tipo de atividade (ÁVILA *et al.*, 2020).

Presentes em forma de pequenas gotas entre as células de uma planta, os óleos essenciais agem como hormônios reguladores e catalisadores, tendo como função de auxiliar a planta a se adaptar ao meio. Em situações de perturbação, a planta pode ter sua produtividade de óleo aumentada (AZAMBUJA, 2012). Também exerce função de atrair insetos polinizadores e podem atuar como repelentes contra inimigos naturais, além de proteger o tecido vegetal do ataque de fungos e bactérias (PINHEIRO, 2003).

Os óleos essenciais são extraídos das plantas na grande maioria das vezes através da técnica de arraste de vapor, e também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos. São compostos principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos, responsáveis por suas características organolépticas. Existem muitos conglomerados internacionais que negociam óleos essenciais, sendo os mais importantes utilizando-os como matéria-prima para a produção de aromas e fragrâncias (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

As matérias-primas para a produção de óleos essenciais são as flores, folhas, cascas, raízes e frutos. Possuem grande aplicação na perfumaria, cosmética, alimentos e podem auxiliar em medicamentos. São utilizados principalmente em fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais. Pode ser comercializado na sua forma bruta ou beneficiada, sendo o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol substâncias purificadas (SILVA-SANTOS, 2006; CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993).

2.2.1 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

Os óleos essenciais, apesar das suas características de elevada volatilidade e de baixa solubilidade em solventes, apresentam capacidade de inibir o crescimento bacteriano e fúngico mesmo a baixas concentrações. Os óleos essenciais que demonstraram essa efetividade são ricos em aldeídos, álcoois e fenóis, compostos descritos na literatura como responsáveis pelos efeitos citotóxicos nos fungos e bactérias. No geral, as leveduras são mais suscetíveis à ação antimicrobiana do que as bactérias, sendo os mais tóxicos a esses microrganismos os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus*, de cravinho (*Syzygium aromaticum*) e o de orégano (*Origanum vulgare*) (MONTEIRO, 2015).

2.2.2 Breve histórico das pesquisas com óleos essenciais no Brasil

No Brasil, as primeiras pesquisas com óleos essenciais foram feitas por Theodor Peckolt, um farmacêutico natural da Silésia alemã (atual Polônia), que chegou ao Brasil em 1847. Suas pesquisas incluíam dados sobre rendimento e composição dos óleos (PINTO *et al.*, 2002).

Embora já houvessem estudos isolados sobre o assunto, o estudo sistemático de óleos essenciais no Brasil teve início na década de 40 se diversificando e expandindo na década de 50, no Instituto de Óleos (IO), sendo estudado o sassafrás (MACHADO, 1945 *apud* BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009), e no Instituto de Química Agrícola (IQA), avaliando o óleo de pau-rosa (GOTTLIEB; MAGALHÃES, 1958). Ambos institutos faziam parte do Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas (SNPA) e atualmente estão extintos, porém as pesquisas destas áreas foram incorporadas à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) (BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

Nos anos 50 foram conduzidos trabalhos de pesquisa com plantas aromáticas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC), resultando no surgimento da cultivar de menta IAC-701, levando o Brasil à liderança no fornecimento mundial de mentol no final da década de 1960 (HOPP; LAWRENCE, 2007).

Em 2009 foi fundada a Associação Brasileira de Produtores de Óleos Essenciais (ABRAPOE) objetivando aproximar os produtores e os centros de pesquisa nacionais para agregar qualidade aos óleos essenciais e, através de estudos padronizados, atualizar dados de mercado e representar a área junto aos órgãos e programas governamentais (BUENO *et al.*, 2021).

2.2.3 O mercado dos óleos essenciais no Brasil

A escassez de matérias-primas durante e após a Segunda Guerra Mundial impulsionou o desenvolvimento da indústria de óleos essenciais no Brasil. A China, grande fornecedora antes do início da guerra, permaneceu em conflito interno após 1945, prejudicando as exportações do produto. Sendo assim, as exportações de óleo de sassafrás, pau-rosa, menta e cítricos tiveram um avanço nas exportações no Brasil, sendo os óleos de menta e cítricos utilizados como subproduto na indústria de sucos (GUENTHER, 1956 *apud* BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

Nos anos 50 e início dos anos 60, período em que o Brasil passava por um processo de industrialização, diversas indústrias de alimentos e empresas produtoras de especialidades químicas se instalaram no Brasil, atendendo a demanda interna. Nesse período muitas empresas introduziram espécies aromáticas no país (GUENTHER, 1956 *apud* BIZZO; HOVEL; REZENDE, 2009).

Com a normalização da produção chinesa, a concorrência na exportação aumentou, sendo os preços chineses mais acessíveis. Este fato, aliado à falta de políticas nacionais para estimular a produção de óleos essenciais, fizeram com que houvesse uma queda drástica no mercado nacional do produto. Os óleos de cítricos não foram afetados, em razão da sua utilização como subprodutos da indústria de suco, bem estabelecida no Brasil e com foco na exportação (COPPEN, 1995).

Atualmente, o Brasil produz diversas espécies de plantas aromáticas, se destacando entre os quatro maiores produtores mundiais de óleos essenciais, junto com a Índia, China e a Indonésia. Esta posição de destaque se deve principalmente aos óleos essenciais dos cítricos, que como já mencionados, são utilizados como subprodutos da indústria de sucos (SNA, 2017).

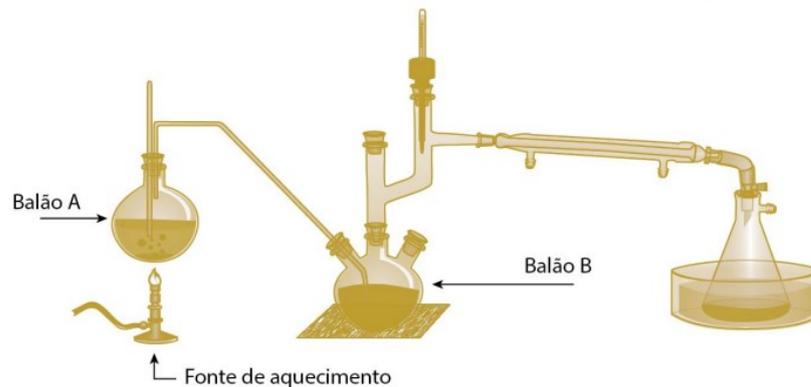
2.3 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS

2.3.1 Destilação por arraste a vapor

A destilação por arraste de vapor é um processo tradicional na obtenção dos óleos essenciais, a partir das folhas e caules de plantas aromáticas. Este método é muito utilizado na indústria, por ser barato ao se comparar com os métodos tecnológicos mais avançados, como, por exemplo, a extração com fluido supercrítico (CASSEL; VARGAS, 2006).

A destilação consiste na vaporização a temperaturas inferiores das de ebulição de cada um dos componentes voláteis por efeito de uma corrente direta de vapor de água. Os vapores de água gerados em um recipiente (caldeira, balão volumétrico) permeiam pelo material vegetal contido no extrator. Posteriormente, os óleos passam por um condensador, onde são resfriados, condensando-se, retornando assim ao estado líquido. Ao final do processo de extração é feita a separação entre as duas frações, em um processo de separação das misturas heterogêneas, denominado decantação, quando, em um recipiente, o óleo se separa da água por ser menos denso. A distribuição de matéria-prima no extrator deve ser feita de maneira que permita o maior contato superficial entre esta e o vapor (STEFFENS, 2010).

Figura 7 – Sistema de destilação por arraste a vapor



Fonte: Silva; Queirós; Benite (2018).

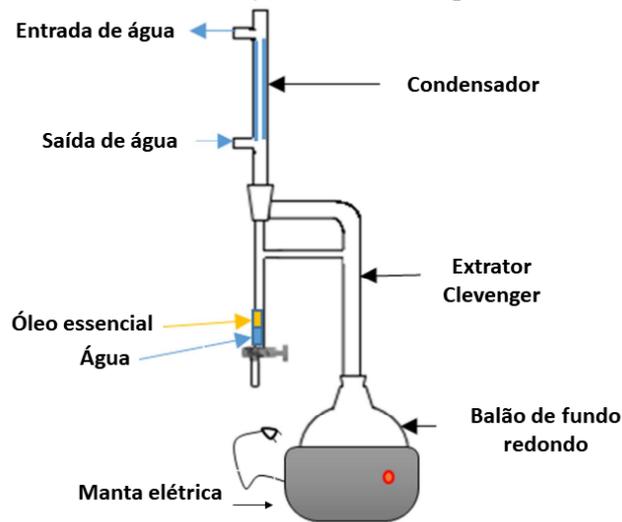
No esquema representado na Figura 7, o vapor produzido no balão A é conduzido ao balão B onde está o material com a substância menos volátil. O vapor de água condensa-se junto com o óleo extraído do balão B e depois são separadas em um Erlenmeyer por decantação. Este método é muito utilizado para extração de óleos essenciais de plantas aromáticas como alecrim, cravo, camomila, entre outros (SILVA; QUEIRÓS, BENITE, 2018).

No entanto, este método de extração tem algumas desvantagens, pois nesta técnica os constituintes dos óleos essenciais podem sofrer degradação térmica ou hidrólise, podendo alterar o aroma do óleo e conseqüentemente afetar a qualidade das fragrâncias, fazendo-as perder as características das plantas aromáticas (BANDONI, 2000).

2.3.2 Hidrodestilação

O princípio de extração neste método é o mesmo que na destilação por arraste a vapor, a diferença é que na hidrodestilação o material vegetal está imerso em água. No extrator a mistura é aquecida até a ebulição. O vapor força a abertura das paredes celulares e conseqüentemente ocorre a evaporação do óleo que está entre as células da planta (SILVA, 2011). A água e o óleo essencial se vaporizam, formando uma mistura homogênea. Em seguida os vapores de água e óleo são resfriados em um condensador, sendo liquefeitos, e após decantação da mistura, os óleos são separados em razão da diferença de densidade (WOLFFENBUTTEL, 2010). O processo está representado na Figura 8, no qual está sendo utilizado o aparato Clevenger modificado.

Figura 8 – Sistema de hidrodestilação utilizando aparato Clevenger modificado



Fonte: Adaptado de Rabeharitsara *et al.* (2016).

O aparato Clevenger foi criado para ser empregado na hidrodestilação, para extrair óleos essenciais de plantas. O nome foi intitulado em 1928, em homenagem ao seu inventor, Joseph Franklin Clevenger, nascido em 1874 e falecido em 1945 (DANG; QUIRINO, 2021). Na figura 8 é demonstrado o aparato modificado, um dos principais equipamentos utilizados na hidrodestilação.

A hidrodestilação é um método bastante versátil e eficiente, sendo a técnica mais utilizada em laboratório. Neste processo se evita a perda de compostos pela alta temperatura, porém tem a desvantagem de ser mais lenta e com menor rendimento (SILVEIRA *et al.*, 2012).

2.3.3 Extração por solvente orgânico

Esta técnica é utilizada quando o produto não pode ser obtido por nenhum outro processo ou para obtenção de um maior rendimento (GALVÃO, 2004). Para extrair o óleo bruto são utilizados solventes orgânicos polares (metanol, acetato de etila, etanol) ou apolares (éter de petróleo, hexano, diclorometano, éter etílico) (MORAES, 2012). O aparelho utilizado para fazer a extração é denominado Soxhlet, que realiza ciclos permitindo que uma quantidade de solvente puro passe várias vezes sobre a substância a que será extraída. O balão contendo o solvente é colocado numa manta de aquecimento (Figura 9) (SILVA, A. P. C, 2018).

Uma desvantagem da extração por solvente orgânico é a utilização de solventes tóxicos. Como os óleos essenciais são utilizados em alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos, isso acaba se tornando um problema. Além disso, os processos de remoção de

solvente após a extração geram custos energéticos, e na maioria das vezes é impossível a remoção completa dos solventes. Também há chances de perder os compostos voláteis durante o processo (BANDONI, 2000).

Figura 9 – Extrator Soxhlet, utilizado no método por extração por solvente orgânico



Fonte: Silva, A. P. C. (2018).

2.3.4 Enfleurage

Este método de extração se baseia em operações unitárias simples à absorção, filtração e a destilação (BIASI; DESCHAMPS, 2009). A extração é possível pelo fato do poder que a gordura tem em absorver os óleos essenciais devido às interações que acontecem entre as moléculas do óleo essencial e as da gordura (WOLFFENBUTTEL, 2010).

O método consiste na deposição das pétalas sobre uma camada de gordura, como mostra a Figura 10, à temperatura ambiente durante certo período de tempo. As pétalas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. Posteriormente o álcool é destilado à baixas temperaturas e o produto é obtido, possuindo alto valor comercial (SIMÕES *et al.*, 2003).

Já foi um método muito utilizado para extrair óleos essenciais (SIMÕES *et al.*, 2003), mas atualmente só é utilizado por algumas indústrias de perfumes, pois se trata de um método lento e caro. Emprega-se este método para a extração de óleos voláteis de pétalas de jasmim, laranjeira, rosas, entre outros (SILVEIRA *et al.*, 2012).

Figura 10 – Sistema de extração por enfleurage



Fonte: Silva, A. P. C. (2018).

2.3.5 Prensagem de cítricos

Também chamado de prensagem a frio, é o segundo método mais difundido no mundo, sendo utilizado para extrair os óleos essenciais de frutos cítricos. Através da utilização de prensas hidráulicas, ocorre a prensagem (esmagamento) do pericarpo do fruto que produz o suco e o óleo essencial. Posteriormente o óleo é separado do suco através de jatos d'água, formando uma emulsão (Figura 11) que é separada através de decantação, centrifugação ou destilação fracionada (LUPE, 2007).

Figura 11 – Extração de óleos essenciais por prensagem de cítricos



Fonte: Silveira *et al.* (2012).

2.3.6 Extração por dióxido de carbono supercrítico

Este método permite o ganho de produtos com alta qualidade e utilidades, preservando compostos termossensíveis. Ele não deixa componentes de solventes no produto e nem no resíduo sólido. Por esse motivo ele é muito utilizado para a produção de óleos essenciais destinado às indústrias farmacêuticas e de alimentos. O baixo custo do CO₂ também é uma vantagem deste método (LEAL, 2008).

Um fluido supercrítico é um fluido que está sob condições acima da temperatura e pressão crítica, ou seja, está em uma condição em que esta substância existe apenas na forma de gás, conhecida como condição supercrítica. O dióxido de carbono (CO₂) possui temperatura crítica de 31°C e pressão crítica a 7,3 Mpa (STEFANI, 2003).

O CO₂ é pressurizado no estado líquido, e passa por um aquecedor, onde tem sua temperatura aumentada, passando de líquido para supercrítico. O gás flui no sistema, onde passa pelos vasos de extração. Posteriormente o CO₂ e o óleo passam por uma válvula de expansão, onde são separados. Depois disso a pressão e a temperatura são reduzidas e o extrato precipita no frasco coletor. O CO₂ recircula no sistema (SILVA, M. C., 2018).

2.4 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GCMS)

A cromatografia gasosa se define como um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, sendo distribuídas em duas fases: fase estacionária contida na coluna cromatográfica e fase móvel, denominada gás de arraste. Esta fase contém os analitos a serem separados. Durante a passagem da fase móvel sobre a estacionária, os componentes do analito são distribuídos e retidos na fase estacionária conforme a afinidade físico-química, e depois são eluídos seletivamente para o analisador, resultando em migrações diferenciais para cada analito, cuja unidade é o Tempo de Retenção, medida em minutos (BUSTILLOS, 2020).

As partes de um cromatógrafo são: o injetor, coluna e detector, neste caso o espectrômetro de massa (MS) (Figura 12). A amostra é introduzida no injetor onde é vaporizada através do aumento da temperatura, sendo introdução direta para amostras gasosas. Os analitos no estado gasoso são carregados pelo gás de arraste para a coluna. A coluna capilar é constituída com fase estacionária interna, sendo polar ou apolar, dependendo da afinidade dos analitos. A coluna, com 30 metros de comprimento, fica condicionada num forno resistivo programável. A temperatura programada da coluna contribui para separação dos analitos devido as suas características (volatilidade, ponto de ebulição, peso molecular e estabilidade térmica). Cada espécie separada apresentará diferente tempo de retenção (RT), que ao chegar ao fim da coluna, segue para o espectrômetro (BUSTILLOS, 2020).

No espectrômetro de massa, as moléculas gasosas são ionizadas, geralmente para formar cátions, aceleradas por um campo elétrico e separadas de acordo com a sua massa. Este processo gera energia suficiente para quebrar a molécula em vários fragmentos. A quantidade de cada fragmento é mostrada em espectro de massa, representado por um gráfico. O eluato do

cromatógrafo passa diretamente dentro do espectrômetro de massa registrando a corrente total de todos os íons de todas as massas numa ampla faixa selecionada (STEFFENS, 2010).

Figura 12 – Esquema de cromatografia gasosa GC/MS



Fonte: Bustillos (2020).

De maneira geral, a cromatografia gasosa é aplicável para a separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis (STEFFENS, 2010).

3 METODOLOGIA

3.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL

As folhas da espécie *Eugenia uniflora* foram coletadas de árvores de áreas urbanas e propriedades rurais do município de Curitiba-SC e de uma propriedade rural do município de São José do Cerrito – SC, sendo o primeiro local de área urbana a praça pública Centenário (Figura 13), popularmente conhecida como “parque do capão”, localizada nas coordenadas 27°17'25.26” Sul e 50°34'47.08” Oeste a 991 metros de altitude acima do nível do mar. O segundo local de área urbana é de uma propriedade privada nas coordenadas 27°16'11.30” Sul e 50°35'15.90” Oeste, a uma altitude de 958 metros acima do nível do mar.

Figura 13 – Imagem aérea da Praça Centenário



Fonte: Google Earth (2022).

As folhas foram coletadas nos meses de março a junho de 2022, sempre no período da manhã, às 07:00h. Ao todo foram utilizadas 7 árvores das áreas urbanas, sendo 5 da praça Centenário e 2 de propriedade privada. As coletas das áreas urbanas ocorreram nas seguintes datas: 09/03/2022, 15/03/2022, 17/03/2022, 05/04/2022, 07/04/2022, 24/05/2022, 26/05/2022, 31/05/2022, 02/06/2022, 07/06/2022, 09/06/2022 e 27/06/2022. Totalizaram-se 12 coletas das áreas urbanas, em que as folhas dos dois locais foram misturadas e homogeneizadas para cada coleta.

A primeira propriedade rural em que foram feitas as coletas situa-se na comunidade da Lagoinha, no município de Curitiba – SC, nas coordenadas 27°17'25,26” Sul e 50°34'47,08” Oeste a 976 metros de altitude acima do nível do mar. A segunda propriedade rural em que foram feitas as coletas situa-se na comunidade do Salto Pery, no município de São

José do Cerrito - SC, denominada de “Sítio do Bugre” (Figura 14), nas coordenadas 27°27'43,00 Sul e 50°37'18” Oeste, com 910 metros de altitude.

Figura 14 – Imagem aérea do Sítio do Bugre



Fonte: Google Earth (2022).

Para as áreas rurais foram feitas duas coletas, nos dias 18/06/2022 e 19/06/2022, sendo coletadas folhas de 3 árvores da comunidade da Lagoinha e de 2 árvores Sítio do Bugre. As folhas dos dois locais foram misturadas e homogeneizadas.

Para a coleta de folhas de *Eugenia uniflora* foram necessários os materiais de corte: tesoura de poda, alicate de corte e podão. As folhas foram coletadas em sacos de coleta, acondicionadas em herbário e colocadas na geladeira, sendo assim mantidas até os processos de extração, que foram feitos à tarde, no mesmo dia da coleta.

3.2 DESCRIÇÃO DA ÁREA

3.2.1 Clima, território e população

O clima da região de Curitibaanos se classifica como Cfb – Temperado (mesotérmico úmido e verão ameno) de acordo com a classificação de Köppen, com temperatura média anual de 16 a 17°C e precipitação média anual de 1.600 mm (Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina – Cepa/SC, 2003). No período de inverno as geadas são frequentes, com nevadas esporádicas e de ocorrência localizada (PEREIRA, 2009).

O município possui uma extensão territorial de 949,865km² e população total aproximada de 40.037 pessoas com densidade demográfica de 39,79 hab/km² (IBGE, 2021).

3.2.2 Solos

O solo predominante da região de Curitibanos é do tipo Cambissolo (157,96 ha), com relevo ondulado e levemente ondulado, vindo em seguida o tipo Argissolo – Terras Brunas Estruturadas (129,83 ha), segundo o Instituto de Planejamento e Economia Agrícola de Santa Catarina – Cepa/SC (2003).

3.2.3 Vegetação

Curitibanos está inserido no bioma Mata Atlântica. A vegetação predominante é a Mata das Araucárias, também denominada como Floresta Ombrófila Mista. De acordo com estudo realizado por Klein (1978 *apud* GASPER *et al.*, 2013), a floresta de Araucárias possuía cobertura original de 42.851 km², chegando a cobrir cerca de 45% do estado de Santa Catarina. Atualmente registra-se a presença de menos de 25% dessa forma de vegetação. A composição florística dessa vegetação, é dominada por gêneros primitivos como *Drymis*, *Araucaria* e *Podocarpus* (SANTOS, 2016).

3.3 SECAGEM E EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

As folhas de pitangueira depois de coletadas foram transportadas ao laboratório de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, campus de Curitibanos – SC. As folhas das áreas urbana e rural foram separadas dos galhos e picotadas com o auxílio de uma tesoura e divididas em 4 bandejas de alumínio de 20 x 28cm. As bandejas foram transferidas para uma estufa com circulação e renovação de Ar (SL – 102, SOLAB) (Figura 15) e deixadas por tempo (2 e 4h) e temperaturas (40 e 60°C) pré-determinadas.

Figura 15 – Estufa com Circulação e Renovação de Ar SL – 102 (à esquerda fechada e à direita aberta)



Fonte: O autor (2022).

Para a extração do óleo, foram inseridas aproximadamente 100 g de folhas em balão de fundo redondo de 2L junto com quantidade suficiente de água destilada para cobrir o material vegetal. Foi empregada a técnica de hidrodestilação, utilizando aparato Clevenger modificado (Figura 16). O conteúdo foi aquecido por uma manta térmica da marca Fisatom modelo 202E, com capacidade de 2000 mL e 480W de potência. O equipamento montado para a extração de óleos essenciais está demonstrado na Figura 17. O tempo de extração utilizado foi de 1 hora e 30 minutos. O condensador do tipo serpentina foi montado para esfriar o vapor com o óleo. Para o fornecimento de água ao condensador foi utilizado um Banho Ultratermostático (SL – 152; SOLAB) (Figura 18), sendo programado para deixar a temperatura da água a 8°C. O procedimento de extração foi realizado em duplicata.

Figura 16 – Aparato Clevenger modificado



Fonte: O autor (2022)

Figura 17 – Montagem da manta térmica, balão volumétrico, Clevenger modificado e Condensador.



Fonte: O autor (2022).

Figura 18 – Banho Ultratermostático SL – 152



Fonte: O autor (2022).

O óleo essencial (Figura 19) foi coletado utilizando uma pipeta de Pasteur e transferido para um Eppendorf. O óleo obtido foi seco sob sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrado e transferido para outro Eppendorf para obtenção do rendimento. As amostras foram estocadas e postas em freezer (-20°C) até a realização das análises em CGMS.

Figura 19 – Processo de decantação



Fonte: O autor (2022).

3.4 DETERMINAÇÃO DE MASSA SECA

Para a determinação de massa seca (MS), foram utilizadas 2 bandejas com aproximadamente 30,0 g do material coletado. As amostras foram transferidas para estufa com

circulação e renovação de Ar a 50°C por 24h. A determinação da massa seca foi realizada para cada coleta, em duplicata. Para o cálculo da massa seca foi utilizada a seguinte equação 1.

$$MS = \frac{(mf_{B1} + mf_{B2})/2}{(mi_{B1} + mi_{B2})/2} * 100 \quad (1)$$

Onde:

MS = Índice de Massa Seca (%);

mi B1 = massa inicial das folhas frescas na Bandeja 1 (g);

mi B2 = massa inicial das folhas frescas na Bandeja 2 (g);

mf B1 = massa final das folhas após secagem na Bandeja 1 (g);

mf B2 = massa final das folhas após secagem na Bandeja 2 (g).

3.5 DETERMINAÇÃO DE RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para determinar o rendimento primeiro foi necessário determinar a massa de folhas em base seca, ou seja, a massa das folhas desconsiderando a umidade. Foi utilizada a equação 2.

$$BS = (MS * mfe) / 100 \quad (2)$$

Onde:

BS = massa das folhas em base seca (g);

MS = Índice de Massa Seca (%);

mfe = massa de folhas na extração (g).

Posteriormente, foi calculada a diferença da massa entre o Eppendorf vazio e o Eppendorf com o óleo para determinar a massa de óleo (g) que foi extraída. Foi aplicada a equação 3.

$$Re = \frac{BS}{MO} * 100 \quad (3)$$

Onde:

Re = Rendimento de óleo essencial (g.100g de massa seca);

BS = massa das folhas em base seca (g);

MO = massa de óleo extraída (g).

3.6 ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Para analisar os componentes químicos presentes no óleo essencial de *E. uniflora* foi utilizado o cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (GCMS, Agilent 7890A) (Figura 20), instalado no Laboratório Multiusuário de Análise Instrumental (LAMAI), no Campus de Curitiba da Universidade Federal de Santa Catarina.

Para a realização das análises, 10µl de óleo essencial e 2,5µl de limoneno (padrão interno) foram dissolvidos em 500µl de hexano. Esta solução foi então injetada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrografia de massa (GCMS, Agilent 7890A), equipado com injetor automático Combi Pal. Para a separação cromatográfica foi utilizada rampa de temperatura de 60°C, com 2 minutos de espera nesta temperatura, a 280°C a uma taxa de 8°C min⁻¹. Foi utilizado Hélio como gás de arraste a um fluxo de 1ml min⁻¹ e split de 50:1. O tempo total de cada análise foi de 29,5 minutos. A temperatura do injetor e da interface foi configurada para 300°C. O espectrômetro de massas foi operado à 70e V com scan de 40 a 400 m/z.

Para a caracterização dos componentes foram selecionados automaticamente (software G1701EA GC/MSD Chemstation) os picos com área mínima acima de 1% do maior pico. A identificação dos componentes químicos presentes nos óleos essenciais ocorreu por meio da comparação do espectro de massas e do índice de Kovats experimental (KI_{exp}) e espectro de massas e Índices de Kovats (KI_{teórico}) já reportados em Adams (2007). Para a determinação do Índice de Kovats experimental (KI_{exp}) 1 µL de solução contendo uma série de n-alcenos (C7-32, Sigma Aldrich) à 1000 µg L⁻¹ foi injetada no GCMS sob as mesmas condições que as amostras de óleo essencial. O índice de Kovats Experimental foi determinado conforme equação 4.

$$IK_{exp} = \frac{t_{rX} - t_{rN}}{t_{rN+1} - t_{rN}} + 100 * n \quad (4)$$

Onde:

IK_{exp} = Índice de Kovats Experimental;

t_{rX} = tempo de retenção do componente X;

t_{rN} = tempo de retenção do alcano N com t_{r} anterior ao componente X;

$t_r N_{+1}$ = tempo de retenção do alceno N com t_r posterior ao componente X;
 n = número de átomos de carbono do alceno N.

Figura 20 – Cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas



Fonte: O autor (2022).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O experimento foi montado em esquema fatorial 2x2 + testemunha, com 5 tratamentos, para o material vegetal proveniente de coletas de áreas urbanas. Como foi realizado em duplicata, totalizou 10 tratamentos. Os fatores foram a temperatura, com dois níveis, sendo de 40°C e 60°C; e o tempo de secagem, com dois níveis (2 e 4h). A extração das folhas frescas foi utilizada como testemunha, como é demonstrado na Tabela 1:

Tabela 1 – Montagem do experimento

| Temperatura | Tempo de secagem em horas |
|--------------------|----------------------------------|
| 40°C | 2 |
| | 4 |
| 60°C | 2 |
| | 4 |
| Testemunha | 0 (Folhas frescas) |

Fonte: O autor (2022).

Para os cálculos de determinação de massa seca e rendimento do óleo foi usado o software Microsoft Excel 2019 para processamento dos dados.

Para os componentes do óleo essencial, foram considerados 5 tratamentos: FF; 40_2; 40_4; 60_2 e 60_4 (folhas frescas, folhas secas a 40°C por 2 horas, folhas secas a 40°C por 4 horas, folhas secas a 60°C por 2 horas, folhas secas a 60°C por 4 horas). Cada componente foi avaliado individualmente. Foram analisados os componentes com coeficiente de variação menor de 15% e os majoritários. Foram ainda analisadas as diferenças na caracterização do perfil químico das folhas de indivíduos de ambiente rural e urbano. Para comparar os dois ambientes, as folhas foram tratadas com o tratamento de secagem que obteve maior rendimento para o ambiente urbano.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo utilizado o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Foi realizado o teste F para detectar diferença entre as médias e o teste de Tukey para avaliar os melhores tratamentos. Os softwares utilizados para fazer as análises estatísticas foram o R 4.2.0 e o RStudio 2022.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DE RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

Para a análise do rendimento dos óleos essenciais extraídos de folhas da pitangueira, se considerou as seguintes hipóteses:

H0 (Hipótese nula) = não existe diferença entre os tratamentos;

H1 (Hipótese alternativa) = existe pelo menos um tratamento diferente.

De acordo com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, a 5% de significância, os resíduos seguem uma distribuição normal, com valor “p” de 0.8642432, acima do valor de 0,05 (5% de significância).

Pelo teste F da ANOVA (Tabela 2), ao nível de 5% de significância, o fator Temperatura apresentou F calculado maior que o F tabelado e valor “p” menor do que 0,05, indicando diferença entre os tratamentos, rejeitando a hipótese nula (H0). Sendo assim, foi realizado o teste comparação de médias de Tukey.

Para o fator Tempo e para o efeito da interação entre os fatores, os valores “p” e os valores F calculados indicaram não haver interação significativa entre os fatores, ou seja, os efeitos do fator Temperatura não interferem nos efeitos do fator Tempo. Já o fator temperatura isolado influencia no rendimento em óleo.

Tabela 2 – Quadro de análise de variância

| Fonte de Variação | GL | SQ | QM | F calc. | F tab. | Valor p |
|---------------------|----|---------|---------|---------|--------|---------|
| Temperatura | 1 | 0,4141 | 0,41412 | 11,78 | 5,59 | 0.02647 |
| Tempo | 1 | 0,0786 | 0,07859 | 2,24 | 5,59 | 0.20915 |
| Temperatura x tempo | 1 | 0,0175 | 0,01745 | 0,50 | 5,59 | 0.51985 |
| Resíduo | 4 | 0,14058 | 0,03515 | | | |
| TOTAL | 7 | 0,65074 | | | | |
| CV = 24,75% | | | | | | |

Fonte: O autor (2022).

Pelo teste F da ANOVA, as médias para o fator Tempo, na Tabela 3, são estatisticamente iguais.

Tabela 3 – Resultado das médias para o fator Tempo

| Tempo (horas) | Médias (g/100g m.s.) |
|---------------|----------------------|
| 2 | 0,8566 |
| 4 | 0,6584 |
| Testemunha | 0,5062 |
| CV = 26,08% | |

Fonte: O autor (2022).

O teste de Tukey para o fator Temperatura indicou que as folhas secas a 60°C apresentaram médias de rendimento maiores do que as médias das folhas frescas e das folhas secas a 40°C, conforme mostra a Tabela 4.

Tabela 4 – Resultado do teste de Tukey para fator Temperatura

| Tratamentos | Médias (g/100g m.s.) |
|-------------|----------------------|
| 60°C | 0.9850 a* |
| 40°C | 0.530 b |
| Testemunha | 0,5062 b |
| CV = 40,05% | |

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Fonte: O autor (2022).

Para comparar o rendimento do óleo essencial do material proveniente de propriedades rurais e ambientes urbanos, foi escolhido o tratamento de secagem a 60°C por 2 horas, pelo fato da temperatura de 60°C resultar em melhores rendimentos.

De acordo com o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, a 5% de significância, os resíduos seguem uma distribuição normal, apresentando valor “p” de 0.3010579. De acordo com o teste de Bartlett a 5% de significância, as variâncias podem ser consideradas homogêneas, com valor “p” de 0.7658535, entre as médias do material urbano e rural.

Pelo teste F da ANOVA, ao nível de 5% de significância, as médias de rendimento do óleo para os dois ambientes são estatisticamente iguais (Tabela 5).

Tabela 5 – Resultado das médias entre os ambientes urbano e rural

| Tratamento | Médias (g/100g m.s.) |
|-----------------|----------------------|
| Ambiente rural | 0,7071 |
| Ambiente urbano | 1,1308 |
| CV = 25,99% | |

Fonte: O autor (2022).

Os resultados de cada tratamento de secagem para as coletas de área urbana estão apresentados na Tabela 6 e em forma de gráfico na Figura 21.

Tabela 6 – Rendimento de óleo essencial (g/100g m.s.) para cada tratamento (com desvio padrão)

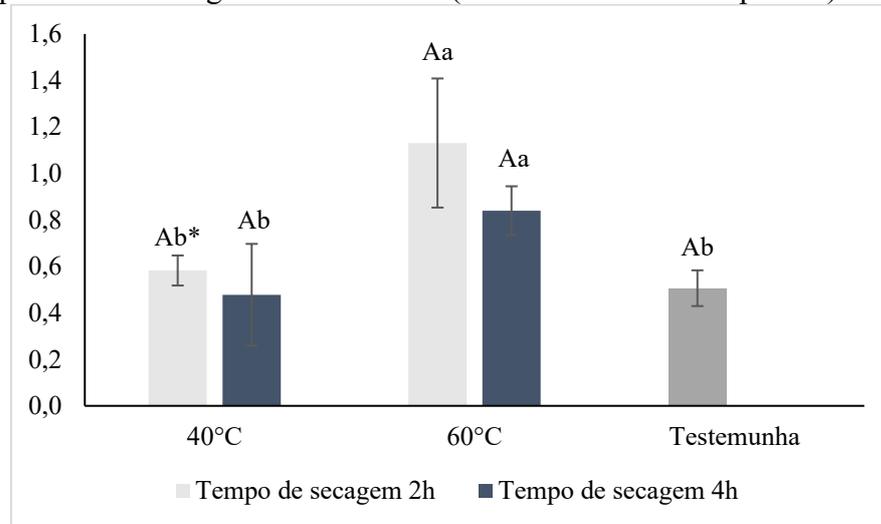
| Temperatura (°C) | Tempo de secagem (horas) | |
|------------------|--------------------------|---------------|
| | 2 | 4 |
| 40 | 0,5824 ± 0,06 | 0,4776 ± 0,22 |
| 60 | 1,1309 ± 0,28 | 0,8392 ± 0,11 |
| Testemunha | 0,5062 ± 0,08 | |

Fonte: O autor (2022).

Para as folhas frescas, o rendimento médio foi de 0,5062 g/100g de massa seca. Para as folhas secas na estufa a 40°C por 2 horas, o rendimento médio foi de 0,5824. Para as folhas secas a 40°C por 4 horas se obteve rendimento de 0,4776 g/100g de m.s. Já para as folhas secas a 60°C por 2 e 4 horas, os resultados foram de 1,1309 e 0,8392 g/100g de m.s., respectivamente.

Zotti (2012), ao estudar sobre a secagem e teor de óleo para as folhas de *E. uniflora*, também utilizando hidrodestilação para extrair óleos, obteve resultado de 0,3732 g/100g de m.s. para folhas frescas, inferior ao registrado no presente estudo. Porém, ao secar por 40°C, esta autora obteve resultado de 0,558 g/100g de m.s. para as folhas secas por aproximadamente 6,5 horas, que foi o tempo que a folha perdeu toda a umidade. Para a temperatura de secagem a 40°C, o resultado encontrado por essa autora é inferior ao tempo de secagem de 2 horas, porém é superior ao resultado do tempo de 4 horas registrado no presente trabalho. Para esta autora, o objetivo foi determinar as curvas de secagem a determinadas temperaturas e a influência da secagem nos teores de óleo, e não comparar os tempos de secagem. Porém, os resultados foram semelhantes com o presente trabalho apresentado.

Figura 21 – Gráfico do rendimento do óleo essencial em função do tempo de secagem, representados em gráfico de colunas (com linhas de desvio padrão)



*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Letras maiúsculas: Fator Tempo. Letras minúsculas: Fator Temperatura. Fonte: O autor (2022).

Silva (2012), também utilizando a hidrodestilação como método de extração e sem utilizar procedimentos de secagem, relatou seu rendimento em porcentagem em relação ao material submetido à extração, sendo de 0,2 % de óleo para as folhas de *E. uniflora*. Para efeitos de comparação, o resultado do presente trabalho para o rendimento das folhas frescas em porcentagem (relação entre massa de óleo/folhas frescas) fica 0,2140%.

Nascimento *et al.* (2015) avaliaram o rendimento dos óleos essenciais de folhas *E. uniflora* coletadas na floresta amazônica, avaliando o tempo de extração, com tratamento de secagem sobre telas em sala climatizada, nos meses de setembro de 2015 e janeiro de 2016. Foi utilizado o método de hidrodestilação. Estes autores relataram seus resultados em porcentagem (relação entre massa de óleo/folhas frescas), com média de 1,55% para o mês de setembro, e 2,03 % para o mês de janeiro. Também relataram que o rendimento aumenta conforme o tempo de extração, sendo o tempo de 4 horas o que mais teve rendimento. O maior rendimento encontrado por esses autores pode ser explicado pelo fato da maior umidade relativa do ar na secagem utilizada, no qual as folhas não foram submetidas à altas temperaturas. Em razão da volatilidade dos óleos essenciais, pode ter se perdido certa quantidade dos mesmos nos tratamentos de secagem em estufa.

Poletti *et al.* (2010), ao extraírem o óleo essencial de folhas frescas de *E. uniflora*, utilizando a hidrodestilação como método de extração, relataram o rendimento em porcentagem (relação entre óleo/folhas frescas), sendo de 0,2747%. Estes autores também utilizaram a hidrodestilação como método de extração. Este resultado se assemelha com o resultado do presente trabalho, comparando com o rendimento das folhas frescas coletadas às 07:00h, que

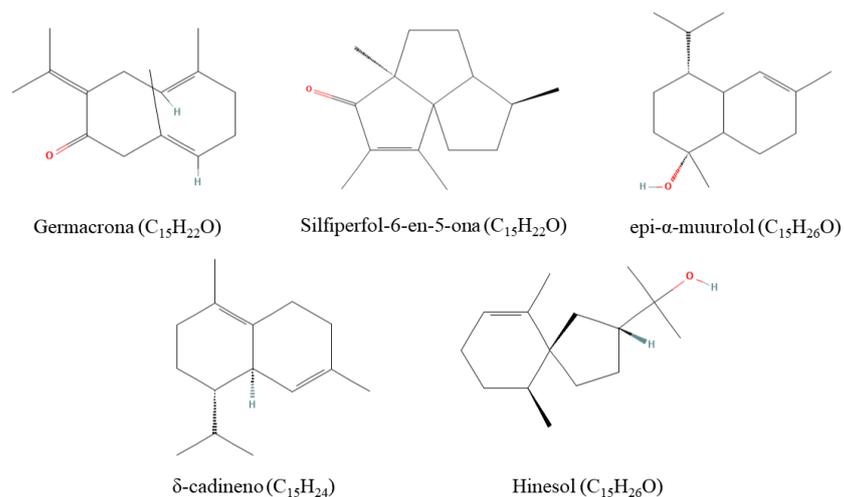
foi de 0,506 g/100g de MS. Este valor em porcentagem em relação ao material submetido à extração fica 0,2140%.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

4.2.1 Caracterização do óleo essencial das folhas de árvores em ambiente urbano

Os resultados indicam que os componentes majoritários das folhas de *E. uniflora* para o município de Curitiba, considerando os ambientes urbanos são: germacrona, silfiperfol-6-en-5-ona, epi- α -muurolol, δ -cadineno e hinesol, sendo pertencentes à classe dos sesquiterpenos (Figura 22). Do total dos componentes voláteis, 39,0% pertencem à classe dos sesquiterpenos não oxigenados e 22,0% à classe dos sesquiterpenos oxigenados. A composição química do óleo essencial das folhas de pitangueira consta na Tabela 7, onde foram observados 41 picos, dos quais 28 foram identificados com base na comparação dos espectros de massas e do índice de retenção de Kovats, sendo TR = tempo de retenção; IK_{exp} = Índice de Kovats experimental; $IK_{teórico}$ = Índice de Kovats teórico.

Figura 22 – Estrutura molecular dos compostos majoritários das folhas de *E. uniflora* coletadas nos ambientes urbanos do município de Curitiba-SC



Fonte: Adaptado de PubChem (2022).

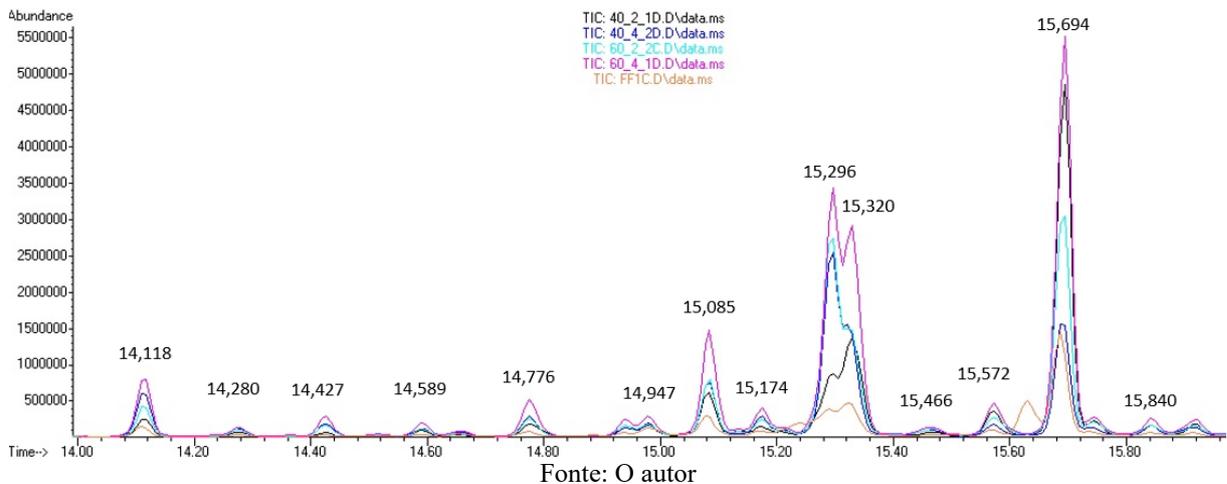
Tabela 7 – Compostos com picos com área mínima acima de 1% do maior pico

| | Composto | TR (minutos) | IK _{exp} | IK _{teórico} | Classe |
|-----------|-------------------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|-----------|
| 1 | cis-3-hexenol* | 3,859 | - | 859 | Álcool |
| 2 | δ-elemeno | 12,696 | 1346 | 1338 | SH |
| 3 | α-cubebeno | 12,908 | 1359 | 1351 | SH |
| 4 | α-copaeno | 13,371 | 1386 | 1377 | SH |
| 5 | NI | 13,614 | 1399 | - | - |
| 6 | α-gurjureno | 13,947 | 1421 | 1410 | SH |
| 7 | NI | 14,118 | 1432 | - | - |
| 8 | γ-elemeno | 14,280 | 1443 | 1437 | CH |
| 9 | Aromadendreno | 14,427 | 1452 | 1441 | SH |
| 10 | cis-muurolo-3,5-dieno | 14,589 | 1462 | 1450 | SH |
| 11 | Cariofileno-9-epi-(E) | 14,776 | 1474 | 1466 | SH |
| 12 | NI | 14,947 | 1485 | - | - |
| 13 | γ-muurolo | 14,979 | 1487 | 1480 | SH |
| 14 | trans-muurolo-4(14),5-dieno | 15,085 | 1493 | 1494 | SH |
| 15 | cis-β-guaieno | 15,174 | 1498 | 1493 | SH |
| 16 | Curzereno | 15,296 | 1507 | 1499 | SO |
| 17 | NI | 15,320 | - | - | - |
| 18 | NI | 15,466 | 1518 | - | - |
| 19 | γ-cadineno | 15,572 | 1526 | 1514 | SH |
| 20 | δ-cadineno | 15,694 | 1524 | 1523 | SH |
| 21 | trans-cadina-1(2),4-dieno | 15,840 | 1536 | 1535 | SH |
| 22 | α-cadineno | 15,921 | 1542 | 1539 | SH |
| 23 | α-calacoreno | 16,019 | 1549 | 1546 | SH |
| 24 | Ocidentalol | 16,084 | 1554 | 1552 | SHOH |
| 25 | Germacreno B | 16,262 | 1568 | 1561 | SH |
| 26 | NI | 16,417 | 1580 | - | - |
| 27 | NI | 16,555 | 1590 | - | - |
| 28 | Khusimona (8) | 16,661 | 1598 | 1604 | SO |
| 29 | NI | 16,782 | 1607 | - | - |
| 30 | NI | 16,904 | 1615 | - | - |
| 31 | di-epi-1,10-cubenol | 17,278 | 1642 | 1619 | SO |
| 32 | Silfiperfol-6-en-5-ona | 17,392 | 1650 | 1626 | SO |
| 33 | Hinesol | 17,465 | 1656 | 1642 | SO |
| 34 | epi-α-muurolol | 17,660 | 1669 | 1642 | SO |
| 35 | NI | 17,855 | 1683 | 1694 | - |
| 36 | NI | 17,960 | 1690 | 1694 | - |
| 37 | Eudesma-4(15),7-dien-1β-ol | 18,188 | 1706 | 1688 | SO |
| 38 | Germacrona | 18,310 | 1716 | 1694 | SO |
| 39 | NI | 19,284 | 1788 | - | - |
| 40 | Acetato de khusinol | 19,829 | 1830 | 1824 | SO |
| 41 | NI | 22,932 | 2084 | - | - |

*Caracterizado com auxílio da base de dados do software (NIST); NI = Não Identificado; SH = Hidrocarboneto sesquiterpênico; SO = Sesquiterpeno oxigenado, CH = Hidrocarboneto monocíclico; SHOH = Álcool sesquiterpeno. Fonte: O autor (2022).

A Figura 23 corresponde a sobreposição dos cromatogramas, no intervalo de 14 a 16 minutos, do óleo essencial nos diferentes tratamentos de ambiente urbano, com seus respectivos tempos de retenção (40_2_1D = folhas secas a 40°C por 2 horas; 40_4_2D = folhas secas a 40°C por 4 horas; 60_2_2C = folhas secas a 60°C por 2 horas e 60_4_1D = folhas secas a 60 °C por 4 horas; FF1C = folhas frescas).

Figura 23 – Cromatograma de íons totais com sobreposição dos resultados em diferentes tratamentos, com seus tempos de retenção



Costa (2009) comparou os componentes de 3 grupos de cidades diferentes do estado de Goiás, e ao analisar o óleo extraído de folhas frescas, também encontrou a germacrona como constituinte majoritário, com 17,3% da composição do óleo. No entanto, o germacreno B foi relatado com 21,6% e o curzereno com 20,5% para o grupo I. Para o grupo II, este autor encontrou a Germacrona e o Curzereno (13,5 e 42,6%), enquanto que a selina-1,3,7(11)-trien-8-ona foi encontrada como majoritária para o grupo III, com 48,2%.

A germacrona e o germacreno B foram relatados por Santos *et al.* (2014), nas taxas de 34,6 e 12,7% em folhas jovens. O curzereno também foi reportado como majoritário, com 26,5% em folhas jovens e 35,7% em folhas maduras.

Nascimento *et al.* (2015), ao extraírem óleo de folhas secas de *E. uniflora* da cidade de Belém – PA, em diferentes tempos de extração e diferentes épocas (setembro de 2015 e janeiro de 2016), relataram os sesquiterpenos oxigenados selina-1,3,7(11)-trien-8-ona e epóxido de selina-1,3,7(11)-trien-8 (com médias de 27,0 e 19,9%), e os sesquiterpenos não oxigenados (E)-cariofileno e γ -elemeno (com médias de 5,6 e 8,9%) como majoritários.

Santos *et al.* (2015), ao analisarem a composição química das folhas jovens e maduras de pitangueira, coletadas no município de Seropédica – RJ, encontraram como majoritários o curzereno (22,4% para folhas jovens), o furanodieno (19,0% para folhas jovens), o germacreno B (14,39% para folhas jovens) e a germacrona (37,9% para folhas maduras) como compostos majoritários. Estes autores relataram os resultados em porcentagem de área.

No atual trabalho apresentado, o germacreno B foi encontrado com 1,4% e o curzereno com 3,05% para folhas frescas, sem fazer parte dos majoritários. A selina-1,3,7(11)-trien-8-ona, composto encontrado como majoritário por Costa (2009), Nascimento *et al.* (2015) e Cipriano (2019), não foi encontrada no presente trabalho. Os constituintes (E)-cariofileno e γ -elemeno foram encontrados, mas como minoritários.

A germacrona, composto aqui encontrado como majoritário também é relatado com importância pelos autores Costa (2009), Santos *et al.* (2014), Santos *et al.* (2015), Lopes (2008) e Cipriano (2019). Este último autor citou resultados de compostos majoritários semelhantes ao presente trabalho, em que o epi- α -muurolool (10,2%), δ -cadineno (9,9%) e germacrona (18,58%) foram relatados. O autor também relata selina-1,3,7(11)-trien-8-ona (29,4%) como composto majoritário. O hinesol, composto aqui relatado entre os majoritários, com 6,5 % para folhas frescas, foi encontrado por Lopes (2008) com 3,2%.

Este é o primeiro relato em que a substância silfiperfol-6-en-5-ona aparece como constituinte majoritário no óleo essencial das folhas de *E. uniflora*. A biossíntese e acúmulo deste componente nas folhas da pitangueira podem estar relacionados às condições edafoclimáticas do município de Curitiba – SC.

Os componentes majoritários ou que apresentaram coeficiente de variação menor do que 15% estão listados na Tabela 8. Os resultados estão reportados em porcentagem.

Tabela 8 – Compostos majoritários (%) ou com coeficiente de variação menor que 15%

| Compostos | Tratamentos | | | | |
|---|---------------------|---------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
| | FF | 40_2 | 40_4 | 60_2 | 60_4 |
| δ -elemeno | 0,11 \pm 0,01 b* | 0,08 \pm 0,02 b | 0,12 \pm 0,01 b | 0,11 \pm 0,02 b | 0,15 \pm 0,01 a |
| Cariofileno-9-epi-(E) | 0,57 \pm 0,07 b | 0,45 \pm 0,08 b | 0,56 \pm 0,04 b | 0,42 \pm 0,09 b | 0,87 \pm 0,08 a |
| trans-murolo-4(14),5-dieno | 1,78 \pm 0,28 b | 1,24 \pm 0,19 b | 1,36 \pm 0,06 b | 1,3 \pm 0,39 b | 2,74 \pm 0,75 a |
| Curzereno | 3,05 \pm 0,74 ab | 2,08 \pm 1,46 b | 3,98 \pm 0,12 a | 3,14 \pm 0,32ab | 4,12 \pm 0,26 a |
| NI | 3,44 \pm 0,62 ab | 3,32 \pm 0,86 abc | 2,51 \pm 0,23 bc | 2,26 \pm 0,46 c | 4,21 \pm 0,12 a |
| NI | 0,22 \pm 0,04 | 0,2 \pm 0,04 | 0,24 \pm 0,02 | 0,23 \pm 0,04 | 0,29 \pm 0,05 |
| γ -cadineno | 0,63 \pm 0,15 a | 0,66 \pm 0,06 a | 0,39 \pm 0,14 b | 0,38 \pm 0,05 b | 0,74 \pm 0,06 a |
| δ-cadineno | 7,65 \pm 1,86 a | 7,58 \pm 0,6 a | 3,95 \pm 1,3 b | 3,69 \pm 0,58 b | 8,38 \pm 0,83 a |
| trans-cadina-1(2),4-dieno | 0,31 \pm 0,06 b | 0,28 \pm 0,00 b | 0,23 \pm 0,04 b | 0,23 \pm 0,04 b | 0,51 \pm 0,16 a |
| α -cadineno | 0,36 \pm 0,05 ab | 0,34 \pm 0,02 b | 0,32 \pm 0,02 b | 0,24 \pm 0,02 c | 0,4 \pm 0,01 a |
| α -calacoreno | 0,18 \pm 0,04 bc | 0,16 \pm 0,02 c | 0,28 \pm 0,01 a | 0,2 \pm 0,02b c | 0,23 \pm 0,05ab |
| Ocidentalol | 1,22 \pm 0,63 | 1,26 \pm 0,39 | 1,72 \pm 0,15 | 1,33 \pm 0,39 | 1,48 \pm 0,42 |
| Germacreno B | 1,39 \pm 0,33 | 1,11 \pm 0,02 | 1,64 \pm 0,15 | 1,37 \pm 0,39 | 1,46 \pm 0,05 |
| NI | 2,49 \pm 0,55 | 2,72 \pm 0,23 | 3,14 \pm 0,11 | 2,8 \pm 0,22 | 2,22 \pm 0,69 |
| Cubanol<1,10-di-epi-> | 0,74 \pm 0,05 | 0,83 \pm 0,08 | 0,78 \pm 0,07 | 0,73 \pm 0,13 | 0,78 \pm 0,06 |
| Silfiperfol-6-en-5-ona | 18,57 \pm 1,22 | 16,58 \pm 1,09 | 21,74 \pm 0,98 | 24,27 \pm 2,07 | 23,43 \pm 8,65 |
| Hinesol | 6,49 \pm 0,37 ab | 7,97 \pm 0,91 a | 4,24 \pm 0,34 b | 4,22 \pm 1,83 b | 5,21 \pm 1,01 b |
| epi-α-muurolol | 10,64 \pm 0,17 ab | 12,37 \pm 0,54 a | 6,57 \pm 0,37 c | 6,6 \pm 2,96 d | 8,11 \pm 2,9 bc |
| NI | 0,65 \pm 0,08 ab | 0,72 \pm 0,05 ab | 0,8 \pm 0,06 a | 0,79 \pm 0,1 a | 0,56 \pm 0,17 b |
| Eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol | 5,5 \pm 4,08 | 5,35 \pm 2,6 | 7,03 \pm 1,6 | 4,95 \pm 1,73 | 4,06 \pm 2,73 |
| Germacrona | 22,85 \pm 2,37 a | 24,69 \pm 3,73 a | 23,97 \pm 2,53 a | 28,13 \pm 0,69a | 15,74 \pm 2,48b |

FF= folhas frescas; 40_2 = folhas secas a 40°C por 2 horas; 40_4 = folhas secas a 40°C por 4 horas; 60_2 = folhas secas a 60°C por 2 horas; 60_4 = folhas secas a 60°C por 4 horas.

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si para cada componente, ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey. Fonte: O autor (2022).

Ao analisar os resultados para os diferentes tratamentos, se observa que para a maioria dos compostos o tratamento 60_4 obteve maiores percentuais. Embora para o rendimento do teor de óleo o fator tempo não ter expressado diferenças significativas, para os componentes químicos é possível observar diferenças para as folhas secas por 2 e 4 horas a 60°C em estufa.

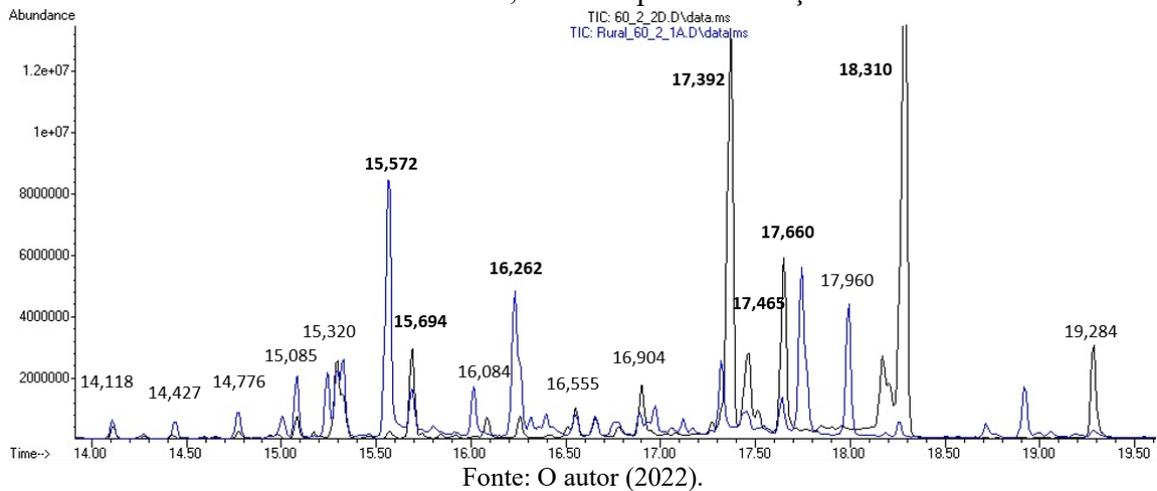
Para 7 compostos, os diferentes tratamentos não interferiram no teor, incluindo para o constituinte majoritário silfiperfol-6-en-5-ona. Para a germacrona, o teor diminuiu para o tratamento 60_4, indicando que a intensidade de secagem pode diminuir a quantidade deste constituinte.

Para o epi- α -muurolol e o hinesol, os tratamentos FF e 40_2 apresentaram maiores teores.

4.2.2 Diferenças na caracterização entre folhas de árvores de ambiente urbano e rural

A Figura 24 corresponde a sobreposição dos cromatogramas do óleo essencial das folhas de ambiente urbano e ambiente rural, com seus respectivos tempos de retenção. Os tempos de retenção dos componentes majoritários dos dois ambientes estão destacados em negrito, sendo o δ -cadineno, γ -cadineno, germacreno B, silfiperfol-6-en-5-ona hinesol, epi- α -muurolol e germacrona, da esquerda para a direita.

Figura 24 – Cromatograma de íons totais com sobreposição dos resultados nos ambientes urbano e rural, com tempos de retenção



A tabela 9 reporta as diferenças nas quantidades de cada constituinte no óleo essencial para os ambientes urbano e rural. Os componentes analisados foram os majoritários ou que apresentaram coeficiente de variação menor que 15% entre as repetições de cada tratamento. Os resultados estão reportados em porcentagem. Os compostos que não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos estão com os valores “p” destacados.

Tabela 9 – Diferenças dos componentes entre ambiente urbano e rural.

| Compostos | Tratamentos | | Valor “p” |
|---|------------------|------------------|------------------------|
| | Urbano | Rural | |
| δ -elemeno | 0,11 \pm 0,02 | 0,13 \pm 0,02 | 0.16348 |
| Cariofileno-9-epi-(E) | 0,42 \pm 0,09 | 1,56 \pm 0,09 | 1.5175e ⁻⁰⁶ |
| trans-murolo-4(14),5-dieno | 1,3 \pm 0,39 | 3,54 \pm 0,14 | 3.6464e ⁻⁰⁵ |
| Curzereno | 3,14 \pm 0,32 | 3,79 \pm 0,34 | 0.030573 |
| <i>NI</i> | 2,26 \pm 0,46 | 7,25 \pm 1,94 | 0,024431 |
| <i>NI</i> | 0,23 \pm 0,04 | 0,3 \pm 0,03 | 0,037917 |
| γ -cadineno | 0,38 \pm 0,05 | 16,79 \pm 0,31 | 5.1261e ⁻¹¹ |
| δ-cadineno | 3,69 \pm 0,58 | 3,22 \pm 0,05 | 0.15687 |
| trans-cadina-1(2),4-dieno | 0,23 \pm 0,04 | 0,93 \pm 0,14 | 7.1177e ⁻⁰⁵ |
| α -cadineno | 0,24 \pm 0,02 | 0,51 \pm 0,05 | 5.0322e ⁻⁰⁵ |
| α -calacoreno | 0,2 \pm 0,02 | 2,85 \pm 0,23 | 4.2042e ⁻⁰⁷ |
| Ocidentalol | 1,33 \pm 0,39 | 0,34 \pm 0,05 | 0.0024329 |
| Germacreno B | 1,37 \pm 0,39 | 11,81 \pm 0,48 | 4.4368e ⁻⁰⁸ |
| <i>NI</i> | 2,8 \pm 0,22 | 1,34 \pm 0,07 | 1.5526e ⁻⁰⁵ |
| di-epi-1,10-cubenol | 0,73 \pm 0,13 | 0,48 \pm 0,11 | 0.025972 |
| Silfiperfol-6-en-5-ona | 24,27 \pm 2,07 | 5,43 \pm 0,53 | 2.124e ⁻⁰⁶ |
| Hinesol | 4,22 \pm 1,83 | 2,73 \pm 0,07 | 0.15562 |
| epi-α-muurolol | 6,6 \pm 2,96 | 2,69 \pm 0,1b | 0.038764 |
| <i>NI</i> | 0,79 \pm 0,1 | 12,31 \pm 0,38 | 1.7537e ⁻⁰⁹ |
| Eudesma-4(15),7-dien-1 β -ol | 4,95 \pm 1,73 | 0,36 \pm 0,03b | 0.0018171 |
| Germacrona | 28,13 \pm 0,69 | 1,35 \pm 0,44b | 8.8307e ⁻¹⁰ |

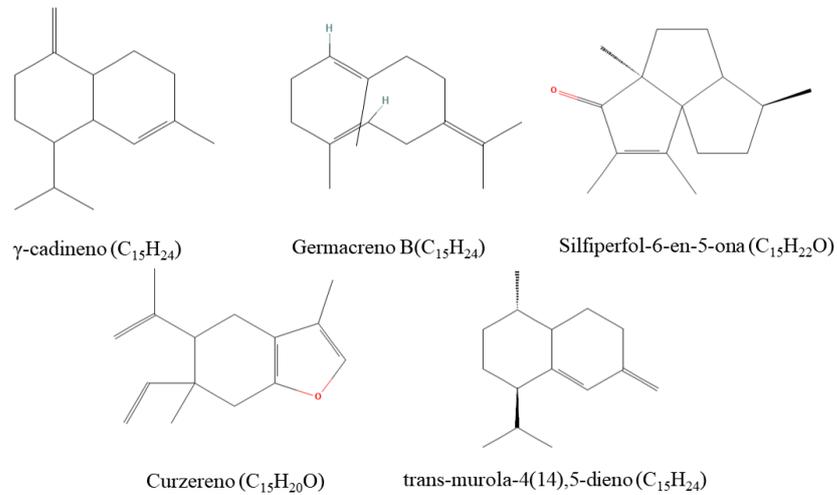
Fonte: O autor (2022)

Para a composição do óleo das folhas de ambiente rural, os 5 componentes majoritários identificados foram: γ -cadineno (16,79%), germacreno B (11,81%), silfiperfol-6-en-5-ona, curzereno (3,79%) e trans-murolo-4(14),5-dieno.

Nota-se através da Tabela 9 que a maioria dos componentes químicos foram encontrados em maior quantidade no ambiente rural (52,4%). Para o ambiente urbano, 33,3% dos compostos foram encontrados com maior porcentagem. Entre os majoritários, apenas a germacrona e o silfiperfol-6-en-5-ona apareceram em maiores quantidades no ambiente urbano. Para apenas 3 componentes (14,3%) os ambientes não interferiram significativamente (δ -elemeno, δ -cadineno e hinesol).

Na Figura 25, são apresentados os compostos majoritários identificados encontrados no óleo essencial das folhas de pitangueira.

Figura 25 – Estrutura molecular dos compostos majoritários das folhas de *E. uniflora* coletadas em áreas rurais nos municípios de Curitibaanos e São José do Cerrito -SC



Fonte: Adaptado de PubChem (2022)

O γ -cadineno foi o constituinte majoritário, contrastando com o resultado encontrado para ambientes urbanos, em que esta substância ocorreu com 0,38%. Cipriano (2019), ao estudar diferentes genótipos de *E. uniflora*, relatou esta substância, porém em baixas quantidades, resultando na média de 0,17% para os genótipos estudados.

O germacreno B, encontrado em baixas quantidades para ambientes urbanos, ocorreu entre os majoritários para os ambientes rurais. O curzereno, apesar da baixa concentração (3,79%), ficou entre os majoritários identificados. Autores já citados como Costa (2009), Santos *et al.* (2014) e Santos *et al.* (2015) também encontraram o germacreno B e o curzereno como constituintes majoritários em folhas de *E. uniflora*.

O silfiperfol-6-en-5-ona foi encontrado com 5,43% em ambientes rurais. Apesar de estar entre os majoritários identificados, há uma diferença considerável para o valor encontrado nos tratamentos de áreas urbanas. Tal diferença também ocorreu com a germacrona, aparecendo como minoritária para ambientes rurais.

Segundo Stefanello, Pascoal e Salvador (2011), os compostos sesquiterpênicos são predominantes na maioria das espécies da família Myrtaceae, sendo responsáveis por suas propriedades biológicas. As espécies que apresentam tais compostos como majoritários no óleo essencial possuem forte efeito antioxidante (THEANPHONG; MINGVANISH; KIRDMANEE, 2015) atividades antimicrobiana e antiparasítica (LAGO *et al.*, 2011), ações inibitórias no crescimento de células tumorais (PEREIRA *et al.*, 2017) e efeitos anti-hipertensivos (KUMAR *et al.*, 2017) também são atribuídas a esta classe de compostos.

É importante ressaltar que fatores edafoclimáticos, além de fatores como época e local de coleta e métodos de obtenção podem interferir nos resultados rendimento e composição química e justificar a diferença entre amostras de óleos essenciais obtidas da mesma espécie (DORTA, 2021).

5 CONCLUSÕES

O fator tempo, com os tempos de secagem de 2 e 4 horas e a testemunha (folhas frescas) não obtiveram diferença significativa para o rendimento do óleo essencial das folhas de *E. uniflora*. No entanto, para o fator temperatura, o tratamento de secagem a 60°C resultou em maior rendimento. A extração de folhas secas a 40°C e de folhas frescas não resultaram diferenças significativas. Conclui-se que a secagem a 60°C, independente do tempo de 2 ou 4 horas, foi o melhor tratamento visando o rendimento do óleo volátil. Entre os ambientes rurais e urbanos, não houve diferença significativa para o rendimento de óleo, mas houveram diferenças significativas entre os componentes.

Os componentes majoritários encontrados para os tratamentos com folhas de árvores urbanas foram a germacrona, silfiperfol-6-en-5-ona e o epi- α -muurolol, e para árvores rurais foram o γ -cadineno, o germacreno B e o silfiperfol-6-en-5-ona, pertencentes à classe dos sesquiterpenos. Os diferentes tratamentos de secagem interferiram na composição do óleo essencial. Embora para o rendimento o tempo não tenha expressado diferença significativa, para o perfil da composição química do óleo foi um fator crucial.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4th ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007.
- ALVES, E. S. *et al.* Análise estrutural de folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em ambientes rural e urbano, SP, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 241-248, 2008.
- ALVES, S.S. *et al.* Fenologia de *Eugenia uniflora* (myrtaceae) na região centro-sul do estado do Rio de Janeiro. *In: I Simpósio de pesquisa em mata atlântica, 2010, Rio de Janeiro. Resumos [...]*. Rio de Janeiro: Universidade do estado do Rio de Janeiro, 2010. p. 56-58.
- ÁVILA, B. P. *et al.* Manejo de Produtos Florestais Não Madeireiros: Uma revisão sobre os impactos socioeconômicos e ambientais. *In: Simpósio brasileiro de agropecuária sustentável, 10., 2020, Viçosa. Anais [...]*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2020. p. 112-115.
- AZAMBUJA, J. **Produção e extração de óleos essenciais em pequenas propriedades rurais**. 2012. Monografia (Pós-Graduação em MBA em Gestão no Agronegócio do Departamento de Economia Rural e Extensão) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.
- BANDONI, A. L. **Los recursos vegetales aromáticos em Latinoamérica: su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores**. 1. ed. Buenos Aires: Editorial de la Universidad Nacional de La Plata, 2000.
- BEZERRA, J. E. F.; SILVA JUNIOR, J. F.; LEDERMAN, I. E. *In: VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o futuro: Região Nordeste*. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2018. p. 155-168.
- BIASI, L. A.; DESCHAMPS, C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. 1. ed. Curitiba: Layer Studio Gráfico e Editora Ltda, 2009.
- BIZZO, H. R.; HOVEL, A. M.; REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 588-594, 2009.
- BUENO, C. C. *et al.* Perfil da exportação e importação de óleos essenciais no Brasil, entre os anos de 2020 e 2021, e a predominância do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* no Paraná. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 13, p. 1-9, 2021.
- BUSTILLOS, O. V. A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas – GC/MS. **Revista Analytica**, São Paulo, ano 18, 105. ed., p. 28-30, 2020.
- CARVALHO, Y. O. *et al.* Cinética de secagem das folhas de *Moringa oleífera* LAM. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 1739-1747, 2015.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F. Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. **Journal of the Chemical Society of Mexico**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 126-129, 2006.

CIPRIANO, R. R. **Capacidade de enraizamento, atividade biológica e variabilidade química de óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L.** 2019. Tese (Pós-Graduação em Agronomia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019.

COPPEN, J. J. W. **Flavours and Fragrances of Plant Origin**. Roma: FAO, 1995.

COSTA, D. P. **Influência do biótipo de cor de fruto e da sazonalidade no óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora***. 2009. Dissertação (Mestrado em Educação em Química) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 224-28, 1993.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. 2. ed. Nova Iorque: Botanical Garden, 1988.

DANG, H. N. P.; QUIRINO, J. P. Analytical Separation of Carcinogenic and Genotoxic Alkenylbenzenes in Foods and Related Products (2010–2020). **Toxins**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 387, 2021.

DORTA, J. S. **Obtenção e caracterização química do óleo essencial da parte aérea de pitanga (*Eugenia uniflora*)**. Hidrodestilação e arraste a vapor de água. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2021.

EMBRAPA, **Produtos florestais não madeireiros**: Uso sustentável de açaí, andiroba, castanha e cipó-titica. Macapá: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2012. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/122259/1/CPAF-AP-2012-nao-madeireiros.pdf>>. Acesso em: 18 jul. 2022.

FLORA E FUNGA DO BRASIL. *Eugenia uniflora* L. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2021. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB10560>>. Acesso em: 30 maio 2022.

FOUQUÉ, A. Les plantes médicinales présentes en Forêt Guyanaise. **Fruits**, [s. l.], v. 36, n. 4, p. 223-240, 1981.

FRANZON, R. C. **Propagação vegetativa e modo de reprodução da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.)**. 2008. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

GALVÃO, E. L. **Extração do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* J. com CO₂ pressurizado**. 2004. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2004.

GASPER, A. L. *et al.* Inventário florístico florestal de Santa Catarina: Espécies da Floresta Ombrófila Mista. **Rodriguésia**, Blumenau, v. 64, n. 2, p. 201-210, 2013.

- GOTTLIEB, O. R. MAGALHÃES, M. T. Isolation of piperonylic acid from *Ocotea pretiosa* Mez. **Nature**, [s. l.], v. 182, n. 4637, p. 742-743, 1958.
- GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 509-530, 2006.
- HOPP, R.; LAWRENCE, B. M. *In*: LAWRENCE, B. M. **The Genus Mentha**. Boca Raton: CRC Press, 2007. p. 371-397.
- IBGE. **Censo demográfico de Curitibaanos**. 2021. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/sc/curitibanos.html>>. Acesso em: 5 maio 2022.
- INSTITUTO DE PLANEJAMENTO E ECONOMIA AGRÍCOLA DE SANTA CATARINA (CEPA). Caracterização regional Curitibaanos. 2003. Disponível em: <http://docweb.epagri.sc.gov.br/website_cepapublicacoes/diagnostico/CURITIBANOS.pdf>. Acesso em: 24 maio 2022.
- KUMAR, A. S. *et al.* Vasorelaxant and cardiovascular properties of the essential oil of *Pogostemon elsholtzioides*. **Journal of Ethnopharmacology**, [s. l.], v. 199, p. 86-90, 2017.
- LAGO, J. H. G. *et al.* Chemical and biological evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae — *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, [s. l.], v. 16, n. 12, p. 9827-9837, 2011.
- LEAL, P. F. **Estudo comparativo entre os custos de manufatura e as propriedades de óleos voláteis obtidos por extração supercrítica e destilação por arraste a vapor**. 2008. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- LOPES, M. M. **Composição química, atividade antibacteriana e alelopática dos óleos essenciais de *Eugenia uniflora* L. e *Myrciaria glazioviana* (kiaersk) G. M. Barroso e Sobral (Myrtaceae)**. 2008. Dissertação (Pós-Graduação em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 1. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum Ltda., 1992.
- LORENZI, H. **Árvores do Brasil - Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.
- LUCAS, E. J. *et al.* Suprageneric phylogenetic of Myrtaceae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Táxon**, [s. l.], v. 56, n. 4, p. 1105-1128, 2007.
- LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química Orgânica) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, 2007.

MANICA, I. **Frutas Nativas, Silvestres e Exóticas 2: técnicas de produção e mercado: feijoa, figo-da-índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba.** Porto Alegre: Cinco Continentes Editora, 2002.

MARCHIORETTO, M. A.; MAUHS, J.; BUDKE, J. C. Fenologia de espécies arbóreas zoocóricas em uma floresta psamófila no sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, [s. l.], v. 21, p. 193-201, 2007.

MIRANDA, C. A. S. F. *et al.* Óleos essenciais de folhas de diversas espécies: propriedades antioxidantes e antibacterianas no crescimento espécies patogênicas. **Revista Ciência Agrônômica**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 213-220, 2016.

MONTEIRO, A. R. P. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais.** 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.

MORAES, H. H. Q. **Otimização experimental da extração do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale*).** 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2012.

MUSEU NACIONAL – UFRJ. **Flores de *Eugenia uniflora*.** ©2022. 1 fotografia. Disponível em:
<<https://www.museunacional.ufrj.br/hortobotanico/arvoresearbustos/eugeniauniflora.html#top>>. Acesso em: 15 jul. 2022.

NASCIMENTO, L. D. *et al.* Rendimento e composição química do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora* L. em diferentes tempos de extração. *In: SANTOS, C.C. Pesquisa na Cadeia de Suprimentos de Plantas Aromáticas.* Ponta Grossa: Editora Atena, 2015. p. 48-48.

OLIVEIRA, R. G. M. G. **Folhas de *Eugenia uniflora*.** ©2014. 1 fotografia. Disponível em: <<http://www.arboreo.net/2014/11/pitangueira-eugenia-uniflora-1.html>>. Acesso em: 15 jul. 2022.

PEREIRA, A. B. Mata Atlântica: Uma abordagem geográfica. **Nucleus**, Ituverava, v. 6, n. 1, p. 27-53, 2009.

PEREIRA, C. B. *et al.* Cytotoxic mechanism of *Baccharis milleflora* (Less.) DC. essential oil. **Toxicology in Vitro**, [s. l.], v. 42, p. 214-221, 2017.

PIMENTEL, F. A. *et al.* Influência da temperatura de secagem sobre o rendimento e a composição química do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (barb. Rodr.) bur. & K. Shum. **Química Nova**, [s. l.], v. 31, n. 3, p.523-526, 2008.

PINHEIRO, A. L. **Produção de óleos Essenciais.** Viçosa: CPT, 2003.

PINTO, A. C. *et al.* Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectiva. **Química Nova**, [s. l.], v. 25, p. 45-61, 2002.

- PIZO, M. A. Padrão de deposição de sementes e sobrevivência de sementes e plântulas de duas espécies de Myrtaceae na Mata Atlântica. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 371-377, jul/set. 2003.
- POLETTI, B. R. *et al.* Influência do horário de coleta de folhas de *Eugenia uniflora* na produção de óleo essencial. *In: XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação*, 2010, São José dos Campos. **Anais [...]**. São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2010. p. 1-4.
- PUBCHEM. **Estrutura molecular dos compostos majoritários das folhas de *E. uniflora* coletadas nos ambientes urbanos do município de Curitiba-SC**. 2022. 1 Figura. Disponível em: < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- PUBCHEM. **Estrutura molecular dos compostos majoritários das folhas de *E. uniflora* coletadas em áreas rurais nos municípios de Curitiba e São José do Cerrito-SC**. 2022. 1 Figura. Disponível em: < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>. Acesso em: 20 jul. 2022.
- RABEHARITSARA, A. T. *et al.* **Sistema de hidrodestilação utilizando aparato Clevenger modificado**. 2016. 1 Figura. Disponível em: <<https://www.sciencepublishinggroup.com/journal/paperinfo?journalid=227&doi=10.11648/j.ajac.20160403.17>>. Acesso em: 16 jul. 2022.
- SANCHOTENE, M. C. C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: Editora FEPLAM, 1985.
- SANTOS, F. R.; FILHO, R. B.; CASTRO, R. N. Influência da idade das folhas de *Eugenia uniflora* L. na composição química do óleo essencial. **Química Nova**, [s. l.], v. 38, n. 6, p. 762-768, 2015.
- SANTOS, V. **Fitossociologia de um remanescente da Floresta Ombrófila Mista Montana em Curitiba, SC**. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia Florestal) – Universidade Florestal de Santa Catarina, Curitiba, 2016.
- SILVA, A. P. C. **Extração de óleo essencial da casca e coroa do abacaxi (método soxhlet)**. 2018. Monografia (Bacharelado em Farmácia) – Faculdade de Educação e Meio Ambiente, Ariquemes, 2018.
- SILVA, M. C. **Óleos essenciais: Caracterização, aplicações e métodos de extração**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) – Centro Universitário de Formiga, Formiga, 2018.
- SILVA, M. G. F. **Atividade antioxidante e antimicrobiana *in vitro* de óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de manjerona (*Origanum majorana* L.) e manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Industrial/Licenciatura em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.
- SILVA, N. A. N.; QUEIRÓS, W. P.; BENITE, C. R. Os objetos virtuais de aprendizagem como possibilidade para o Ensino de Química: Em foco a história da destilação. **Revista Brasileira De Ensino De Química**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 105-118, 2018.

SILVA, S. B. **Estudo da extração do óleo de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) vermelha e roxa empregando os solventes CO₂ e n – propano em altas pressões**. 2012. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Estadual do Oeste Do Paraná, Toledo, 2012.

SILVA-SANTOS, A. *et al.* A participação da indústria óleo-citrícola na balança comercial brasileira. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 8-13, 2006.

SILVEIRA, J. C. *et al.* Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia biosfera**, Goiânia, v.8, n.15, p. 2038-2052, 2012.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre – Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, 2003.

SNA, Sociedade Nacional de Agricultura. Óleos essenciais: uma fonte de divisas a ser mais explorada no Brasil 09/11/2017|Tags: A lavoura, óleos essenciais. 2017. Disponível em: <<https://www.sna.agr.br/oleos-essenciais-uma-fonte-de-divisas-a-ser-mais-explorada-no-brasil-2/>>. Acesso em: 04 jun. 2022.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica e Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005.

SPDM. **Frutos da pitangueira**. 2015. 1 fotografia. Disponível em: <<https://www.spdm.org.br/saude/noticias/item/1573-bendita-pitanga>>. Acesso em: 31 maio 2022.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from Neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties. **Chemistry and Biodiversity**, [s. l.], v. 8, p. 73-94, 2011.

STEFANI, E. **Modelagem matemática do processo de extração supercrítica de óleo essencial de Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm var. *Linaloolifera fujita*) utilizando CO₂**. 2003. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. 2010. Tese (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

THEANPHONG, O.; MINGVANISH, W.; KIRDMANEE, C. Chemical constituents and activities of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome. **Bulletin of Health, Science and Technology**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 6-16, 2015.

VIEIRA, A. J. *et al.* Limonene: Aroma of innovation in health and disease. **Chemico-Biological Interactions**, [s. l.] v. 283, p. 97- 106, 2018.

VILLACHICA, H. *et al.* **Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia**. Lima: Tratado de Cooperación Amazonica, 1996.

WOLFFENBUTTEL. A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromoterapia: abordagem técnica e científica**. São Paulo: Editora Laszlo, 2010.

ZOTTI, N. C. **Secagem e teor do óleo essencial de *Eugenia uniflora***. 2012. Monografia (Curso de Engenharia Agrícola) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2012.