

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA E BIOLOGIA
BACHARELADO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA**

ELTON LINCOLN PEYERL DE SOUZA

**ANÁLISE QUÍMICA E BIOLÓGICA DE METABÓLITOS VOLÁTEIS DE *PSIDIUM
CATTLEYANUM***

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CURITIBA

2016

ELTON LINCOLN PEYERL DE SOUZA

**ANÁLISE QUÍMICA E BIOLÓGICA DE METABÓLITOS VOLÁTEIS DE *PSIDIUM
CATTLEYANUM***

Trabalho de conclusão de curso apresentado à disciplina de trabalho de conclusão de curso 2, do curso superior de bacharelado em química tecnológica do departamento acadêmico de Química e Biologia – DAQBI, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR.

Orientador: Prof. Dr. Palimécio Gimenes Guerrero Jr.

Curitiba

2016

ELTON LINCOLN PEYERL DE SOUZA

**ANÁLISE QUÍMICA E BIOLÓGICA DE METABÓLITOS
VOLÁTEIS DE PSIDIUM CATTEYANUM**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado como requisito parcial à obtenção do grau de BACHAREL EM QUÍMICA pelo Departamento Acadêmico de Química e Biologia (DAQBI) do Câmpus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, pela seguinte banca examinadora:

Membro 1 – PROF^a. DR^a. CRISTIANE PILISSÃO
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Membro 2 – PROF. DR. PAULO ROBERTO DE OLIVEIRA
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Orientador – PROF. DR. PALIMÉCIO GIMENES GUERRERO JUNIOR
Departamento Acadêmico de Química e Biologia, (UTFPR)

Coordenadora de Curso – PROF^a. DR^a. DANIELLE CAROLINE SCNITZLER

Curitiba, 23 de junho de 2016.

RESUMO

DE SOUZA, Elton Lincoln Peyerl. Análise Química e Biológica de Metabólitos Voláteis de *Psidium Cattleyanum*. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2016

Óleos essenciais são substâncias lipossolúveis, voláteis e que integram o metabolismo secundário das plantas. Por se tratarem de uma mistura de vários compostos orgânicos, os óleos essenciais apresentam extensa aplicabilidade na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia. Foram encontrados compostos fenólicos antioxidantes importantes como antocianinas e flavonóides nas cascas dos frutos de *P. cattleyanum*. Além disso, o *P. cattleyanum* vermelho possui alto teor de vitamina C e carotenoide β -criptoxantina que se converte em vitamina A que poderá ser aplicado como medicamento fitoterápico visando a diminuição e o consequente risco de doenças degenerativas, prevenção da catarata, redução da degeneração macular causada pelo envelhecimento e redução de doenças coronárias. O objetivo do presente trabalho é a determinação sazonal das composições químicas dos óleos essenciais da planta Araçá (*Psidium cattleyanum*) e seus respectivos estudos envolvendo atividade biológica. Para a extração dos óleos essenciais da espécie estudada (*P. cattleyanum*), a eficiente técnica de hidrodestilação foi utilizada. As folhas foram depositadas na água e os óleos essenciais, por possuírem tensão de vapor mais elevada, foram arrastados. Esta técnica é realizada frequentemente em laboratório utilizando-se o aparelho Clevenger-modificado. Após extraído, o óleo foi submetido à análise cromatográfica em equipamento de CG/MS (equipamento de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas) para a análise sazonal dos componentes químicos presentes no óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum*. As atividades biológicas foram testadas para a comparação da funcionalidade de óleos essenciais obtidos de diferentes espécies (*Hedychium coronarium*, *Cordia Verbenacea*, e *Psidium cattleyanum*) diante a cepas de parasitas *Trypanosoma Cruzi* através dos parâmetros de porcentagem de lise celular e IC_{50} . Avaliando a composição dos óleos essenciais o composto de maior concentração em todas as amostras foi o 1,8-cineol, seguido pelo α -tujeno e pelo β -cariofileno. Pela análise de atividade biológica o óleo essencial de *P. cattleyanum* mostrou-se mais eficiente na lise parasitária dos microorganismos de *Trypanosoma Cruzi* apresentando menor valor (0,53 $\mu\text{g/mL}$) de IC_{50} . A extração do óleo essencial pelo método da hidrodestilação em Clevenger modificado apresentou-se eficiente com rendimentos variando entre 0,262% a 0,655% gramas de folha seca por gramas de óleo essencial.

Palavras chave: Óleos Essenciais; Atividade Biológica; *Psidium cattleyanum*; Análise Sazonal

ABSTRACT

DE SOUZA, Elton Lincoln Peyerl. Chemical and Biological Analysis of Volatile Metabolites of *Psidium cattleianum*. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química Tecnológica) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Curitiba, 2016

Essential oils are fat-soluble substances, however volatile comprising the secondary metabolism of plants. Since they are a mixture of various organic compounds, essential oils have extensive applicability in the pharmaceutical, cosmetic and food industries. *Psidium cattleianum* is popularly known as Cattle Guava. Phenolic compounds such as anthocyanins and flavonoids are found in the skin of this fruit and have antioxidant activity. This fact is proved, because the red guava high vitamin C content. The fruit has the β -cryptoxanthin carotenoid which converts to vitamin A and reduces the risk of degenerative diseases, prevention of cataracts, reduction of macular degeneration caused by aging and reduction of coronary heart diseases. The objective of this study is to determine the chemical composition of the essential oils of *Psidium cattleianum* and their respective studies involving biological activity. For the extraction of essential oils, the hydrodistillation technique is one of the most efficient and used. The plant material is deposited on the water and essential oils having a higher vapor pressure, are swept. This technique is often performed in a laboratory using the Clevenger apparatus. Once extracted, the oil was subjected to gas chromatography equipment coupled with mass spectrometry for the characterization of the components. The biological activities was tested against parasites of Chagas's disease (*Trypanosoma Cruzi*). Evaluating the composition of the essential oil extracted from the leaves of *Psidium cattleianum*, 1,8-cineole had more percentage in all samples, followed by α -thujene and β -cariophyllene. The essential oil extract from leaves of *Psidium cattleianum* had better performance on IC₅₀ analysis (0,53 μ g/mL) compared the essential oil extracted from *Cordia verbenacea* and *Hedychium coronarium*. The extraction of essential oil by the method of hydrodistillation in a modified Clevenger presented efficient with yields ranging from 0,262% to 0,655% grams of dry leaf per gram of essential oil.

Keywords: Essential Oils, Biological Activity, *Psidium cattleianum*, Seasonal Analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diferentes fontes de agentes terapêuticos	14
Figura 2 – Estrutura da β -criptoxantina	15
Figura 3 – Estruturas do α -tujeno (a), 1,8-cineol (b) e β -cariofileno (c)	16
Figura 4 – Mecanismo da gênese do pirofosfato de isopentila e do pirofosfato de 3,3-dimetilalila	17
Figura 6 – Esquema de Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas.....	18
Figura 7 – Sistema de hidrodestilação com Clevenger modificado	20
Figura 8 – Variação diária de temperaturas em Curitiba para agosto de 2015.	24
Figura 9 – Variação de Insolação Total diária em Curitiba para agosto de 2015	24
Figura 10 – Variação de chuva acumulada em Curitiba para agosto de 2015.	24
Figura 11 – Cromatograma da Amostra Padrão de Hidrocarbonetos utilizados na identificação dos compostos do óleo essencial das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em março de 2015	25
Figura 12 – Espectro de massas da primeira substância a eluir na amostra 1 coletada em Março de 2015 do óleo essencial das folhas de <i>P. cattleyanum</i>	26
Figura 13 – Cromatograma destacando os compostos majoritários da amostra 1 coletada em Março de 2015 do óleo essencial das folhas de <i>P. cattleyanum</i>	26
Figura 14 – Estrutura molecular dos principais componentes do óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i>	27
Figura 15 – Cromatograma da amostra 2 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em dezembro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	27
Figura 16 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em janeiro de 2016 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	32
Figura 17 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em julho de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	32
Figura 18 – Cromatograma da amostra 3 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em outubro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	33
Figura 19 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em outubro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	33
Figura 20 – Cromatograma da amostra 2 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em março de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	34

Figura 21 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de <i>P. cattleyanum</i> coletadas em março de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR	34
Figura 22 – Gráfico de Porcentagem de Lise Parasitária dos óleos essenciais avaliados	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Rendimento das amostras de óleo de <i>P. cattleyanum</i> extraídas no período de março de 2015 a fevereiro de 2016.....	23
Tabela 2 – Composição química percentual do óleo essencial coletado em dezembro de 2015 na sede centro do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná.....	28
Tabela 3 – Composição química percentual do óleo essencial das folhas de <i>Psidium cattleyanum</i> coletadas na região da restinga na Mata Atlântica.....	29
Tabela 4 – Composição química média sazonal (%) do óleo das folhas de <i>P. cattleyanum</i> (março de 2015 a agosto de 2015)	31
Tabela 5 – Composição química média sazonal (%) do óleo das folhas de <i>P. cattleyanum</i> (setembro de 2015 a fevereiro de 2016)	31
Tabela 6 – Porcentagens de lise celular (%) de organismos <i>Trypanosoma cruzi</i> inoculados com os respectivos óleos essenciais	35

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1 Importância dos Óleos Essenciais.....	11
2. JUSTIFICATIVA	13
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	13
3.1 A fitoquímica e suas aplicações.....	13
3.2 <i>Psidium cattleianum</i>	14
3.3 Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas.....	18
4. OBJETIVOS	19
4.1 Objetivo Geral.....	19
4.2 Objetivos Específicos.....	19
5. METODOLOGIA.....	19
5.1 Coleta de Amostras	19
5.2 Extração dos Óleos Essenciais	20
5.3 Identificação dos Constituintes Químicos	20
5.3.1 Análise Cromatográfica.....	20
5.3.2 Identificação dos Componentes Voláteis	21
5.4 Análise Sazonal dos Metabólitos Voláteis	21
5.5 Análise Biológica dos Metabólitos Voláteis.....	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
6.1 Extração do Óleo Essencial de <i>P. cattleianum</i>	22
6.2 Identificação dos Metabólitos Voláteis de <i>P. cattleianum</i>	24
6.3 Análise Populacional do Óleo Essencial de <i>P. cattleianum</i>	27
6.4 Análise Sazonal dos Óleos Essenciais de <i>P. cattleianum</i>	30
6.5 Atividade Biológica	35
7. CONCLUSÃO.....	36
8. REFERÊNCIAS.....	38
APÊNDICE A – Constituintes químicos do óleo essencial de <i>P. cattleianum</i> de março de 2015 e abril de 2015.....	41
APÊNDICE B – Constituintes químicos do óleo essencial de <i>P. cattleianum</i> de maio de 2015 e junho de 2015.....	42
APÊNDICE C – Constituintes químicos do óleo essencial de <i>P. cattleianum</i> de julho de 2015 e agosto de 2015.....	43
APÊNDICE D – Constituintes químicos do óleo essencial de <i>P. cattleianum</i> de setembro de 2015 e outubro de 2015	44

APÊNDICE E – Constituintes químicos do óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> de novembro de 2015 e dezembro de 2015.....	45
APÊNDICE F – Constituintes químicos do óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> de janeiro de 2016 e fevereiro de 2016.....	46
APÊNDICE G – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Março de 2015	47
APÊNDICE H – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Abril de 2015	48
APÊNDICE I – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Maio de 2015	49
APÊNDICE J – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Junho de 2015	50
APÊNDICE K – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Julho de 2015.....	51
APÊNDICE L – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Agosto de 2015	52
APÊNDICE M – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Setembro de 2015.....	53
APÊNDICE M – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Outubro de 2015	54
APÊNDICE N – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Novembro de 2015.....	55
APÊNDICE O – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Dezembro de 2015.....	56
APÊNDICE P – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Janeiro de 2016	57
APÊNDICE Q – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de <i>P. cattleyanum</i> coletadas na UTFPR em Fevereiro de 2016	58

1. INTRODUÇÃO

1.1 Importância dos Óleos Essenciais

Óleos essenciais caracterizam-se como substâncias lipossolúveis, voláteis e geralmente podem ser encontrados em diferentes partes de uma planta como flores, brotos, sementes, folhas, galhos, cascas, ervas, frutos e raízes ou rizomas, madeira e bulbos. Sua composição contém principalmente: monoterpenos e sesquiterpenos, aldeídos alifáticos, alcoóis ésteres, metabólitos estes que conferem suas características organolépticas (BIZZO et al, 2009).

Nas últimas décadas os metabólitos voláteis tem sido aplicados nas indústrias de perfumaria, cosmética, alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. Seus principais empregos são como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (BIZZO et al, 2009). A produção destes compostos é realizada pelo metabolismo secundário das espécies vegetais.

O metabolismo vegetal está dividido em primário e secundário. O metabolismo primário é responsável pela formação, manutenção e reprodução das plantas através da biossíntese de proteínas, carboidratos e lipídios. Os metabólitos secundários desempenham importante papel na adaptação das plantas ao ambiente, pois estão envolvidos na defesa contra microorganismos, insetos e herbívoros. Esses compostos também agem na proteção contra raios ultravioleta, atração de polinizadores e animais dispersores de sementes, bem como em fenômenos alelopáticos (BOURGAUD, 2001).

A função de um gene é identificada quando se determina suas espécies gênicas, ou seja, RNAs mensageiros (RNAm), proteínas e metabólitos (VILLASBÔAS; GOMBERT, 2006). O DNA vegetal possui um segmento denominado cístron que codifica a sequência de aminoácidos envolvidos na síntese proteica. O RNA mensageiro é encarregado da transcrição dessas informações nos ribossomos que se encarregam da síntese das proteínas. As proteínas e outros derivados do metabolismo primário dão origem aos metabólitos secundários. Assim, o nível de metabólitos dentro de um organismo, representa uma informação integrativa da função molecular celular que define uma característica fenotípica em resposta às funções genéticas, às alterações ambientais e às ações antrópicas (FIEHN, 2002; VILLAS BOAS; GOMBERT, 2006).

Atualmente, as pesquisas têm-se voltado para a investigação de atividades biológicas dos metabólitos voláteis das plantas, devido a possibilidade de utilização

desses compostos naturais no controle de pragas e de doenças causadas por fungos ou bactérias. Essa capacidade de controle de insetos, por exemplo, pode ser atribuída a compostos fenólicos associados a alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana (SIMÕES et al, 2001).

A obtenção de óleos essenciais pode ocorrer através da destilação por arraste de vapor, bem como pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos segundo a ISO 9235:1997. O processo de destilação com água/vapor possui três variações diferentes: destilação com água (hidrodestilação), destilação com água e vapor e destilação a vapor. Na hidrodestilação, o material vegetal deve permanecer em contato com água fervente, sob completa ou parcial imersão durante todo o processo (BUSATO et al, 2014).

É necessário em alguns casos, a fragmentação do material vegetal para um melhor rendimento na extração do óleo essencial, pois os metabólitos voláteis de interesse podem ser encontrados nos tricomas glandulares da planta. Porém, esse procedimento depende da estrutura da planta produtora do óleo. Flores, folhas e outras partes finas e não fibrosas não necessitam de fragmentação. Já raízes, rizomas, caules e todo o material lenhoso devem ser cortados, preferencialmente em comprimentos curtos (BUSATO et al, 2014).

A composição dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos estabelecidos no DNA da espécie vegetal. Porém, fatores ambientais podem causar variações significativas em seus constituintes. A época de coleta, posição geográfica, horário, o modo de secagem do material vegetal, bem como teor de umidade, água, solo e herbivoria também podem influir sobre a composição e o teor do óleo produzido. (SILVA et al, 2005) A complexidade química dos óleos essenciais dificulta a análise dos seus componentes bioativos. Em muitos casos publicados na literatura, o constituinte majoritário é responsável pela atividade biológica, no entanto, esta pode ser atribuída à ação sinérgica ou antagônica de vários componentes (MACHADO et al, 2011).

O estudo fitoquímico de plantas medicinais constitui uma estratégia alternativa na procura de novos agentes terapêuticos. Nesse sentido, o levantamento bibliográfico e o conhecimento etnobotânico servem de base para a identificação da atividade farmacológica de plantas. Nestes sentido, podemos destacar os estudos antimicrobianos envolvendo metabólitos secundários de plantas que são de grande relevância, no tratamento eficiente, por exemplo, de infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos (MACHADO et al, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

A importância dos ecossistemas que constituem a Mata Atlântica foi recentemente reconhecida com a sua inclusão na lista de Hotspots (regiões biologicamente mais ricas e ameaçadas do planeta), organizada pela ONG CONSERVATION INTERNATIONAL. Atualmente restam menos de 10% da área original da Mata Atlântica no território brasileiro. Apesar da devastação acentuada, a Mata Atlântica ainda contém uma parcela significativa da diversidade biológica do Brasil. Porém, o potencial deste bioma foi muito pouco estudado e, na maior parte dos casos, a exploração dos recursos naturais existentes têm sido exercida de forma predatória do ponto de vista social, econômico e ambiental. Neste cenário, a planta estudada, *Psidium catleyanum*, embora possua amplo conhecimento tradicional na medicina popular, não detém validação científico-terapêutica no tratamento das enfermidades como diarreia, hemorragias e males das vias urinárias das quais existem relatos de usos etnomédicos (CRUZ, KAPLAN, 2004). A espécie escolhida para o presente estudo teve como base a presença de metabólitos voláteis e suas possíveis aplicações no desenvolvimento de novos fármacos para tratamento de doenças relacionadas a infecção por *Trypanosoma cruzi*.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A fitoquímica e suas aplicações

Durante séculos, a única fonte de agentes terapêuticos para o homem eram as plantas. Porém, no início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, as plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos. Atualmente, apesar do grande desenvolvimento da síntese orgânica (56%) e de novos processos biotecnológicos, 44% dos medicamentos são originários ou derivados de compostos encontrados em plantas, como pode ser observado no gráfico da figura 1, e 120 compostos de origem natural obtidos de plantas são utilizados na terapia moderna (HOSTETTMANN et al, 2003).

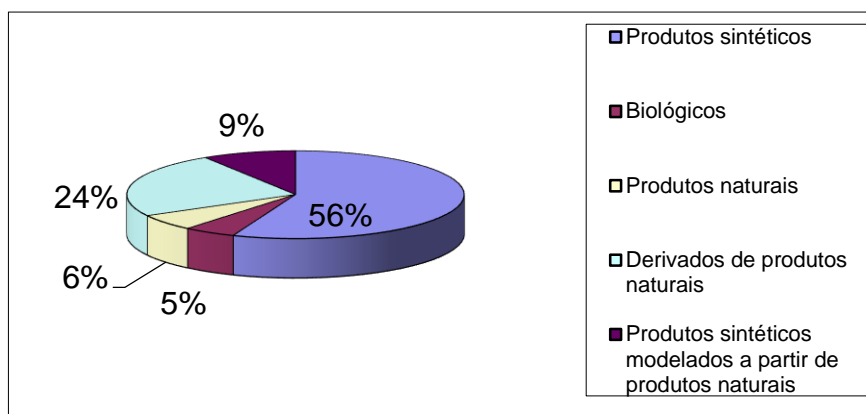


Figura 1 - Diferentes fontes de agentes terapêuticos
 Fonte: HOSTETTMANN et al. (2003)

As espécies medicinais são retiradas dos ecossistemas e domesticadas, passando a apresentar características de plantas exóticas. (MARTINS et al, 1994) Pode-se citar nesse grupo o alecrim, a melissa e o funcho, originários do Mediterrâneo; a arruda, o dente-de-leão, a mil-folhas, a tanchagem e o tomilho originários da Europa, a artemísia originária da Ásia; a calêndola, originária do Egito e o capim-limão, originário da Índia (CORRÊA JR et al, 1994).

Por outro lado, várias espécies nativas têm sido largamente empregadas pela população, algumas com estudos químicos e/ou farmacológicos que dão suporte a sua utilização, a partir do conhecimento empírico ou tradicional da população. (DI STASI, 1995) Entre as principais espécies nativas empregadas, pode-se citar o guaco, a embaúba, o maracujazeiro, a carqueja, a pata-de-vaca, a espinheira-santa entre outras (SIMÕES et al, 1986).

Estima-se que existem cerca de 250.000 a 500.000 espécies de plantas e que apenas uma pequena porcentagem tenha sido investigada do ponto de vista fitoquímico. Uma porcentagem ainda menor foi submetida a monitoramento biológico e farmacêutico (HAMBURGER e HOSTETTMANN, 1991). No entanto, nos últimos 30 anos, o interesse por drogas de origem vegetal aumentou substancialmente, principalmente devido ao desenvolvimento de técnicas cromatográficas e espectroscópicas aliadas ao crescimento da demanda de terapias não convencionais bem como o desenvolvimento da biologia (HAMBURGER e HOSTETTMANN, 1991).

3.2 *Psidium cattleianum*

O araçazeiro (*Psidium cattleianum*) é uma espécie pertencente à família Myrtaceae, encontrado em estado nativo no Brasil desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul. Trata-se de uma espécie arbórea cuja altura varia entre 3,0 e 6,0 m, com tronco liso e casca descamante. Os frutos são amarelos ou vermelhos, sugerindo

que a espécie possa ser dividida em dois morfotipos denominados araçá-amarelo e araçá-vermelho (FETTER et al, 2010).

P. cattleyanum possui atualmente diferentes denominações taxonômicas específicas e, de acordo com estudos preliminares, isto se deve ao fato de não haver consenso entre os especialistas, além de suas categorizações não serem utilizadas no momento das determinações. Análises prévias indicaram que ocorrem diferenças na anatomia do lenho, na morfologia foliar e na coloração dos frutos dos dois grupos de *P. cattleyanum* (FETTER et al, 2010).

O *P. cattleyanum* é uma espécie rica em compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenos, que possuem importantes propriedades biológicas tais como maior proteção contra oxidação celular, atividade antimicrobiana e anticarcinogênica (FETTER et al, 2010). A espécie vem sendo bastante estudada principalmente pelas excelentes características de suas frutas, que podem apresentar entre quatro a sete vezes mais vitamina C que as frutas cítricas (FETTER et al, 2010). Além desse fato, o fruto possui o carotenóide β -criptoxantina, com a estrutura representada na figura 2, que se convertem em Vitamina A, desempenhando um importante papel nutricional. Compostos fenólicos como antocianinas e flavonoides se fazem presentes na casca dos frutos caracterizando sua coloração azul, púrpura e vermelha. Já os carotenóides são responsáveis pela diminuição do risco de doenças degenerativas, prevenção da catarata, redução da degeneração macular causada pelo envelhecimento e redução de doenças coronárias (FETTER et al, 2010).

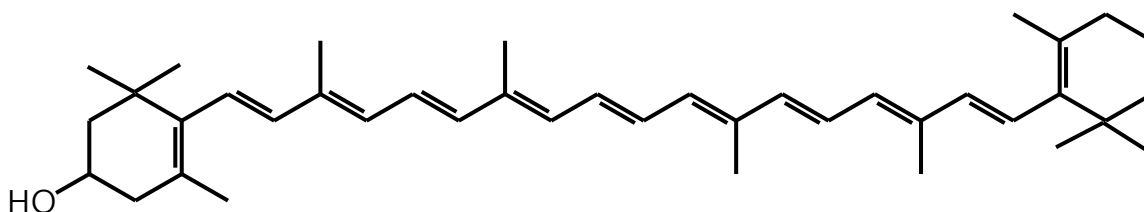


Figura 2 – Estrutura da β -criptoxantina

Dentre as estruturas do corpo vegetal, as folhas são os órgãos que melhor evidenciam adaptações decorrentes das variáveis ambientais. Isto ocorre devido ao fato de apresentarem como maior ferramenta de interface entre organismo vegetal e o ecossistema onde a planta está inserida. (DA SILVA, MEDEIROS, 2005)

Nosso grupo publicou a composição química dos óleos essenciais das folhas de *P. cattleyanum* que ocorrem em ecossistemas de restinga na região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo. (GUERRERO JR et al, 2008) Entretanto, estudos

envolvendo a análise sazonal dos metabólitos voláteis dessa espécie não foram ainda investigados. A análise química do óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum*, coletadas na restinga da Floresta Atlântica, mostrou como componentes majoritário os monoterpenos α -tujeno (25,2%) e 1,8-cineol (16,4%) e o sesquiterpeno β -cariofileno (15,5%) com suas respectivas estruturas representadas na figura 3 (GUERRERO JR et al, 2008).

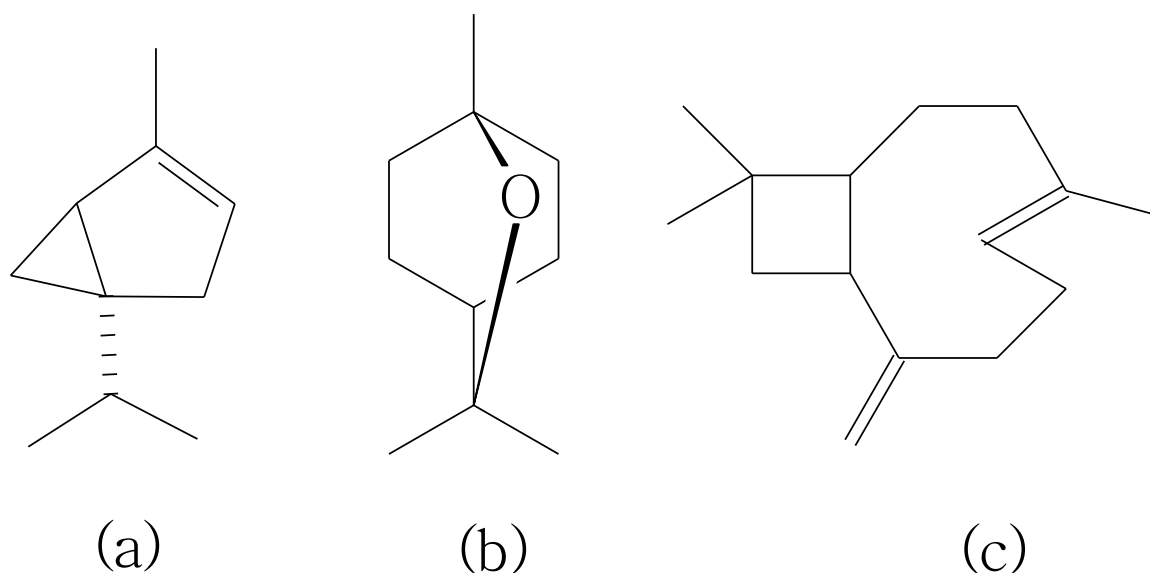


Figura 3 – Estruturas do α -tujeno (a), 1,8-cineol (b) e β -cariofileno (c)

Os terpenóides podem ser considerados como a maior classe química de constituintes ativos de plantas, com mais de trinta mil substâncias descritas. Os monoterpenóides com duas unidades isoprênicas são voláteis e com frequência são encontrados em óleos essenciais. A via do ácido mevalônico é o caminho reacional para a biossíntese de todos os tipos de compostos terpenóides (CUNHA JR, 2002).

A obtenção do ácido mevalônico ocorre a partir da redução da β -hidróxi- β -metilglutarilcoenzima-A, um intermediário formado exclusivamente pela condensação aldólica da acetoacetylcoenzima-A com a acetylcoenzima-A. Ocorrem sucessivas etapas de fosforilação do ácido mevalônico que levam a formação do ácido 5-pirofosfato-mevalônico, que se apresenta como precursor do pirofosfato de isopentila, que por sua vez é o progenitor dos compostos terpênicos. A isomerização enzimática deste hemiterpeno resultará no reativo pirofosfato de 3,3-dimetilalila (CUNHA JR, 2002). A figura 4 traz o mecanismo de gênese do pirofosfato de isopentila e do pirofosfato de 3,3-dimetilalila.

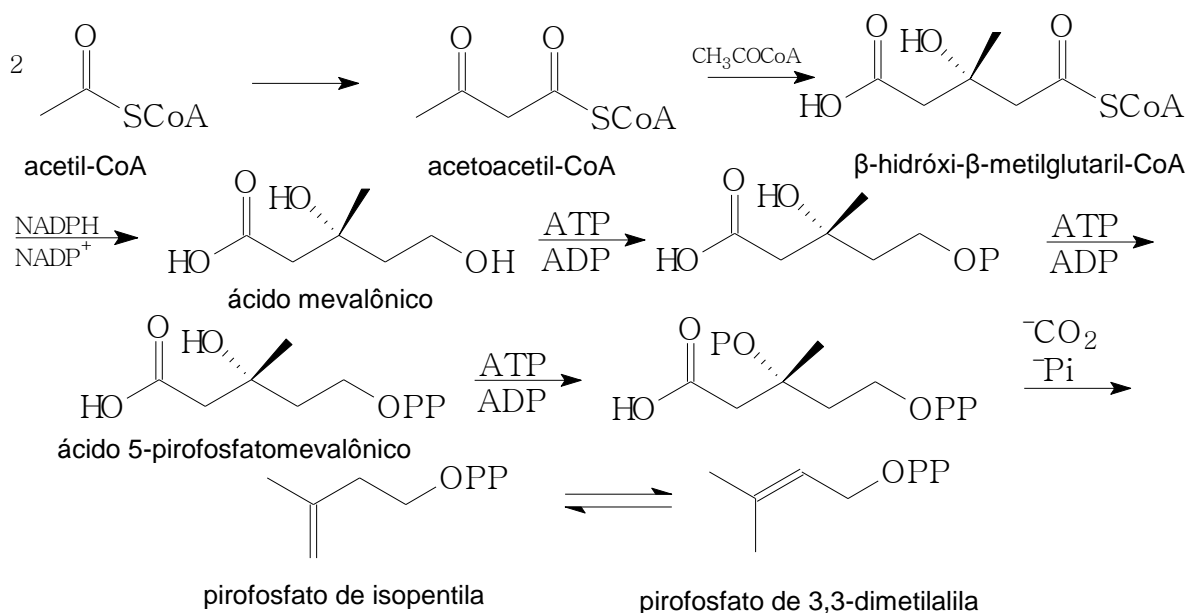


Figura 4 – Mecanismo da gênese do pirofosfato de isopentila e do pirofosfato de 3,3-dimetilalila

Esqueletos carbônicos básicos que vão originar os diversos tipos de terpenóides após sofrerem ciclização e/ou oxidação são oriundos das reações entre o pirofosfato de isopentila com pirofosfato de 3,3-dimetilalila. O sucesso da biossíntese dos terpenos por meio de sucessivas reações de substituição nucleofílica alifática, onde acontece a formação das ligações carbono-carbono para união das unidades isoprênicas, deve-se à significativa nucleofilicidade da dupla terminal do pirofosfato de isopentila, à excepcional habilidade de alquilação dos ésteres de fosfato concedida pelo sistema alílico e pela presença de um excelente grupo de saída para reações de substituição (CUNHA JR, 2002). A figura 5 mostra o mecanismo de formação dos terpenóides.

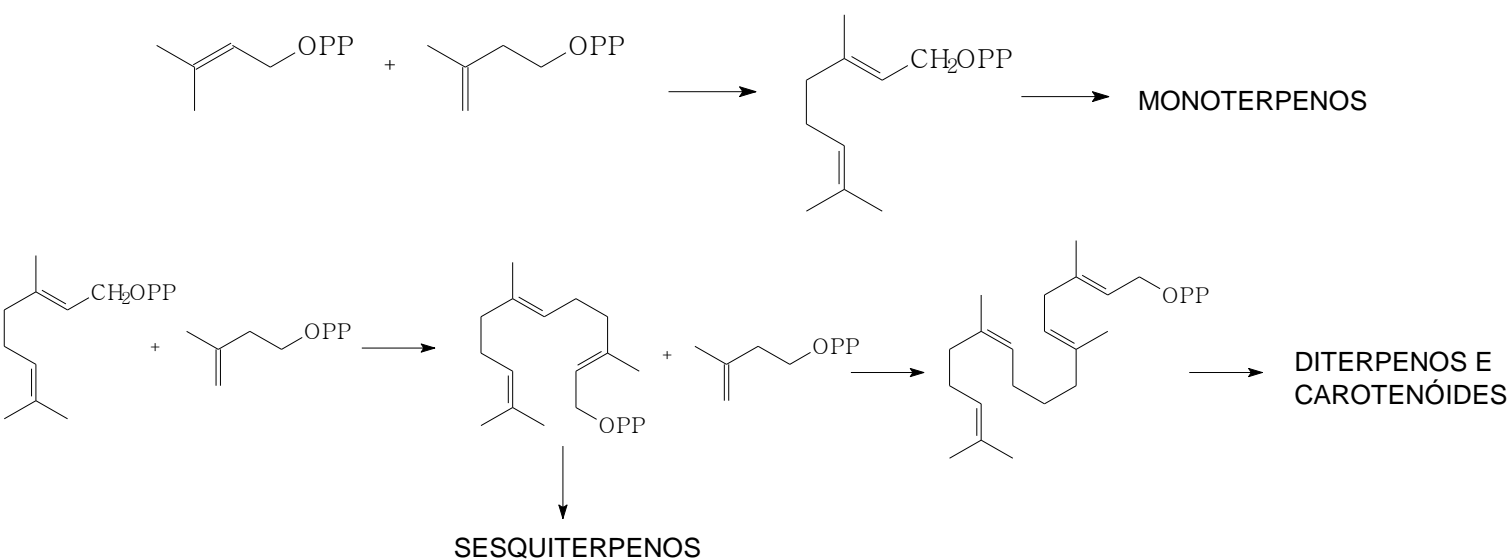


Figura 5 – Mecanismo de formação dos terpenóides

3.3 Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas

A cromatografia pode ser combinada a diferentes sistemas de detecção, tratando-se de uma das técnicas analíticas mais utilizadas e de melhor desempenho. O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas combina as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) e da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade). Para que o acoplamento seja possível, idealmente, é necessário que as características de cada instrumento não sejam afetadas pela sua conexão, assim como não devem ocorrer modificações químicas não controladas do analito e perda de amostra durante a sua passagem do cromatógrafo para o espectrômetro de massas (CHIARADIA et al, 2008).

A combinação da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas (CG/EM) é relativamente simples, uma vez que as características de funcionamento do cromatógrafo a gás são suficientemente compatíveis com a necessidade de alto vácuo do espectrômetro de massas. Quando são utilizadas colunas capilares em Cromatografia Gasosa é possível conectar a saída da coluna diretamente à fonte do espectrômetro, uma vez que, em condições normais de operação, o sistema de bombeamento do espectrômetro de massas é capaz de captar todo o eluente da coluna. Quando são utilizadas colunas recheadas, a vazão do eluente deve ser reduzida antes da sua entrada na fonte de ionização do espectrômetro. Para isto, podem ser utilizados divisores de fluxo, mas seu desempenho não é tão satisfatório, uma vez que podem gerar perdas na detectabilidade (CHIARADIA et al, 2008). A figura 6 traz o esquema de um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas.

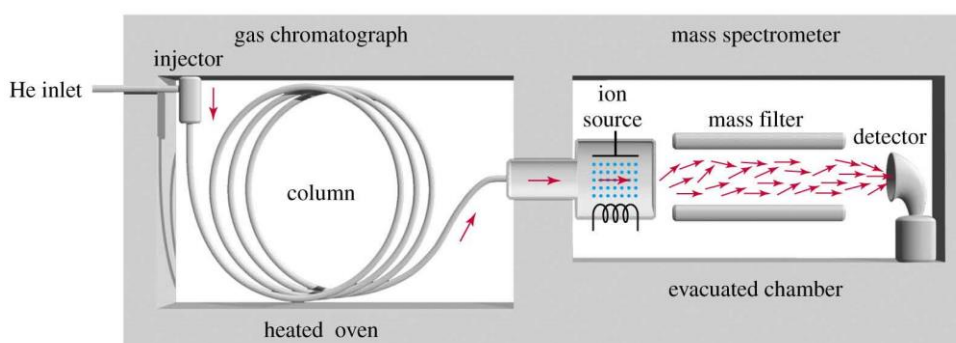


Figura 6 – Esquema de Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas
Fonte: Shalaby (2013)

Simplificadamente, o espectro de massas funciona da seguinte maneira: um feixe de elétrons de alta energia bombardeia a amostra, em fase gasosa, e o aparelho detecta e registra os fragmentos gerados pelo impacto dos elétrons. A partir do valor

da massa molecular de cada um dos fragmentos, monta-se a molécula, como um “quebra-cabeça”. Um dos fragmentos será o pico do íon molecular que fornecerá a massa molar do composto. No aparelho são detectados apenas fragmentos catiônicos. (ATKINS e JONES, 2001; EWING, 2002)

A partir dos cromatogramas e dos espectros de massa a identificação dos componentes dos óleos essenciais das folhas de *Psidium cattleianum* foi possível através da comparação dos dados experimentais com a literatura (ADAMS, 2007). Também pôde se determinar a quantidade de cada um dos componentes realizando a integração dos picos do cromatograma no software GCMS Post Run Analysis do cromatógrafo Shimadzu GC/MS-QP2010.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Determinação da composição química, avaliação sazonal, e potencial atividade biológica dos metabólitos voláteis presentes nas folhas do Araçá (*Psidium cattleianum*).

4.2 Objetivos Específicos

- 1) Isolamento, identificação e caracterização das principais substâncias presentes nos óleos essenciais extraídos das folhas do Araçá (*Psidium cattleianum*);
- 2) Avaliação Sazonal da composição do óleo essencial extraído das folhas de *Psidium cattleianum*;
- 3) Estudo fitoquímico da fração volátil das folhas de *Psidium cattleianum* através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM);
- 4) Avaliação da atividade biológica antiparasitária dos óleos essenciais obtidos.

5. METODOLOGIA

5.1 Coleta de Amostras

A coleta das folhas de *Psidium cattleianum* foi realizada no período de março de 2015 a fevereiro de 2016 para a avaliação sazonal da composição do óleo essencial. A coleta ocorreu na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no campus Curitiba, sede centro.

Posteriormente as folhas foram secas em estufa a 40°C durante 24 horas para estabilização do material vegetal.

5.2 Extração dos Óleos Essenciais

As folhas secas foram trituradas manualmente e 250 g do material vegetal foram transferidos para um balão de 3 L. Em seguida, adicionou-se água destilada em aproximadamente 75% do volume do balão que foi acoplado ao sistema de Clevenger-modificado.

O sistema de hidrodestilação (Figura 7) foi aquecido até a ebulição da água por 4 horas. O óleo essencial obtido foi seco com sulfato de magnésio anidro, filtrado e armazenado em frasco âmbar a uma temperatura de 8 °C para as análises seguintes.



Figura 7 – Sistema de hidrodestilação com Clevenger modificado

5.3 Identificação dos Constituintes Químicos

5.3.1 Análise Cromatográfica

A instrumentação básica utilizada neste trabalho consistiu de um espectrômetro Shimadzu GCMS-QP2010Plus, acoplado a um cromatógrafo em fase gasosa GC-2010 equipado com coluna capilar Rtx-5MS (30m x 0,25 mm x 0,25 µm). A rampa cromatográfica foi de 60°C a 250°C, a 3°C.min⁻¹. Injetor em modo “split” a 250°C, interface e fonte de íons a 300°C. A janela de análise de massas foi

selecionada entre 40 e 350 u.m.a. A pressão da coluna foi 59 kPa, e o fluxo de gás 24,4 mL.min⁻¹, com velocidade linear: 36,8 cm.s⁻¹. O gás de arraste utilizado foi hélio, o volume injetado foi de 1 µL e o solvente utilizado para dissolver as amostras foi o hexano (solução a 1 mg/mL⁻¹). A energia do impacto de elétrons (EIMS) foi de 70 eV. A mistura padrão de hidrocarbonetos utilizada é gerada pela Companhia Sigma Aldrich. As análises dos óleos essenciais por CG/EM foram realizadas em colaboração com o Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná/UFPR.

5.3.2 Identificação dos Componentes Voláteis

A identificação dos componentes químicos dos óleos essenciais obtidos foi determinada a partir da análise dos cromatogramas fornecidos pelo equipamento de Cromatografia Gasosa acoplado ao Espectrômetro de Massas, utilizando-se como referência o Índice de Kovats (KI) e os espectros de massa gerados.

Para a determinação do KI, inicialmente foi injetada uma mistura padrão de hidrocarbonetos C₉-C₂₀. Obteve-se o tempo de retenção referente a cada hidrocarboneto padrão que foi comparado posteriormente com os tempos de retenção dos componentes constituintes dos óleos essenciais estudados. O cálculo do KI será dado pela equação:

$$KI = 100(C_n - C_{n-1})[(t_x - t_{n-1})/(t_n - t_{n-1})] + 100 C_{n-1} \quad (1)$$

Onde:

C_n – C_{n-1} é a diferença entre número de carbonos do alcano que elui depois (C_n) e antes (C_{n-1}) da substância de interesse.

t_x é o tempo de retenção da substância de interesse

t_n é o tempo de retenção do alcano que elui depois da substância de interesse

t_{n-1} é o tempo de retenção do alcano que elui antes da substância de interesse

Após a obtenção do KI foi feita a comparação dos valores de KI e espectros de massa obtidos com valores de KI e espectros de massa encontrados na literatura (ADAMS, 2007) para a identificação dos compostos.

5.4 Análise Sazonal dos Metabólitos Voláteis de *P. cattleyanum*

Para determinar a variação sazonal dos componentes químicos presentes nos óleos essenciais de *P. cattleyanum* foram realizadas mensalmente coletas do material

vegetal correspondente no período de março de 2015 a fevereiro de 2016. Posteriormente, as amostras de folhas foram secas em estufa, trituradas manualmente e submetidas à hidrodestilação em triplicata. Os componentes voláteis obtidos foram analisados por técnicas de CG/EM para sua identificação estrutural e quantificação.

5.5 Análise Biológica dos Metabólitos Voláteis de *P. cattleyanum*

As análises biológicas foram realizadas em parceria com o Departamento de Farmácia do campus Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. No mesmo ensaio foram avaliadas as atividades biológicas dos óleos essenciais das folhas de: *Cordia verbenacea* coletadas em Registro-SP e Ilha Comprida-SP, *Psidium cattleyanum* coletadas em Curitiba-PR e dos óleos essenciais dos rizomas de *Hedychium coronarium*. A coleta e extração dos óleos essenciais de *Hedychium coronarium* e *Cordia verbenacea* foi realizada pelo grupo de pesquisa do Departamento de Farmácia do campus Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A amostra de óleo essencial de *Psidium cattleyanum* utilizada nessa análise foi extraída no mês de outubro de 2015.

Os óleos essenciais foram submetidos a ensaios biológicos in vitro para comparar a potencialidade dos componentes quanto a porcentagem de lise parasitária em cepas Y de *Trypanosoma cruzi*. Também foi realizada a determinação de IC₅₀ que denota qual a concentração mínima dos óleos essenciais necessária para reduzir a atividade biológica dos microrganismos de *Trypanosoma cruzi* pela metade.

Os parasitas foram inoculados em meio de cultura e no período de crescimento exponencial os óleos essenciais foram adicionados em diferentes concentrações: 0,5, 2,0, 8,0 e 32,0 µg/mL, sendo os microrganismos incubados juntamente com os óleos essenciais durante 24 horas. Os ensaios foram realizados em triplicata. A determinação da atividade foi verificada quantitativamente através da porcentagem de lise parasitária obtida por meio da comparação das cepas dos microrganismos inoculados frente aos óleos essenciais com grupo controle sem tratamento.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Extração do Óleo Essencial de *P. cattleyanum*

As folhas de *P. cattleyanum* foram coletadas mensalmente no período de março de 2015 a fevereiro de 2016 na Sede Centro do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná. As folhas frescas coletadas de *P.*

cattleyanum foram secas em estufa por um período de 24 horas a 40°C. Após a secagem as folhas foram trituradas manualmente e 250 g foram colocadas em um balão de 3 litros e completado até 75% do seu volume com água deionizada. A extração do óleo essencial foi realizada em um aparelho Clevenger modificado durante 4 horas a partir da ebulição da água. Para cada coleta mensal, três amostras de óleo foram extraídas. O óleo obtido foi seco com sulfato de magnésio anidro, seguido de filtração, obtendo-se os rendimentos contidos na tabela 1.

Tabela 1 – Rendimento das amostras de óleo de *P. cattleyanum* extraídas no período de março de 2015 a fevereiro de 2016

Estação	Coleta	Amostra 1 (%)	Amostra 2 (%)	Amostra 3 (%)	Rendimento Médio (%)
Outono	24/mar/15	0,466	0,422	0,480	0,455±0,022
	20/abr/15	0,524	0,578	0,568	0,556±0,021
	22/mai/15	0,644	0,655	0,649	0,649±0,004
Inverno	22/jun/15	0,419	0,465	0,488	0,457±0,025
	28/jul/15	0,609	0,655	0,572	0,612±0,028
	25/ago/15	0,262	0,288	0,274	0,275±0,009
Primavera	25/set/15	0,323	0,324	0,303	0,317±0,009
	20/out/15	0,494	0,418	0,408	0,439±0,036
	20/nov/15	0,396	0,332	0,356	0,361±0,023
Verão	17/dez/15	0,550	0,555	0,527	0,544±0,011
	19/jan/16	0,436	0,390	0,395	0,407±0,019
	19/fev/16	0,399	0,350	0,374	0,374±0,016

Analisando os dados da tabela 1 verifica-se que o teor de óleo foi mínimo para a amostra 1 da coleta de 25 de agosto de 2015 (0,262%). Uma possível explicação para esse fato é a presença de predadores que atacariam as folhas de *P. cattleyanum*. Também deve levar-se em consideração as circunstâncias climatológicas enfrentadas pela planta na época da coleta. A volatilização do óleo essencial ocorre facilmente em altas temperaturas e baixa umidade segundo Brant et al (2008), cenário vivido pela planta no mês de agosto de 2015.

Além disso, segundo Paulus et al (2013), a produção de óleo essencial tende a diminuir quando a radiação solar é menor. As folhas são fortemente influenciadas pela luz por serem os órgãos receptores da mesma (WHATLEY & WHATLEY, 1982). Isso se deve ao fato da radiação solar interferir diretamente sobre o crescimento e desenvolvimento da planta, da modulação do fotoperíodo e da qualidade da luz e indiretamente, pelos efeitos de temperatura, na produção de biomassa e na qualidade dos óleos essenciais. (PAULUS et al, 2013) As reações biossintéticas produtoras dos óleos essenciais são dependentes de suprimentos, realizados por processos fotossintéticos, e de compostos energéticos que participam da regulação dessas

reações, que favorecem o metabolismo secundário sob altos níveis de radiação solar. (TAIZ e ZEIGER, 2004) As figuras 8, 9 e 10 detalham os dados climatológicos da cidade de Curitiba em Agosto de 2015.

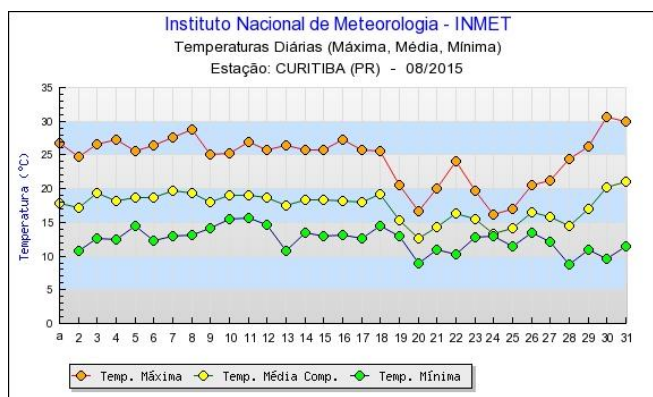


Figura 8 – Variação diária de temperaturas em Curitiba para agosto de 2015.

Fonte: INMET

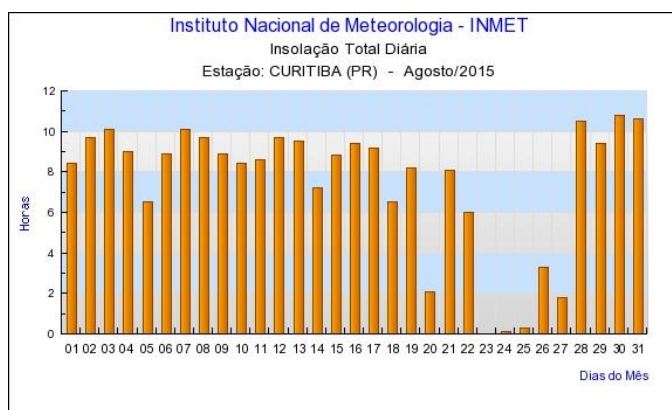


Figura 9 – Variação de Insolação Total diária em Curitiba para agosto de 2015

Fonte: INMET

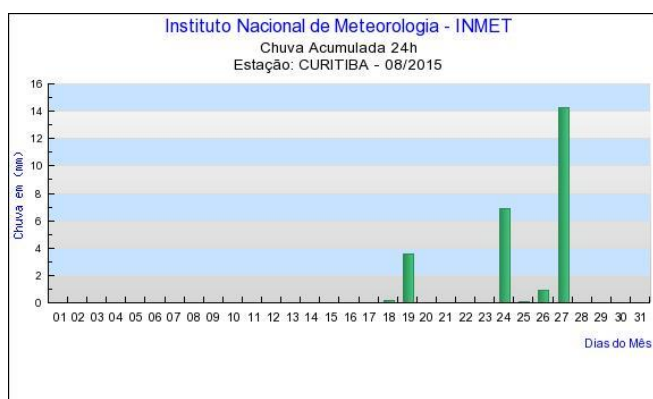


Figura 10 – Variação de chuva acumulada em Curitiba para agosto de 2015.

Fonte: INMET

6.2 Identificação dos Metabólitos Voláteis de *P. cattleyanum*.

A identificação dos constituintes químicos presentes no óleo essencial da *P. cattleyanum* foi realizada utilizando-se a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas. Comparando-se os dados experimentais obtidos com

os descritos na literatura (ADAMS, 2007), observaram-se os compostos de maior concentração nos respectivos cromatogramas e sua identificação foi apresentada, como pode ser observado nos Apêndices A a F.

A identificação foi realizada com base no Índice de Kovats e nos espectros de massa. O Índice de Kovats é dado através da comparação do tempo de retenção dos compostos da amostra com os tempos de retenção de uma mistura padrão de hidrocarbonetos segundo a equação 1. O cromatograma da mistura padrão de hidrocarbonetos pode ser observado na figura 11 onde há o destaque para o número de carbonos do hidrocarboneto correspondente ao pico.

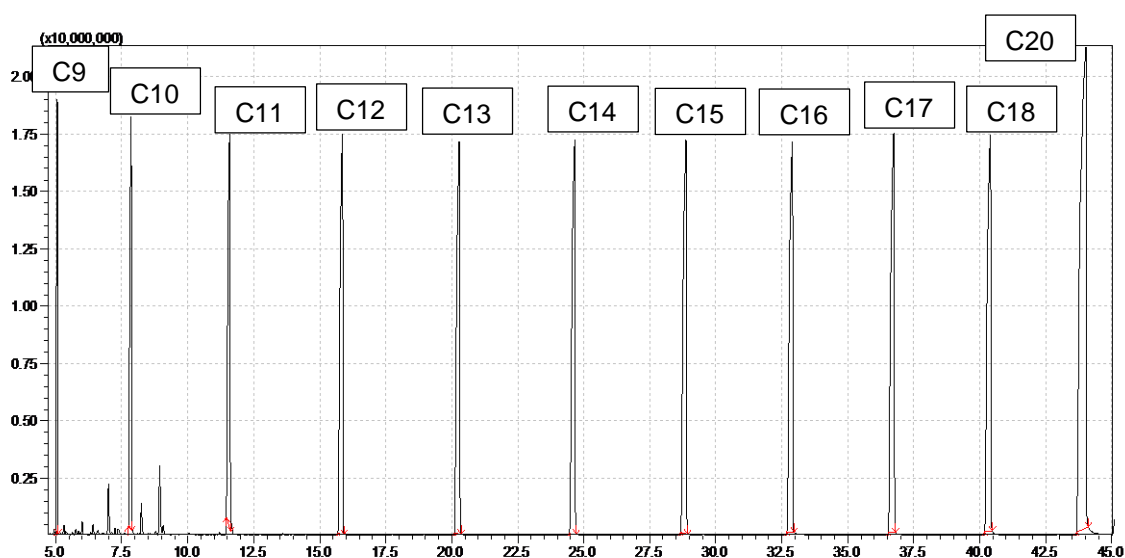


Figura 11 – Cromatograma da Amostra Padrão de Hidrocarbonetos utilizados na identificação dos compostos do óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em março de 2015

Como exemplo ilustrativo o cálculo do Índice de Kovats para a primeira substância eluída (α -tujeno) na amostra 1 de março de 2015 é demonstrado a seguir.

$$KI = 100(C_n - C_{n-1})[(t_x - t_{n-1})/(t_n - t_{n-1})] + 100 C_{n-1}$$

$$KI = 100(10 - 9)[5,993 - 5,054]/(7,857 - 5,054) + 100(9)$$

$$KI = 932$$

Ao obterem-se os valores dos Índices de Kovats pôde-se analisar também os espectros de massa obtidos na análise. Apartir da comparação dos espectros obtidos experimentalmente com os espectros contidos na literatura (ADAMS, 2007) foi possível a identificação das substâncias. A figura 12 fornece, como exemplo ilustrativo, o espectro de massas da primeira substância a eluir (α -tujeno) na análise da amostra 1 de março de 2015. O cromatograma da figura 13 é referente a amostra

1 coletada no mês de março de 2015. Há o destaque nos picos referentes aos tempos de retenção dos compostos majoritários óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum* identificando-os.

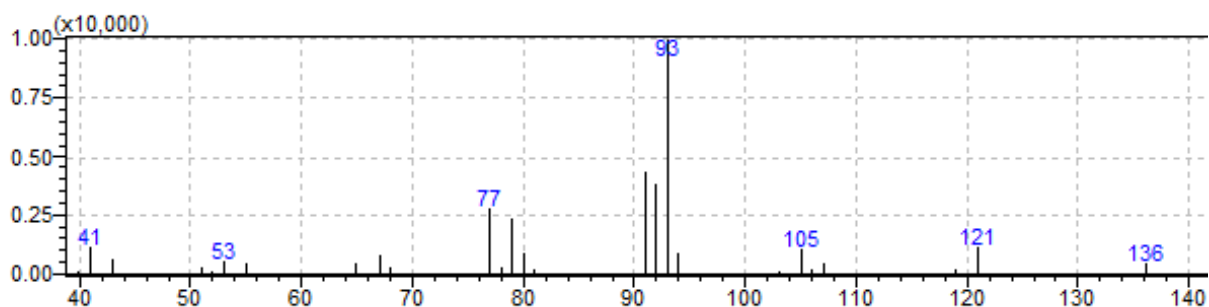


Figura 12 – Espectro de massas da primeira substância a eluir na amostra 1 coletada em Março de 2015 do óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum*.

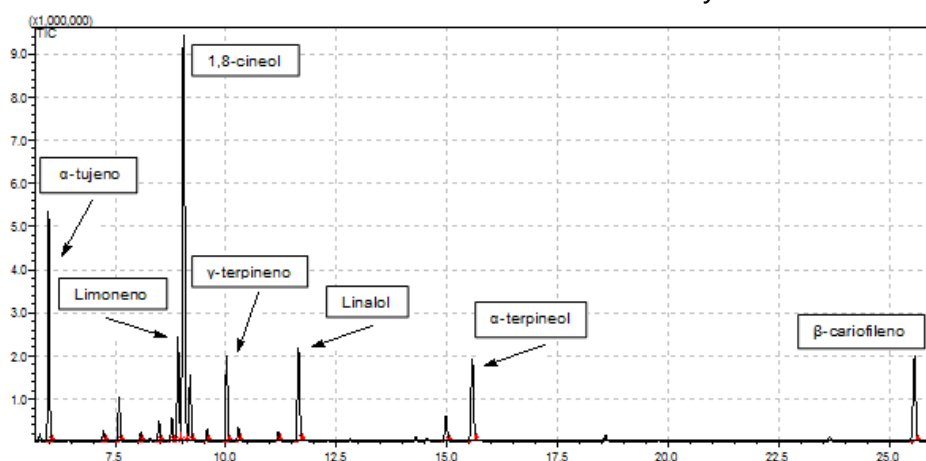


Figura 13 – Cromatograma destacando os compostos majoritários da amostra 1 coletada em Março de 2015 do óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum*.

Analisando a figura 13, foi possível identificar sete metabólitos como sendo os principais constituintes do óleo essencial de *P. cattleyanum*. Dos sete principais constituintes presentes no óleo, seis são monoterpenos: α -tujeno, limoneno, 1,8-cineol, γ -terpineno, linalol e α -terpineol, e apenas um sesquiterpeno, o β -cariofileno (Figura 12).

Com base nas intensidades dos picos encontrados no cromatograma, é possível afirmar que o 1,8-cineol é o composto de maior percentual existente no óleo essencial, seguido pelo α -tujeno. A figura 14 traz a representação das estruturas moleculares dos principais metabólitos encontrados no óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum*.

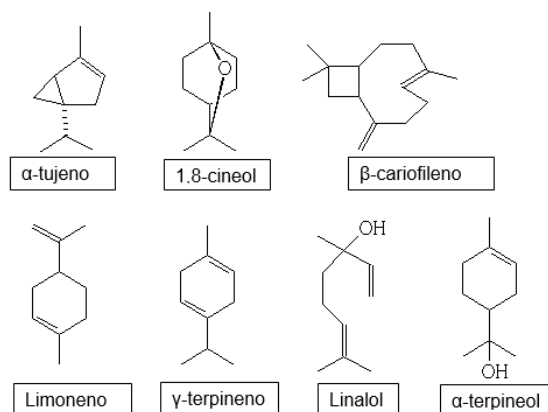


Figura 14 – Estrutura molecular dos principais componentes do óleo essencial de *P. cattleyanum*.

6.3 Análise Populacional do Óleo Essencial de *P. cattleyanum*

No sentido da realização de um estudo populacional dos óleos de *P. cattleyanum* coletados na região da restinga com os metabólitos voláteis para a mesma espécie também presente no planalto paranaense, as composições dos óleos coletados nas diferentes regiões foi comparada. O óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em dezembro de 2015 na Sede Centro do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná teve sua composição química diferente se comparada ao óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em dezembro de 2006 na região da restinga (GUERRERO JR et al, 2008). A figura 15 traz o cromatograma da amostra 2 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em dezembro de 2015 em Curitiba.

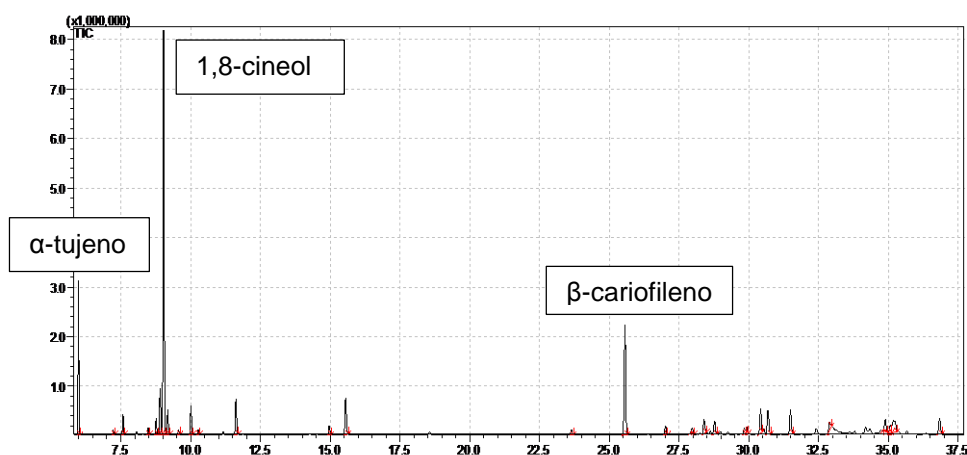


Figura 15 – Cromatograma da amostra 2 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em dezembro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

A composição química do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em dezembro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná é detalhada na tabela 2. As análises

foram realizadas em triplicata e pôde-se obter a média das concentrações percentuais dos compostos químicos presentes nas amostras para comparação com a composição do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas na região da restinga em dezembro de 2006 (GUERRERO JR et al, 2008).

Tabela 2 – Composição química percentual do óleo essencial coletado em dezembro de 2015 na sede centro do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Composto	KI	Concentração (%)			Média
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	
α -tujeno	934	10,34	9,92	10,82	10,360 \pm 0,307
β -pineno	979	-	0,33	0,38	0,355 \pm 0,025
Mirceno	990	1,41	1,44	1,57	1,473 \pm 0,064
α -terpineno	1017	0,50	0,56	0,73	0,597 \pm 0,089
p-cimeno	1024	1,70	1,33	1,28	1,437 \pm 0,176
Limoneno	1029	3,64	3,94	4,06	3,880 \pm 0,160
1,8-Cineol	1031	29,32	33,90	34,28	32,500 \pm 2,120
cis- β -ocimeno	1036	1,72	1,94	2,11	1,923 \pm 0,136
trans- β -ocimeno	1050	-	0,33	0,32	0,325 \pm 0,005
γ -terpineno	1059	2,04	2,45	2,72	2,403 \pm 0,242
Linalol	1096	2,72	3,22	3,07	3,003 \pm 0,189
Terpinen-4-ol	1177	0,72	0,90	0,80	0,807 \pm 0,062
α -terpineol	1188	3,13	3,81	3,34	3,427 \pm 0,256
α -copaeno	1376	0,74	0,58	0,56	0,627 \pm 0,076
β -cariofileno	1419	15,04	12,48	11,93	13,150 \pm 1,260
α -humuleno	1454	1,13	0,94	0,87	0,980 \pm 0,100
γ -muuroleno	1479	0,87	0,46	-	0,665 \pm 0,205
β -selineno	1490	1,87	1,60	1,52	1,663 \pm 0,138
α -selineno	1498	1,76	1,53	1,36	1,550 \pm 0,140
δ -cadineno	1523	0,73	0,70	0,61	0,747 \pm 0,122
α -cadineno	1538	3,80	2,75	2,54	3,030 \pm 0,513
Selina-3,7(11)-dieno	1546	3,75	2,90	2,81	3,153 \pm 0,398
trans-Nerolidol	1563	2,95	2,73	2,42	2,700 \pm 0,187
Torreyol	1646	1,59	1,31	1,32	1,407 \pm 0,122
β -eudesmol	1650	1,00	1,09	1,16	1,083 \pm 0,056
Pogostol	1653	2,61	-	2,26	2,435 \pm 0,175
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	1,29	2,02	1,48	1,597 \pm 0,282
Total		96,37	95,16	96,32	

O artigo publicado pelo nosso grupo (GUERRERO JR et al, 2008) constatou o α -tujeno (25,20%) e o 1,8-cineol (16,40%) como metabólitos voláteis majoritários constituintes do óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em dezembro de 2006 na região da restinga do Vale do Ribeira no estado de São Paulo. A tabela 3 mostra a composição química total do óleo essencial das folhas de *P. cattleyanum* coletadas nessa região.

Tabela 3 – Composição química percentual do óleo essencial das folhas de *Psidium cattleyanum* coletadas na região da restinga na Mata Atlântica

Composto	KI	Concentração (%)
Triciclano	925	0,2
α -tujeno	932	25,2
Sabineno	977	1,3
Mirceno	990	5,0
α -felandreno	1008	0,2
α -terpineno	1019	0,2
p-cimeno	1026	0,2
Limoneno	1030	2,9
1,8-cineol	1032	16,4
cis- β -ocimeno	1037	3,0
trans- β -ocimeno	1050	0,4
γ -terpineno	1062	0,6
Acetato de α -terpinol	1348	0,1
Isclideno	1374	0,1
α -gurjuneno	1405	4,6
β -cariofileno	1420	10,2
β -gurjuneno	1429	0,6
α -guaiano	1437	0,1
α -humuleno	1454	3,0
Valenceno	1490	8,0
α -selineno	1496	0,6
α -muuroleno	1499	4,7
δ -cadineno	1519	3,2
Cadina-1,4-dieno	1533	3,3
Ledol	1564	0,7
Spatulenol	1583	0,6
Viridiflrol	1597	0,1
Guaiol	1606	0,1
α -acorenol	1630	0,9
7-epi- α -eudesmol	1659	0,4
Epi- α -bisabolol	1689	0,2
Total		96

Os compostos majoritários foram os mesmos, α -tujeno e 1,8-cineol, porém em concentrações diferentes. Do óleo extraído das folhas coletadas em Curitiba, os compostos majoritários apresentaram as seguintes concentrações médias: 1,8-cineol (32,5%) e α -tujeno (10,3%). Em contraste o 1,8-cineol (16,4%) e o α -tujeno (25,2%), apresentaram as respectivas concentrações para os óleos extraídos das folhas coletadas no Vale do Ribeira.

O β -cariofileno mostrou-se como terceiro composto de maior concentração em ambos os óleos e apresentando concentrações similares: 13,1% para o óleo coletado no planalto paranaense e 10,2% para o óleo das folhas de *P. cattleyanum* oriundas da região da restinga. Outro composto encontrado em ambos os óleos é o Mirceno, tendo maior concentração no óleo das folhas coletadas na região da restinga (5,0%) se comparado ao óleo essencial presente nas folhas coletadas em Curitiba (1,5%). Também pode-se considerar o Limoneno, metabólito volátil presente nas folhas de *P. cattleyanum* em ambas as regiões em concentrações próximas: 2,9%

para as folhas coletadas na região da restinga e 3,9% para o óleo essencial obtido das folhas coletadas em Curitiba.

Observa-se também a presença de metabólitos voláteis característicos das folhas de *P. cattleyanum* de cada região. O óleo essencial das folhas coletadas no Vale do Ribeira apresentou compostos como: α -gurjuneno (4,6%), α -muuroleno (4,7%) e Valenceno (8,0%). Já as folhas coletadas no planalto paranaense tiveram entre os seus metabólitos voláteis: Linalol (3,0%), α -terpineol (3,4%), Selina-3,7(11)-dieno (3,1%). A figura 14 apresenta o cromatograma da amostra 2 do óleo extraído das folhas coletadas em dezembro de 2015 em Curitiba e a tabela 3 mostra a composição química dos óleos essenciais extraídos da mesma coleta.

A composição química dos óleos essenciais é determinada por fatores genéticos, porém, outros fatores podem acarretar alterações significativas na produção dos metabólitos secundários. De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente. Os estímulos decorrentes do ambiente, no qual a planta se encontra, podem redirecionar a rota metabólica, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos. Dentre estes fatores, podem-se ressaltar as interações planta/microrganismos, planta/insetos e planta/planta; idade e estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta, bem como técnicas de colheita e pós-colheita. É válido ressaltar que estes fatores podem apresentar correlações entre si, não atuando isoladamente, podendo exercer influência conjunta no metabolismo secundário. (MORAIS, 2009)

6.4 Análise Sazonal dos Óleos Essenciais de *P. cattleyanum*

A composição química majoritária dos constituintes dos óleos essenciais extraídos das folhas de *P. cattleyanum* coletadas na sede centro do Campus Curitiba da Universidade Tecnológica Federal do Paraná no período de março de 2015 a fevereiro de 2016 foi avaliada. As folhas coletadas mensalmente foram secas, trituradas e 3 amostras de óleo essencial foram extraídas, pelo método de hidrodestilação em Clevenger modificado, para cada coleta. As tabelas 4 e 5 apresentam as médias das concentrações mensais dos compostos químicos presentes nos óleos essenciais extraídos.

Tabela 4 – Composição química média sazonal (%) do óleo das folhas de *P. cattleyanum* (março de 2015 a agosto de 2015)

Composto	Mar/15	Abr/15	Mai/15	Jun/15	Jul/15	Ago/15
α -tujeno	11,20 \pm 0,18	10,72 \pm 1,36	14,44 \pm 1,01	13,65 \pm 0,40	14,86 \pm 2,71	11,19 \pm 2,10
Limoneno	5,82 \pm 0,14	4,19 \pm 0,12	4,56 \pm 0,12	4,73 \pm 0,20	4,75 \pm 0,78	4,01 \pm 0,90
1,8-cineol	33,25 \pm 4,65	26,70 \pm 0,38	26,94 \pm 1,59	28,50 \pm 2,96	28,92 \pm 1,40	26,94 \pm 5,72
γ -terpineno	4,62 \pm 0,10	2,52 \pm 0,10	3,56 \pm 0,19	3,67 \pm 0,28	3,50 \pm 0,61	2,85 \pm 0,70
Linalol	5,15 \pm 0,50	3,78 \pm 0,18	3,72 \pm 0,10	3,88 \pm 0,25	3,36 \pm 0,47	2,85 \pm 0,77
α -terpineol	5,27 \pm 0,71	4,57 \pm 0,26	3,86 \pm 0,17	4,53 \pm 0,51	3,57 \pm 0,23	4,22 \pm 0,37
β -cariofileno	6,10 \pm 0,40	8,03 \pm 0,42	9,10 \pm 0,81	9,02 \pm 0,71	9,79 \pm 1,81	8,82 \pm 1,28

Tabela 5 – Composição química média sazonal (%) do óleo das folhas de *P. cattleyanum* (setembro de 2015 a fevereiro de 2016)

Composto	Set/15	Out/15	Nov/15	Dez/15	Jan/16	Fev/16
α -tujeno	12,73 \pm 0,78	9,42 \pm 1,13	12,3 \pm 0,90	10,36 \pm 0,31	10,03 \pm 0,81	14,01 \pm 0,25
Limoneno	5,37 \pm 0,17	3,93 \pm 0,75	3,97 \pm 0,09	3,88 \pm 0,16	4,26 \pm 0,22	4,13 \pm 0,14
1,8-cineol	34,64 \pm 1,60	24,73 \pm 6,26	30,83 \pm 1,73	32,50 \pm 2,12	36,61 \pm 3,70	31,04 \pm 1,86
γ -terpineno	1,38 \pm 0,32	2,83 \pm 0,39	2,04 \pm 0,74	2,40 \pm 0,24	3,19 \pm 0,10	3,61 \pm 0,05
Linalol	3,95 \pm 0,30	3,01 \pm 0,86	3,12 \pm 1,28	3,00 \pm 0,19	3,76 \pm 0,67	3,80 \pm 0,20
α -terpineol	5,26 ^a	3,92 \pm 1,72	3,42 \pm 0,29	3,43 \pm 0,26	4,12 \pm 0,31	3,22 \pm 0,12
β -cariofileno	7,47 \pm 0,84	9,44 \pm 0,78	9,40 \pm 0,70	13,15 \pm 1,26	10,11 \pm 1,02	11,08 \pm 0,44

a) Em apenas uma das amostras extraídas da coleta de folhas de *P. cattleyanum* de setembro de 2015 o α -terpineol apresentou-se como um dos 30 compostos de maior área nos cromatogramas.

O composto 1,8-cineol apresentou-se como majoritário em todas as amostras e obteve seu máximo de concentração no mês de janeiro de 2016 atingindo a concentração média de 36,61% \pm 3,70. O cromatograma da figura 16 mostra o pico máximo (40,85%) de concentração do 1,8-cineol atingido na amostra 1 de janeiro de 2016 e a composição total dos óleos dessa respectiva coleta pode ser encontrada no Apêndice F. O α -tujeno (14,86% \pm 2,71) teve seu máximo de concentração média no mês de julho de 2015 com seu máximo individual na amostra 1 (18,92%) (Apêndice C) de respectivo cromatograma apresentado na figura 17. O α -tujeno foi o segundo composto majoritário na maioria das análises, porém em algumas amostras foi superado em quantidade pelo β -cariofileno. Como visto nas tabelas acima, nas concentrações médias mensais o β -cariofileno foi encontrado em maior quantidade que o α -tujeno nos meses de outubro de 2015, dezembro de 2015 e janeiro de 2016, quando atingiu seus máximos de concentração.

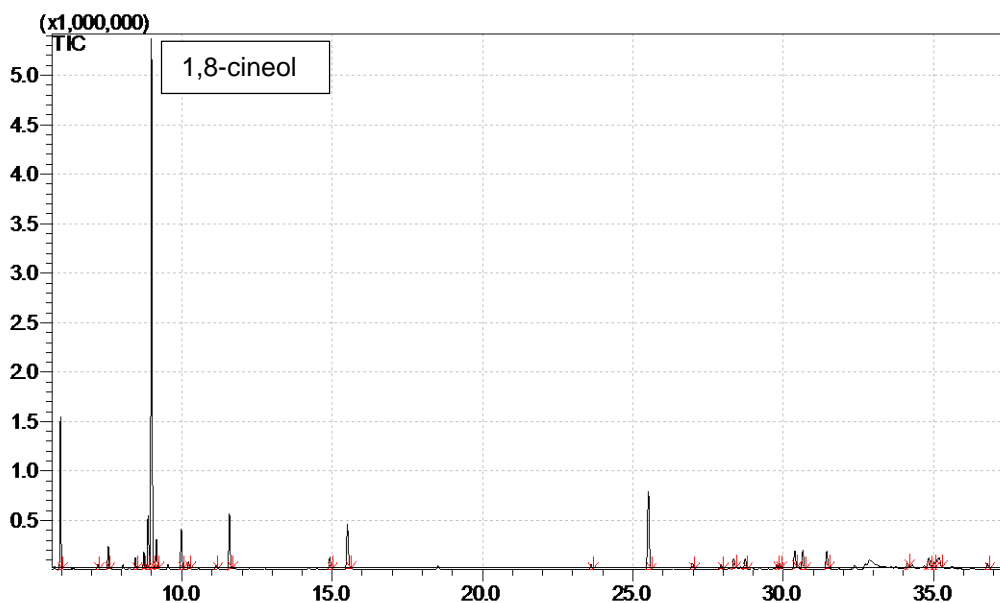


Figura 16 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em janeiro de 2016 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

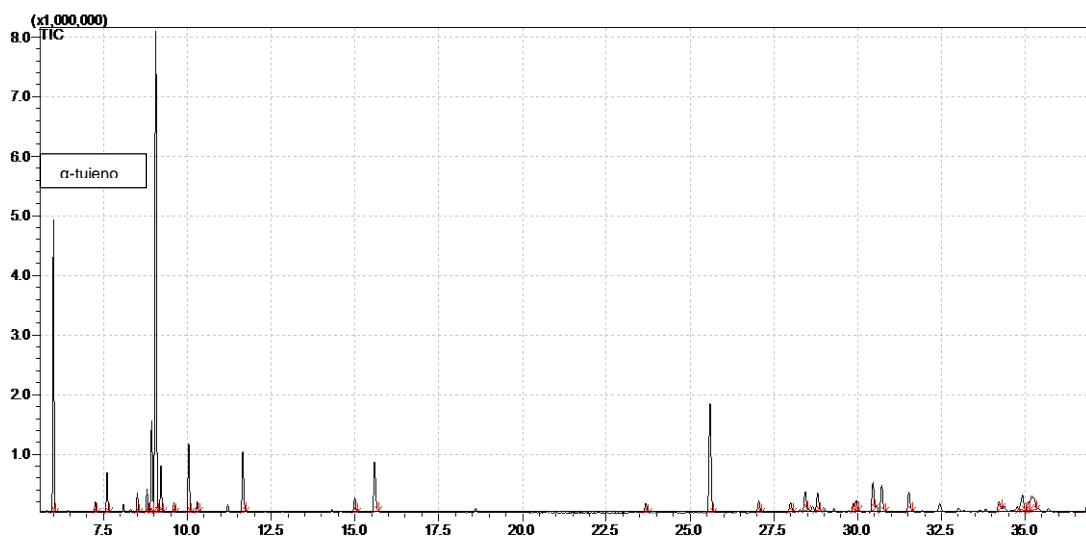


Figura 17 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em julho de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

Os menores valores para os constituintes majoritários foram de 15,34% para o 1,8-cineol na amostra 3 de outubro de 2015 (Apêndice D), 8,21% para o α -tujeno na amostra 1 de outubro de 2015 (Apêndice D) e 5,5% para o β -cariofileno na amostra 2 de março de 2015 (Apêndice A) com seus cromatogramas retratados nas figuras 18, 19 e 20, respectivamente. Os principais constituintes minoritários tais como o limoneno (6,03%), γ -terpineno (4,78%), linalol (5,65%) e α -terpineol (5,85%) tiveram

seus máximos de concentração no mês de março (Apêndice A) na amostra 1 de cromatograma exposto na figura 21.

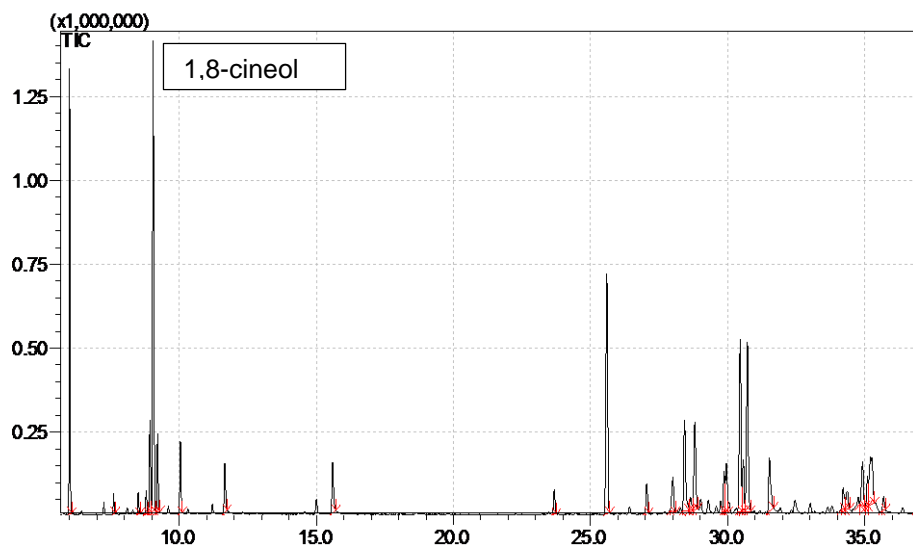


Figura 18 – Cromatograma da amostra 3 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em outubro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

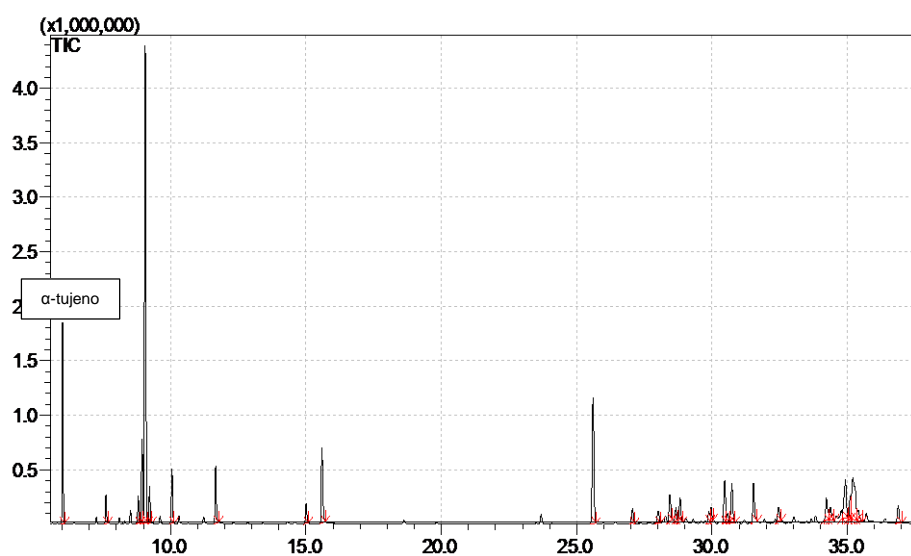


Figura 19 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em outubro de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

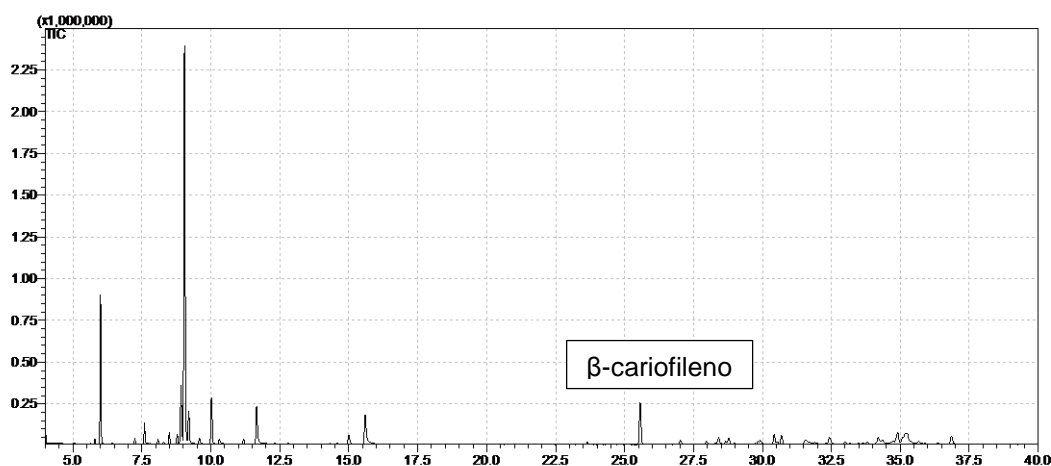


Figura 20 – Cromatograma da amostra 2 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em março de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

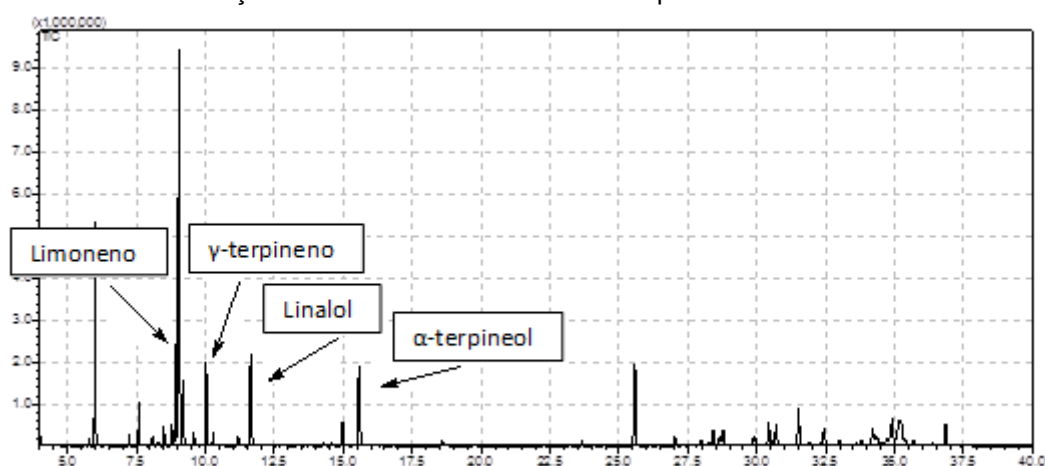


Figura 21 – Cromatograma da amostra 1 do óleo essencial extraído das folhas de *P. cattleyanum* coletadas em março de 2015 na sede Centro do Campus Curitiba da UTFPR

Os fatores ambientais associados ao estágio de desenvolvimento da planta podem influenciar a composição sazonal do óleo essencial. Segundo Santos & Inneco (2003), ao passar dos dias há a possibilidade de variações na intensidade luminosa e temperatura, agindo diretamente em processos primários, tais quais a fotossíntese e a respiração, que podem acabar influenciando indiretamente a produção de metabólitos secundários, entre eles os constituintes do óleo essencial, que tem sua síntese dependente de produtos do metabolismo primário. A intensidade da luz pode, também alterar a produção de óleo essencial através da ativação de enzimas fotossensíveis envolvidas na via do ácido mevalônico (SOUZA et al, 2011), precursor dos terpenos que são os constituintes químicos majoritários do óleo essencial de *P. cattleyanum*.

6.5 Atividade Biológica

No sentido de avaliar a porcentagem de lise celular do patógeno *Trypanosoma cruzi*, amostras de óleos essenciais extraídos de várias espécies de plantas coletadas em diferentes ecossistemas foram inoculados com os parasitas para a comparação de suas atividades biológicas frente ao microrganismo *Trypanosoma cruzi*. As porcentagens de lise celular e concentração necessária para reduzir a atividade dos microrganismos pela metade (IC₅₀) são apresentados na tabela 6. Os ensaios biológicos in vitro forneceram os seguintes resultados:

Tabela 6 – Porcentagens de lise celular (%) de organismos *Trypanosoma cruzi* inoculados com os respectivos óleos essenciais

Espécie (Fonte)	Concentração (µg/mL) x Porcentagem de Lise (%)				IC ₅₀ (µg/mL)
	0,5	2,0	8,0	32,0	
<i>Cordia Verbenacea</i> (Registro)	1,7±0,6	35,6±1,2	49,1±8,0	56,5±0,4	12,50
<i>Psidium Cattleyanum</i> (Curitiba)	44,1±0,8	66,1±3,2	65,0±6,4	68,4±3,2	0,53
<i>Cordia Verbenacea</i> (Ilha Comprida)	39,0±6,4	56,5±1,4	69,5±4,8	72,9±6,4	1,27
<i>Hedychium coronarium</i> (Registro)	24,9±0,8	40,1±4,8	42,8±0,8	59,9±2,4	11,46

Avaliando os dados da tabela 6 nota-se que o óleo essencial de *Psidium cattleyanum*, coletado no mês de outubro de 2015, obteve o melhor desempenho na análise de IC₅₀. Pois, apresentou a menor concentração necessária para a redução da atividade biológica do *Trypanosoma cruzi* pela metade. A partir dos dados pôde-se obter o seguinte gráfico, representado na figura 22, para a atividade biológica IC₅₀:

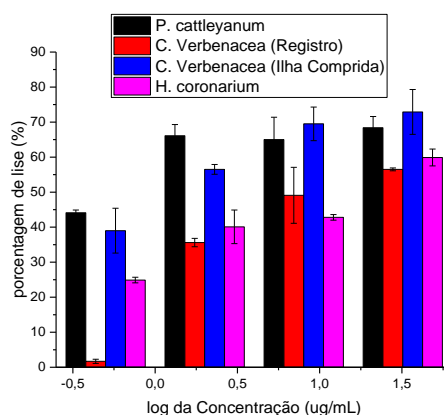


Figura 22 – Gráfico de Porcentagem de Lise Parasitária dos óleos essenciais avaliados

A partir do gráfico acima pode se notar que nas menores concentrações a efetividade do óleo essencial de *Psidium Cattleyanum* na lise celular das células de *Trypanosoma cruzi* é mais satisfatória do que a dos demais óleos essenciais. Em concentrações mais elevadas, o óleo essencial de *Cordia Verbenacea* coletada na Ilha Comprida apresentou maiores porcentagens de lise celular.

7. CONCLUSÃO

A extração dos óleos essenciais das folhas de *Psidium cattleyanum* pelo método da hidrodestilação usando o aparelho Clevenger modificado cumpriu o seu objetivo com rendimentos variando entre 0,262% a 0,655% gramas de folha seca por gramas de óleo essencial superiores ao obtido por Guerrero Jr et al, 2008 (0,26%). A quantidade dos óleos essenciais obtidas foi suficiente para as análises químicas e biológicas.

A identificação dos componentes voláteis do óleo essencial extraído das folhas de *Psidium cattleyanum* coletadas na sede centro do Campus Curitiba da Universidade Federal do Paraná foi satisfatória e apontou a presença de 7 metabólitos secundários principais: α -tujeno, limoneno, 1,8-cineol, γ -terpineno, linalol, α -terpineol, e β -cariofileno

A análise sazonal demonstrou que os constituintes químicos dos óleos essenciais, em geral, são relacionados ao padrão genético da planta, entretanto, diversos outros fatores são capazes de gerar mudanças significativas na síntese dos metabólitos secundários. Os metabólitos secundários são fruto da interação química entre as plantas e o ambiente. Os fatores bióticos e abióticos presentes no ambiente no qual a planta se encontra, podem influenciar a rota metabólica, tendo como consequência a biossíntese de diferentes compostos químicos. A radiação solar, por exemplo, é capaz de influenciar enzimas fotossensíveis participantes da rota do ácido mevalônico, precursor dos terpenóides, grupo de substâncias químicas encontradas em maior quantidade no óleo essencial de *Psidium cattleyanum*.

O estudo populacional de metabolitos voláteis das folhas da *P. cattleyanum* foi realizado. O óleo essencial obtido das folhas dessa espécie cultivada na cidade de Curitiba-PR mostrou a presença do 1,8-cineol como composto majoritário. A diferença de alguns componentes da variação populacional das espécies ocorreu devido a fatores como floração, estágio de desenvolvimento, umidade do ar, tipo de solo, clima, estações do ano, que podem determinar a quantidade de produção de metabolitos secundários das plantas.

O trabalho de atividade biológica foi realizado em colaboração com o departamento de Farmácia do Campus Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. A análise biológica mostrou que os componentes presentes no óleo essencial de *Psidium cattleianum* apresentaram maior efetividade na lise celular do *Trypanosoma cruzi* se comparados a óleos essenciais de *Cordia verbenacea* e *Hedychium coronarium* apresentando menor valor de IC₅₀ (0,53 µg/mL).

8. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA, 2007.

ATKINS, P. W.; JONES, L. **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Porto Alegre: Editora Bookmam, 2001.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**. Quim. Nova, Vol. 32, No. 3, p. 588-594, 2009

BOURGAUD, F. **Production of plant secondary metabolites: a historical perspective**. Plant Science, v.161, 2001.

BRANT R. S.; PINTO J. E. B. P.; BERTOLUCCI S. K. V.; ALBUQUERQUE C. J. B. **Teor do óleo essencial de cidrão (*Aloysia triphylla* (L' Hérít) Britton Verbenaceae) em função da variação sazonal**. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais 10: 83-88, 2008.

BRENER, Z. **Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infective with *Trypanosoma cruzi***. Rev. Inst. Med. Trop, , v.4, p.389-96, São Paulo, 1962

BUSATO, N. V.; SILVEIRA, J. C.; COSTA, A. O. S. da.; JUNIOR, E. F. da C. **Estratégias de modelagem da extração de óleos essenciais por hidrodestilação e destilação a vapor**. Ciência Rural, Santa Maria, v.44, n.9, p.1574-1582, set, 2014

CHIARADIA, M.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. **O Estado da Arte da Cromatografia Associada à Espectrometria de Massas Acoplada à Espectrometria de Massas na Análise de Compostos Tóxicos em Alimentos**. Quimica Nova; v.31, n.3, p. 623-636, 2008.

CORRÊA JUNIOR, C. et al. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

CRUZ, A.; KAPLAN, M. **Uso medicinal de espécies das famílias Myrtaceae e Melastomataceae no Brasil**. Floresta e Ambiente, v.11, n.1, p.47-52, 2004.

CUNHA JR, A. **Constituintes Químicos da espécie vegetal *Polygala sabulosa* A. W. Bennett (POLYGALACEAE)**, Florianópolis, UFSC, 2002

DA SILVA, L.; MEDEIROS, J. **Anatomia Foliar Comparativa de *Psidium Cattleianum* Sab. (Myrtaceae)**, INSULA, Florianópolis, p. 15-38, 2005

DI STASI, L. C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência - Um Guia de Estudos Multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 1996

EWING, G. W. **Métodos Instrumentais de Análise Química**. São Paulo, Editora Edgar Blücher, 2002.

FETTER, M. da R.; VIZZOTTO, M.; CORBELINI, D. D.; GONZALEZ, T. N. **Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá-vermelho (*Psidiumcattleianum*Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS**. Braz. J. Food Technol., III SSA, 2010

FIEHN, O. **Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes**. Plant Molecular Biology, v 48, pp.155-171, 2002.

GUERRERO JR, P. G. et al. **Volatile oil *Psidium cattleianum* Sabine from the Brazilian Atlantic Forest**. Journal of Essential Oil Research. v.20, p.519-520, 2008.

HAMBURGER Matthias, HOSTETTMANN Kurt. **Bioactivity in plants: the links between phytochemistry and medicine**. Phytochemistry 12, 1991

HOSTETTMANN Kurt et al. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Paulo: EDUFSCAR, 2003

MACHADO, Terezinha F.; BORGES, Maria de F.; BRUNO Laura M. **Aplicação de Antimicrobianos Naturais na Conservação de Alimentos**. Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2011.

MARTINS, C.R. et al. **Plantas medicinais**. Viçosa: Editora da UFV, 1994.

MORAIS, L. A. S. **Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais**. Horticultura Brasileira 27: S4050- S4063, 2009.

PAULUS D.; VALMORBIDA R.; TOFFOLI E.; NAVA G.A. **Teor e composição química de óleo essencial de cidró em função da sazonalidade e horário de colheita**. Horticultura Brasileira 31: 203-209, 2013

SANGWAN N. S.; FAROOQI A. H. A.; SFIABIH F.; SANGWAN R. S. **Regulation of essential oil production in plants.** Plant Growth Regulation 34: 3-21, 2001

SANTOS M. R. A.; INNECO R. **Influência de períodos de secagem de folhas de óleo essencial de erva-cidreira (quimiotipo limonenocarvona).** Revista Ciência Agronômica 34: 511, 2003

SHALABY, E. A. **Biofuel: Sources, Extraction and Determination, Liquid, Gaseous and Solid Biofuels - Conversion Techniques**, InTech, DOI: 10.5772/51943, 2013
Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/liquid-gaseous-and-solid-biofuels-conversion-techniques/biofuel-sources-extraction-and-determination>> . Acesso em: 1 jun. 2015

SILVA, L. V. et al. **Extração do óleo essencial da pimenta rosa (Shinusmolle) usando hidrodestilação e soxhlet.** Anais do VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. VI COBEQ, Campinas, 2005.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Plantas da medicina popular do Rio Grande no Sul.** Porto Alegre: Editora da Universidade, 1986.

SIMÕES, C. M. O. et al. **Óleos voláteis. Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC. Cap.18, p.475, 2000.

SOUZA M. F.; MANGANOTTI S. A.; SOUZA P. N. S.; MEIRA M. R.; MATOS C. C.; MARTINS E. R. **Influência do horário de coleta, orientação geográfica e dossel na produção de óleo essencial de Cordia verbenácea.** Revista Biotemas 24: 9-14, 2011

TAIZ L.; ZEIGER E. **Fisiologia Vegetal.** Porto Alegre: Artmed. 719p, 2004

VILLAS-BÔAS, S. G.; GOMBERT, A. K. **Análise do metaboloma.** Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento. Ano IX. n. 36, pp. 58-69, 2006.

WHATLEY, J. M.; WHATLEY, F.R. **A luz e a vida das plantas.** led. São Paulo, EPU, 1982

APÊNDICE A – Constituintes químicos do óleo essencial de *P. cattleyanum* de março de 2015 e abril de 2015

Composto	KI	Coleta 1 (%) - Mar/2015			Coleta 2 (%) - Abr/2015		
		amostra 1	amostra 2	amostra 3	amostra 1	amostra 2	amostra 3
α -tujeno	930	10,93	11,29	11,39	11,74	11,74	8,69
β -pineno	979	0,52	0,5	0,48	-	-	-
Mirceno	991	2,12	1,73	1,91	1,1	1,39	1,24
α -felandreno	1003	0,46	0,44	0,42	-	-	-
α -terpineno	1017	1,07	1,05	0,98	-	-	-
p-cimeno	1025	1,15	0,84	1,11	1,84	1,85	1,84
limoneno	1029	6,03	5,66	5,78	4,04	4,38	4,16
1,8-cineol	1031	27,63	40,22	31,89	26,34	27,27	26,48
cis- β -ocimeno	1037	3,46	2,98	3,17	2,11	2,45	2,34
trans- β -ocimeno	1050	0,64	0,55	0,59	-	-	-
γ -terpineno	1060	4,78	4,52	4,57	2,37	2,63	2,56
terpinoleno	1089	0,46	0,47	0,43	-	-	-
Linalol	1097	5,65	4,41	5,4	3,52	3,88	3,95
terpinen-4-ol	1177	1,64	1,15	1,6	1,1	1,19	1,25
α -terpineol	1189	5,85	4,2	5,76	4,18	4,68	4,86
β -cariofileno	1419	6,56	5,5	6,24	7,4	8,37	8,32
α -humuleno	1454	0,55	0,53	0,64	0,78	0,84	0,85
γ -muuroleno	1479	-	-	-	-	-	0,7
α -amorfenol	1484	-	-	-	-	0,68	-
eudesmadieno	1489	1,11	0,71	1,11	-	-	-
β -selineno	1490	-	-	-	1,39	1,58	1,63
viridifloreno	1496	-	-	-	0,88	0,7	0,8
α -selineno	1498	-	-	-	-	1,58	1,64
isodauceno	1500	-	-	-	1,57	-	-
trans- β -guaiano	1503	1,11	0,59	1,12	-	-	-
δ -cadineno	1523	0,29	0,36	0,26	0,64	0,71	0,75
α -cadineno	1538	1,5	1,25	1,63	1,93	2,53	2,26
selina-3,7(11)-dieno	1546	1,5	1,23	1,55	1,96	2,38	2,29
trans-nerolidol	1563	2,79	0,86	2,28	3,79	3,65	3,98
óxido de cariofileno	1583	1,32	0,96	1,27	2,47	1,33	1,68
rosifoliol	1600	-	-	-	1,03	-	-
1-epi-cubenol	1628	0,85	0,88	1,15	1,83	1,61	-
eudesmol	1632	-	-	-	0,78	0,87	-
cis-Cadin-4-en-7-ol	1636	0,34	0,52	-	-	-	1,81
epi- α -cadinol	1640	-	-	-	-	-	1,12
Torreyol	1646	-	-	-	3,79	3,24	3,54
Cubenol	1647	2,12	1,72	0,55	-	-	-
β -eudesmol	1651	1,16	0,64	0,15	-	1,43	1,54
α -eudesmol	1653	-	-	-	3,8	3,19	3,24
neo-intermedeol	1660	3,29	2,4	1,49	2,41	2,17	2,57
junicedranona*	1665	-	-	-	0,89	0,73	0,81
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	1,68	1,26	1,68	2,27	2,1	2,46

APÊNDICE B – Constituintes químicos do óleo essencial de *P. cattleyanum* de maio de 2015 e junho de 2015

Composto	KI	Coleta 3 (%) - Mai/2015			Coleta 4 (%) - Jun/2015		
		amostra 1	amostra 2	amostra 3	amostra 1	amostra 2	amostra 3
α -tujeno	930	13,06	14,3	15,95	13,06	14,07	13,83
β -pineno	979	-	-	0,6	-	-	-
mirceneno	991	1,72	1,74	1,62	1,72	1,93	1,56
α -terpineno	1017	0,95	-	0,93	0,95	0,96	-
p-cimeno	1025	0,94	1,56	1,17	0,94	1,06	1,12
limoneno	1029	4,47	4,73	4,47	4,47	5,03	4,69
1,8-cineol	1031	26,49	29,33	25	26,49	26,07	32,93
cis- β -ocimeno	1037	2,57	2,74	3,38	2,57	2,84	2,27
trans- β -ocimeno	1050	-	-	0,5	-	0,64	-
γ -terpineno	1060	3,48	3,35	3,84	3,48	4,08	3,44
Linalol	1097	3,67	3,61	3,87	3,67	4,26	3,72
terpinen-4-ol	1177	1,04	1,02	1,02	1,48	1,28	1,16
α -terpineol	1189	4,02	3,96	3,61	4,02	5,03	-
α -copaeno	1376	-	-	0,63	-	0,67	0,59
β -cariofileno	1419	9,8	7,89	9,61	9,8	9,3	7,96
α -humuleno	1454	1,03	0,82	0,98	1,03	0,97	0,8
γ -muuroleno	1479	0,78	0,66	0,8	0,78	0,76	0,67
β -selineno	1490	1,71	1,55	1,9	1,71	1,83	1,59
viridifloreno	1496	-	0,59	-	-	-	-
α -selineno	1498	1,67	1,51	1,82	1,67	1,77	1,53
delta-cadineno	1523	0,94	0,83	1,01	0,94	0,98	0,85
α -cadineno	1538	-	0,53	0,74	2,98	2,6	2,3
selina-3,7(11)-diene	1546	2,86	2,29	2,97	2,86	2,55	2,07
trans-nerolidol	1563	2,93	2,91	3,33	2,93	2,73	2,11
óxido de cariofileno	1583	0,96	1,01	-	0,96	-	0,53
1-epi-cubenol	1628	0,99	1,11	0,73	0,99	0,84	0,86
cis-Cadin-4-en-7-ol	1636	0,68	0,69	-	0,68	-	-
torreyol	1646	2,01	2,04	1,62	2,01	1,56	1,51
β -eudesmol	1651	1,18	1,23	0,98	1,18	0,88	0,96
α -eudesmol	1653	-	-	1,65	1,9	1,6	1,76
neo-intermedeol	1660	-	1,84	-	-	-	-
junicedranona*	1665	1,84	-	-	1,84	-	1,27
14-hidroxi-9-epi-(E)-cariofileno	1669	-	0,49	-	-	-	0,53
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	1,92	1,16	1,51	1,92	1,66	1,37

APÊNDICE C – Constituintes químicos do óleo essencial de *P. cattleyanum* de julho de 2015 e agosto de 2015

Composto	KI	Coleta 5 (%) - Jul/2015			Coleta 6 (%) - Ago/2015		
		amostra 1	amostra 2	amostra 3	amostra 1	amostra 2	amostra 3
α-tujeno	930	18,92	12,86	12,79	9,85	14,34	9,38
β-pineno	979	0,71	-	0,51	-	0,45	-
mirreno	991	2,57	2,11	1,71	0,87	1,42	0,74
α-terpineno	1017	1,29	0,92	0,7	-	0,58	-
p-cimeno	1025	1,46	-	0,65	1,56	2,19	1,41
limoneno	1029	5,92	4,35	3,97	3,44	5,36	3,22
1,8-cineol	1031	31,02	27,91	27,82	23,4	35,51	21,9
cis-β-ocimeno	1037	3	2,37	1,87	1,56	2,77	1,66
trans-β-ocimeno	1050	0,64	-	-	-	0,54	-
γ-terpineno	1060	4,42	3,24	2,85	2,27	3,89	2,38
terpinoleno	1089	-	-	-	-	0,28	-
linalol	1097	3,92	3,5	2,65	2,34	4,01	2,21
terpinen-4-ol	1177	0,96	1,01	0,88	1,04	1,33	0,94
α-terpineol	1189	3,22	3,92	3,57	4,57	4,43	3,67
α-copaeno	1376	0,58	0,7	0,74	0,65	0,59	0,83
β-cariofileno	1419	7,08	10,79	11,51	8,41	7,32	10,74
α-humuleno	1454	0,71	1,15	1,16	0,92	0,65	1,16
γ-muurolo	1479	0,58	-	-	-	-	-
α-amorfeno	1484	-	0,9	0,92	0,97	-	1,28
β-selineno	1490	1,23	1,81	1,95	1,9	-	3,06
viridifloreno	1496	-	-	-	-	0,66	1,43
α-selineno	1498	-	1,81	1,92	1,91	1,51	2,68
delta-cadineno	1523	0,66	0,76	0,72	0,71	0,6	1,33
α-cadineno	1538	1,77	3	2,93	2,78	1,75	-
selina-3,7(11)-dieno	1546	1,7	2,93	2,99	2,58	1,71	3,31
trans-nerolidol	1563	1,28	2,06	2,23	3,65	1,32	3,63
óxido de cariofileno	1583	-	1	1,57	1,13	1,05	1,85
1-epi-cubenol	1628	-	0,99	1,18	2,49	-	-
eudesmol	1632	-	-	-	1,26	-	-
cis-Cadin-4-en-7-ol	1636	0,5	0,69	-	-	0,71	2,16
β-acorenol	1636	-	-	-	-	-	0,65
torreyol	1646	0,97	2,01	2,5	4,67	1,57	4,2
β-eudesmol	1651	0,54	1,16	-	-	-	-
α-eudesmol	1653	0,92	1,78	1,4	-	-	-
intermedeol	1666	-	-	-	-	-	2,23
14-hidroxi-9-epi-(E)-cariofileno	1669	-	0,46	2,37	-	-	-
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	1,11	1,91	2,19	2	1,02	0,99

APÊNDICE D – Constituintes químicos do óleo essencial de *P. cattleyanum* de setembro de 2015 e outubro de 2015

Composto	KI	Coleta 7 (%) - Set/2015			Coleta 8 (%) - Out/2015		
		amostra 1	amostra 2	amostra 3	amostra 1	amostra 2	amostra 3
α -tujeno	930	12,89	11,58	13,8	8,21	8,94	11,11
β -pineno	979	0,61	-	-	-	-	-
mirreno	991	2,09	1,53	1,57	1,22	1,48	0,57
α -terpineno	1017	-	-	-	-	0,78	0,61
p-cimeno	1025	5,02	3,58	4,58	1,26	1,27	0,67
limoneno	1029	5,61	5,12	5,39	4,14	4,84	2,81
1,8-cineol	1031	34,93	32,24	36,74	27,11	31,75	15,34
cis- β -ocimeno	1037	1,31	1,55	1,4	1,76	2,11	2,38
γ -terpineno	1060	-	1,7	1,06	2,77	3,41	2,3
linalol	1097	4,41	3,69	3,76	3,14	4,18	1,72
terpinen-4-ol	1177	1,41	1,35	1,31	1,18	1,48	-
α -terpineol	1189	5,26	-	-	-	5,63	2,2
γ -terpineol	1199	-	5,43	4,9	4,89	-	-
α -copaeno	1376	0,6	0,68	0,51	-	0,61	0,98
β -cariofileno	1419	7,96	8,23	6,21	8,96	8,74	10,61
α -humuleno	1454	0,82	0,86	0,57	0,99	0,87	-
γ -muuroleno	1479	0,67	0,8	0,55	0,89	0,84	1,78
β -selineno	1490	1,39	1,67	1,24	1,84	1,69	4,56
δ -selineno	1492	-	-	-	-	-	0,69
viridifloreno	1496	0,41	0,73	0,81	-	-	4,04
α -selineno	1498	1,25	1,5	1,15	1,82	1,7	-
delta-cadineno	1523	0,63	0,95	0,64	0,86	0,81	2,19
α -cadineno	1538	2,05	2,53	1,68	2,98	2,72	2,19
selina-3,7(11)-dieno	1546	1,73	2,28	1,47	2,81	2,57	7,96
trans-nerolidol	1563	0,94	1,58	1,07	2,72	1,83	2,87
óxido de cariofileno	1583	1,54	0,91	1,22	1,08	0,82	-
1-epi-cubenol	1628	-	0,99	-	1,9	0,8	-
cis-Cadin-4-en-7-ol	1636	-	-	0,98	-	-	1,07
torreyol	1646	1,15	1,89	1,53	3,87	2,1	2,23
cubenol	1647	-	-	-	1,21	-	-
β -eudesmol	1651	-	1,01	0,87	1,47	0,91	1,29
α -eudesmol	1653	1,13	1,84	1,71	6,31	3,27	4,33
selina-11-en-4- α -ol	1659	-	1,4	-	-	-	-
intermedeol	1666	0,99	-	1,1	-	-	-
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	1,13	1,23	1,34	1,35	1,88	0,84

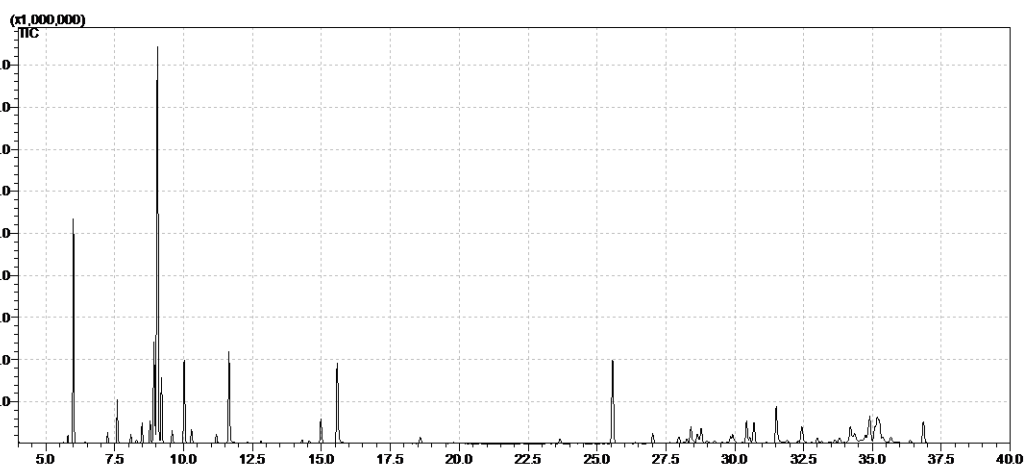
APÊNDICE E – Constituintes químicos do óleo essencial de *P. cattleyanum* de novembro de 2015 e dezembro de 2015

Composto	KI	Coleta 9 (%) - Nov/2015			Coleta 10 (%) - Dez/2015		
		amostra 1	amostra 2	amostra 3	amostra 1	amostra 2	amostra 3
α -tujeno	930	13,57	12,37	10,95	10,34	9,92	10,82
β -pineno	979	0,34	-	-	-	0,33	0,38
mirreno	991	1,29	1,18	0,47	1,41	1,44	1,57
α -felandreno	1003	-	-	-	-	-	0,29
α -terpineno	1017	0,93	0,45	-	0,5	0,56	0,73
p-cimeno	1025	1,63	2,63	3,35	1,7	1,33	1,28
limoneno	1029	4,1	3,84	3,97	3,64	3,94	4,06
1,8-cineol	1031	33,43	28,59	30,47	29,32	33,9	34,28
cis- β -ocimeno	1037	2,71	2,24	0,69	1,72	1,94	2,11
trans- β -ocimeno	1050	0,36	-	-	-	0,33	0,32
γ -terpineno	1060	3,16	1,89	1,08	2,04	2,45	2,72
terpinoleno	1089	0,34	-	-	-	-	-
linalol	1097	4,5	3,67	1,2	2,72	3,22	3,07
terpinen-4-ol	1177	0,97	0,85	0,65	0,72	0,9	0,8
α -terpineol	1189	3,85	3,33	3,08	3,13	3,81	3,34
α -copaeno	1376	-	0,49	0,62	0,74	0,58	0,56
β -cariofileno	1419	8,36	9,55	10,3	15,04	12,48	11,93
α -humuleno	1454	0,68	0,84	0,97	1,13	0,94	0,87
γ -muuroleno	1479	-	0,68	1,35	0,87	0,46	-
β -selineno	1490	1,33	1,49	2,59	1,87	1,6	1,52
α -selineno	1498	1,23	-	2,28	-	-	1,36
delta-cadineno	1523	0,53	0,73	1,22	0,93	0,7	0,61
α -cadineno	1538	-	3,28	4,38	3,8	2,75	2,54
selina-3,7(11)-dieno	1546	2,61	3,22	4,41	3,75	2,9	2,81
E-nerolidol	1563	2,66	3,6	2,47	2,95	2,73	2,42
Álcool Cariofilênico	1572	-	-	1,1	-	-	-
1-epi-cubenol	1628	-	0,56	0,55	0,46	-	-
eudesmol	1632	-	-	0,57	-	-	-
torreyol	1646	1,26	1,85	2,64	1,59	1,31	1,32
β -eudesmol	1651	0,99	1,17	1,46	1	1,09	1,16
pogostol	1653	-	3,54	-	2,61	-	2,26
α -eudesmol	1653	2,42	-	3,43	-	2,85	-
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	0,85	1,77	1,16	1,29	2,02	1,48

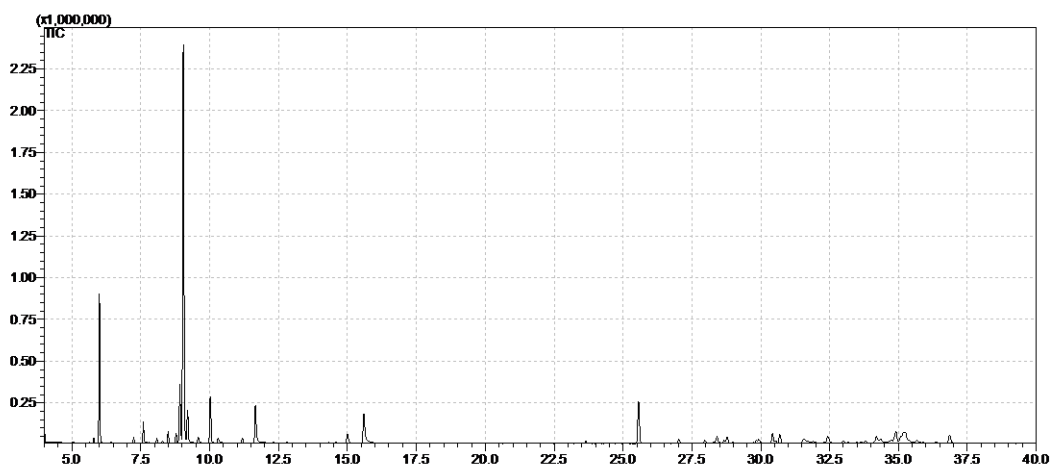
APÊNDICE F – Constituintes químicos do óleo essencial de *P. cattleyanum* de janeiro de 2016 e fevereiro de 2016

Composto	KI	Coleta 11 (%) - Jan/2016			Coleta 12 (%) - Fev/2016		
		amostra 1	amostra 2	amostra 3	amostra 1	amostra 2	amostra 3
α -tujeno	930	9,27	11,25	9,58	14,39	13,92	13,73
β -pineno	979	0,38	0,43	-	0,51	0,48	0,46
mirreno	991	1,58	1,72	1,46	1,35	1,54	1,51
α -felandreno	1003	-	0,36	-	-	0,34	0,35
α -terpineno	1017	0,88	0,9	0,82	0,9	0,87	0,82
p-cimeno	1025	1,26	1,18	0,82	0,61	0,87	0,75
limoneno	1029	4,34	4,51	3,92	3,98	4,34	4,06
1,8-cineol	1031	40,85	31,06	37,93	28,25	33,83	31,03
cis- β -ocimeno	1037	2,25	2,27	1,93	2,41	2,71	2,64
trans- β -ocimeno	1050	-	-	-	0,44	0,52	0,53
γ -terpineno	1060	3,2	3,34	3,04	3,54	3,69	3,6
terpinoleno	1089	0,36	0,35	-	-	0,35	-
linalol	1097	4,76	3,03	3,49	3,5	3,98	3,93
terpinen-4-ol	1177	1,18	0,9	0,96	0,83	0,85	0,91
α -terpineol	1189	4,59	3,94	3,83	3,09	3,16	3,4
α -copaeno	1376	0,47	-	0,51	0,72	0,54	0,58
β -cariofileno	1419	8,57	11,09	10,66	11,26	10,42	11,55
α -humuleno	1454	0,66	0,92	0,84	0,95	0,77	0,88
γ -muuroloeno	1479	0,48	-	0,64	0,78	-	-
β -selineno	1490	1,1	1,39	1,32	1,84	1,4	1,59
α -selineno	1498	1,08	1,31	1,28	1,78	1,35	1,52
delta-cadineno	1523	0,5	0,57	0,6	0,82	0,61	0,65
α -cadineno	1538	1,89	2,34	2,53	3,53	2,28	2,89
selina-3,7(11)-dieno	1546	2,12	2,56	2,51	3,5	2,48	2,82
E-nerolidol	1563	1,93	3,74	2,38	2,89	2,57	2,59
óxido de cariofileno	1583	-	-	0,67	-	-	-
1-epi-cubenol	1628	0,37	0,64	0,47	-	-	-
torreyol	1646	1,24	2,26	1,69	1,22	0,99	1,09
β -eudesmol	1651	0,77	1,4	0,88	1,07	1,08	1,01
α -eudesmol	1653	-	-	-	-	2,27	2,55
neo-intermedeol	1660	2,14	4,12	2,51	2,47	-	-
Eudesm-7(11)-en-4-ol	1700	0,68	4,12	0,71	0,96	0,84	0,81

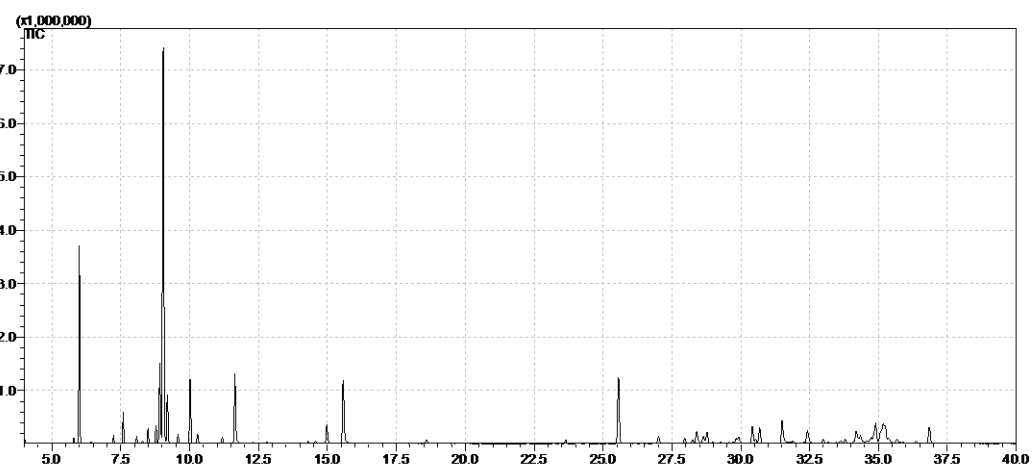
APÊNDICE G – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Março de 2015
Amostra 1



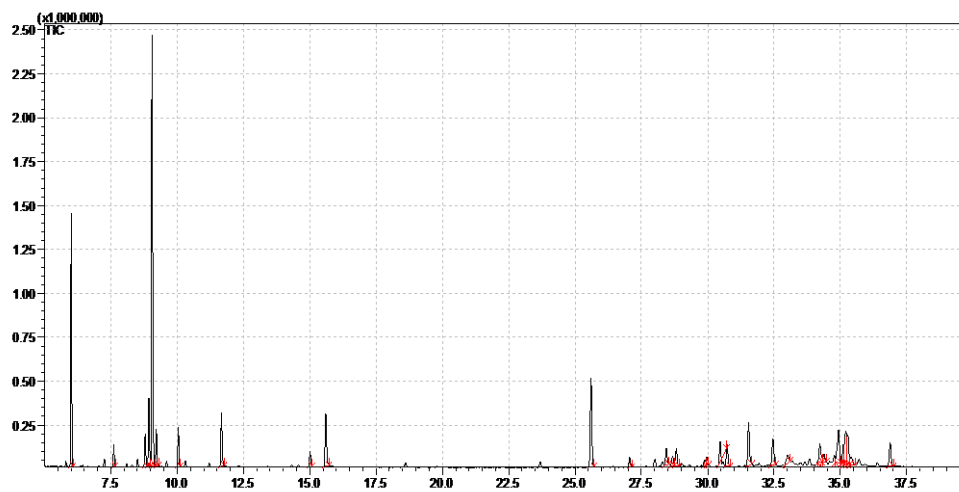
Amostra 2



Amostra 3



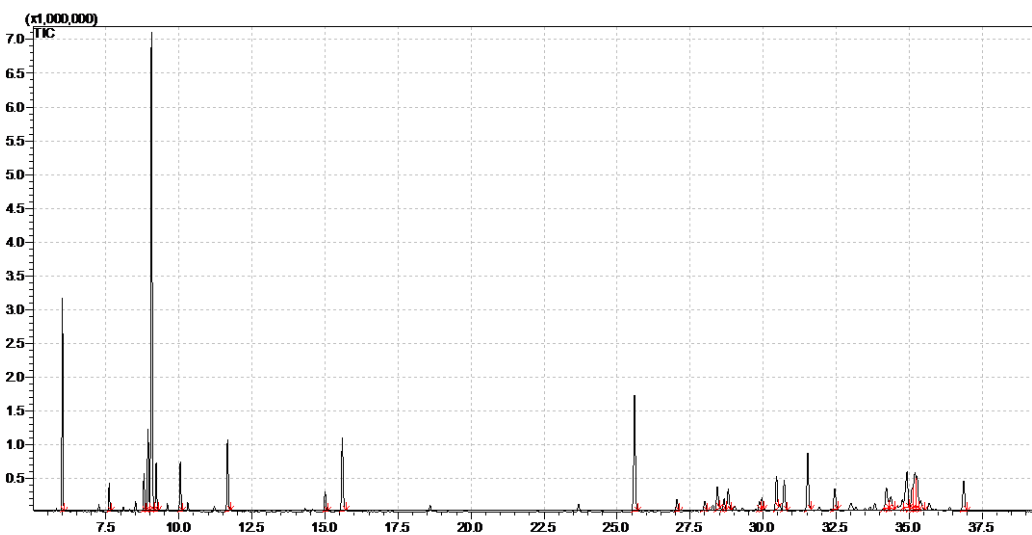
APÊNDICE H – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Abril de 2015
Amostra 1



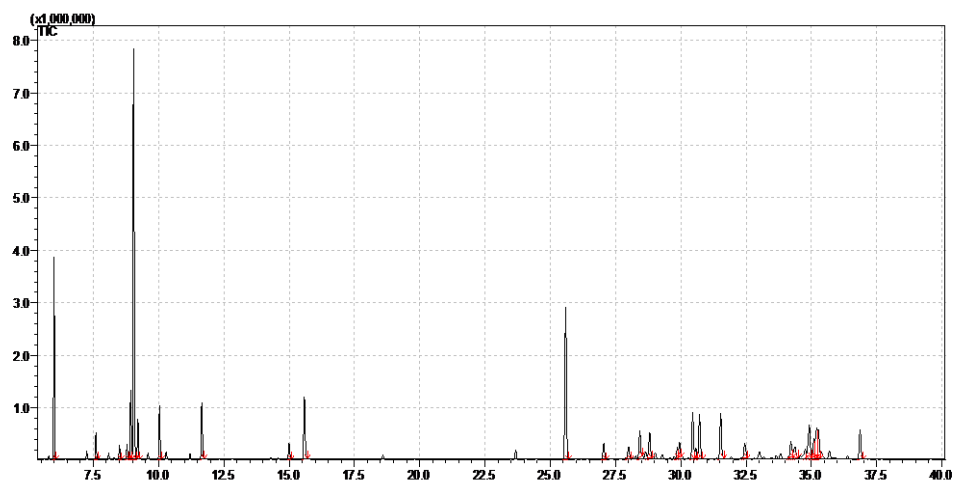
Amostra 2



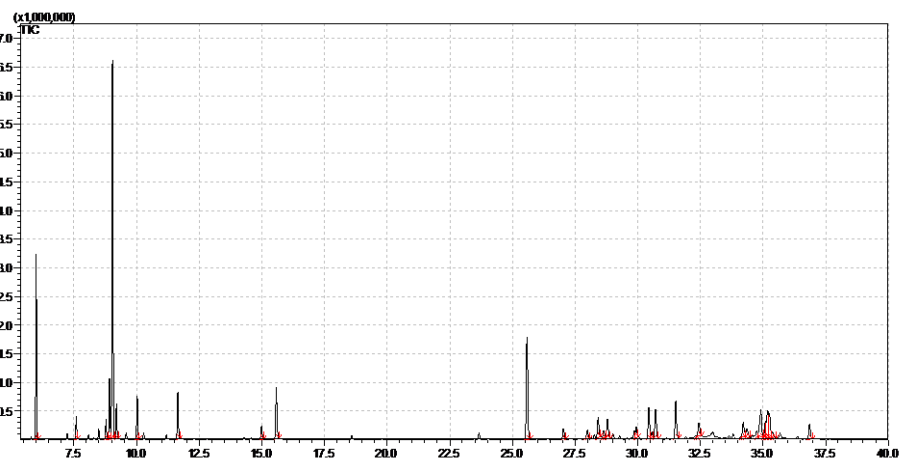
Amostra 3



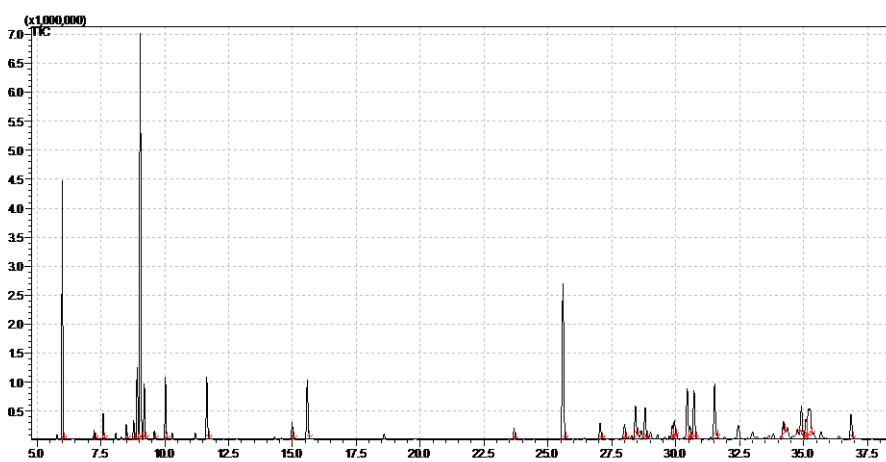
APÊNDICE I – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Maio de 2015
Amostra 1



Amostra 2

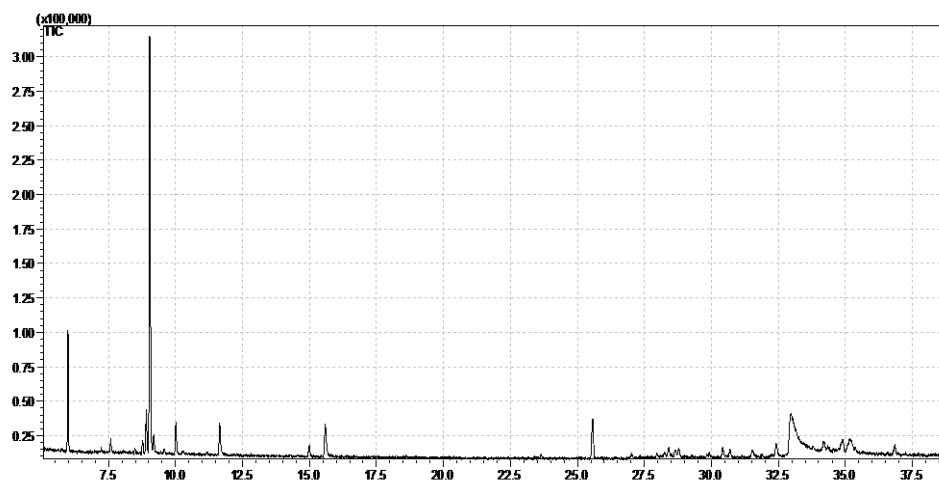


Amostra 3

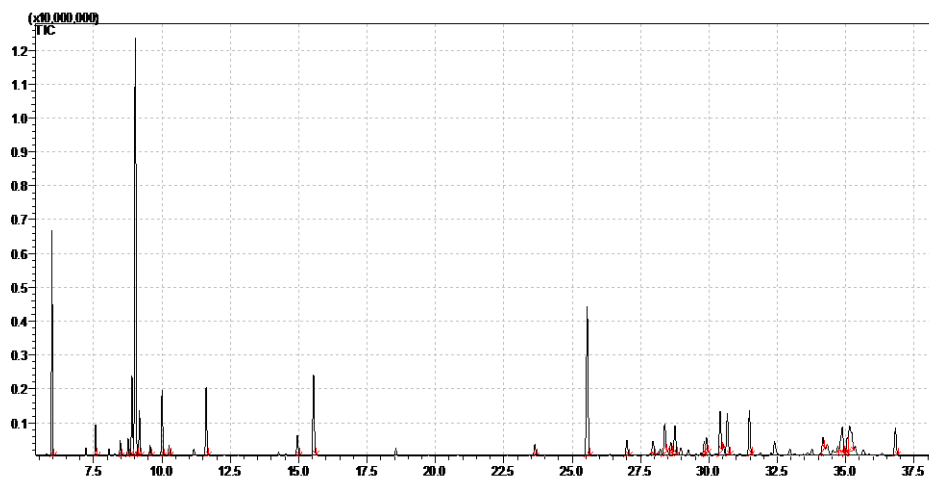


APÊNDICE J – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Junho de 2015

Amostra 1



Amostra 2

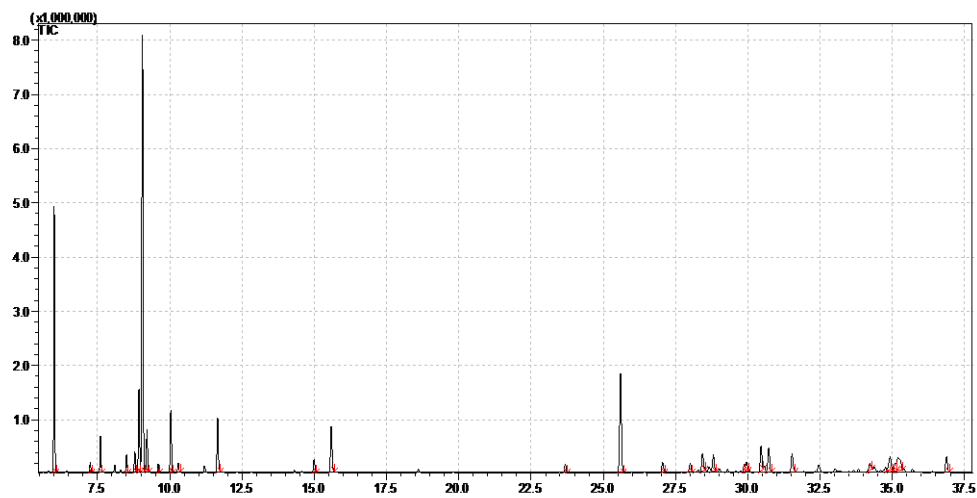


Amostra 3

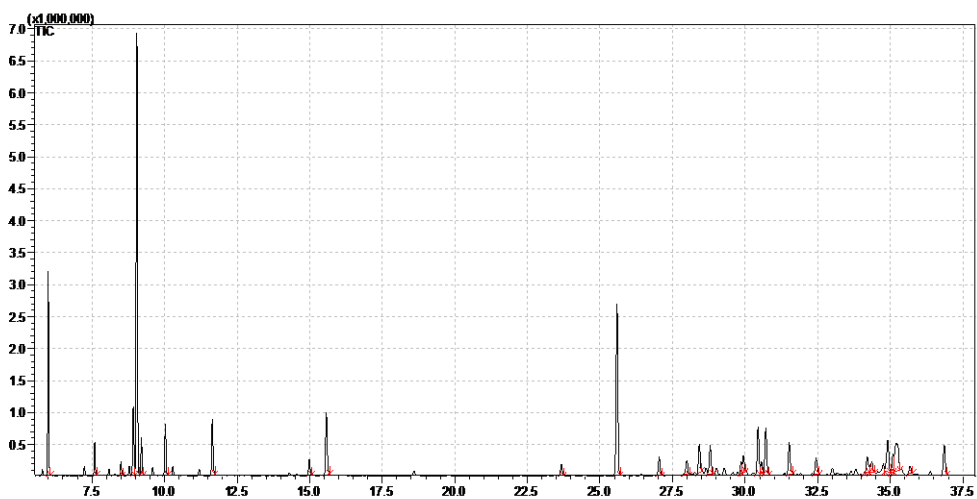


APÊNDICE K – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Julho de 2015

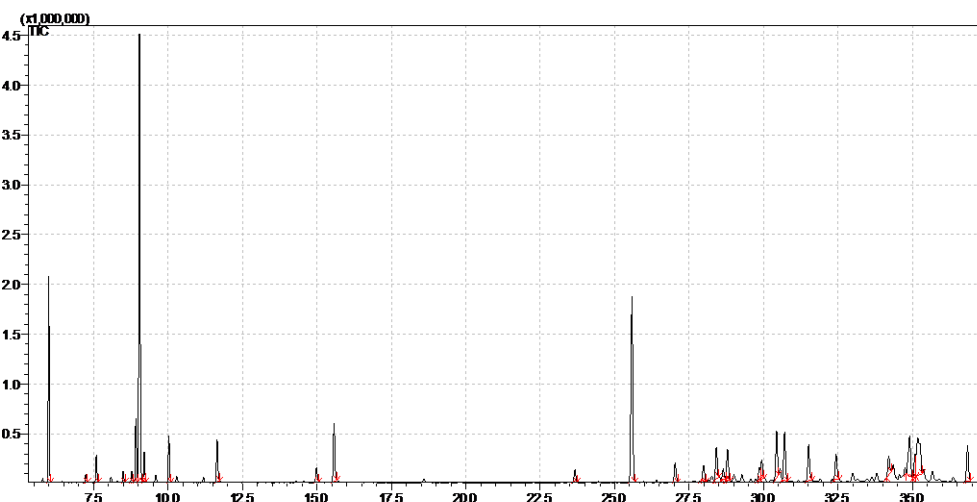
Amostra 1



Amostra 2

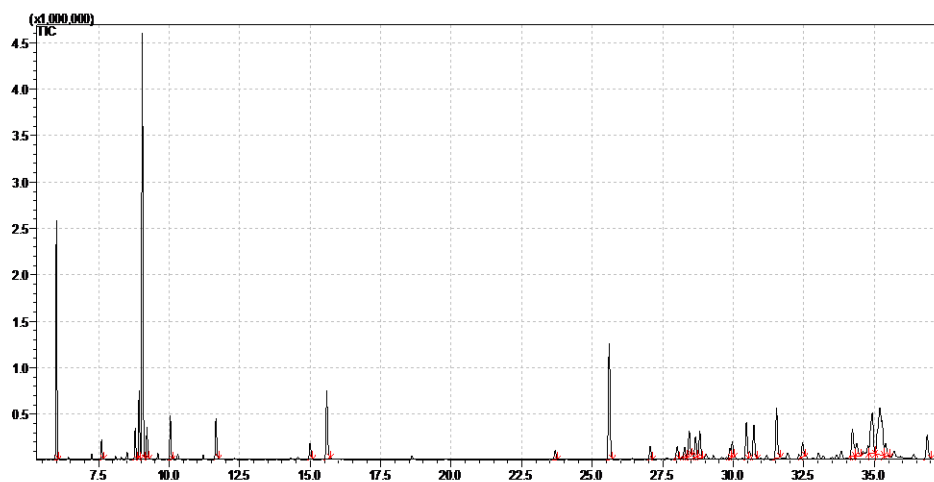


Amostra 3

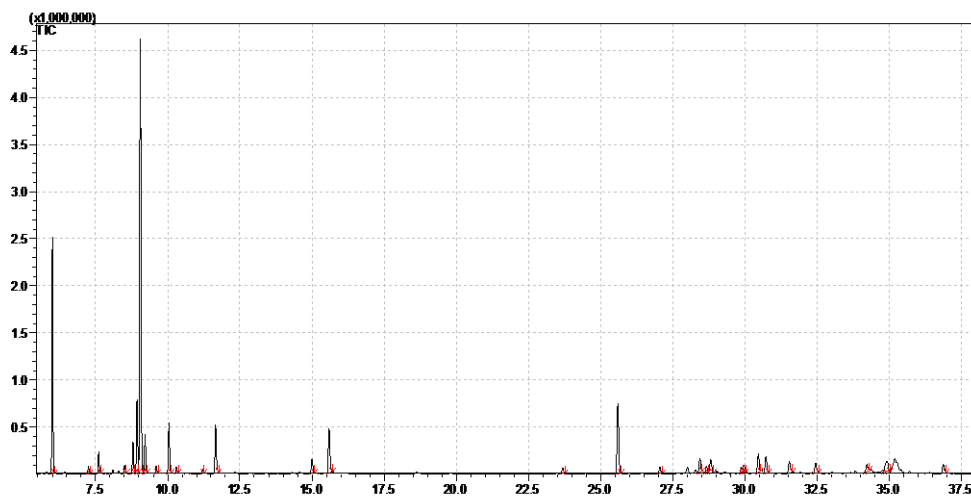


APÊNDICE L – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Agosto de 2015

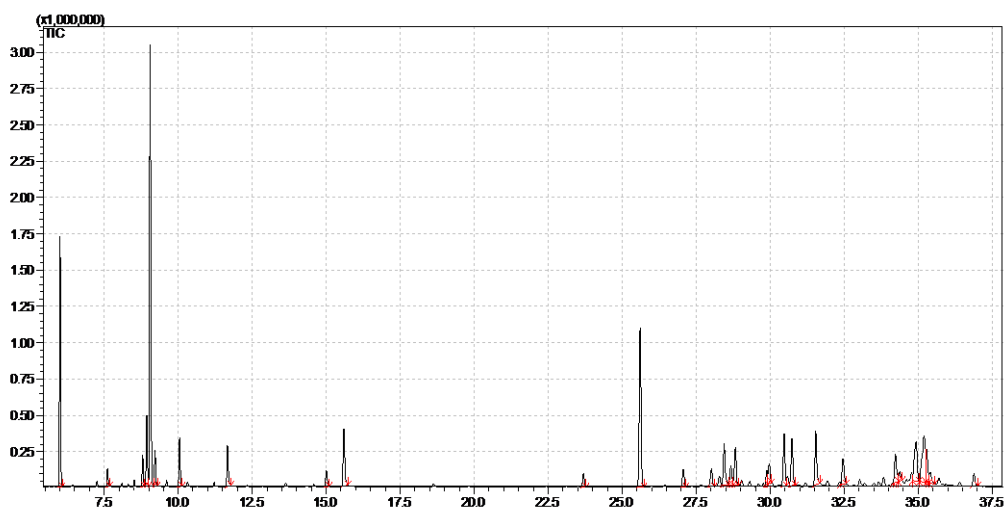
Amostra 1



Amostra 2



Amostra 3

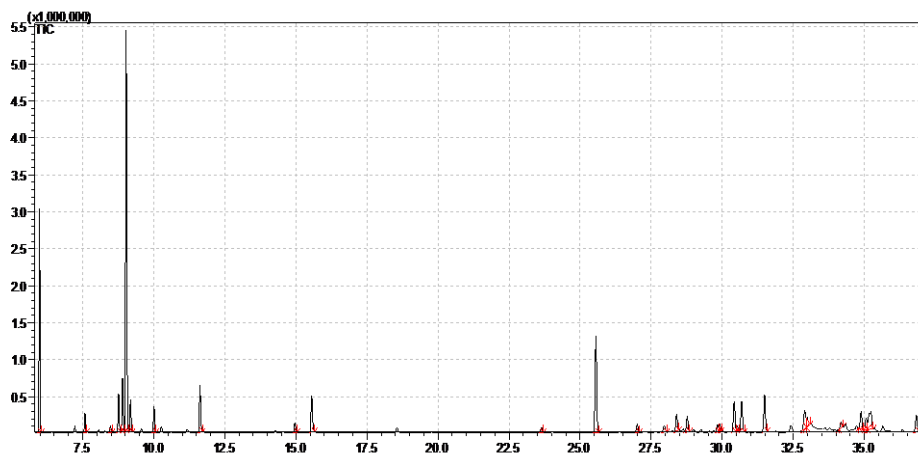


APÊNDICE M – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Setembro de 2015

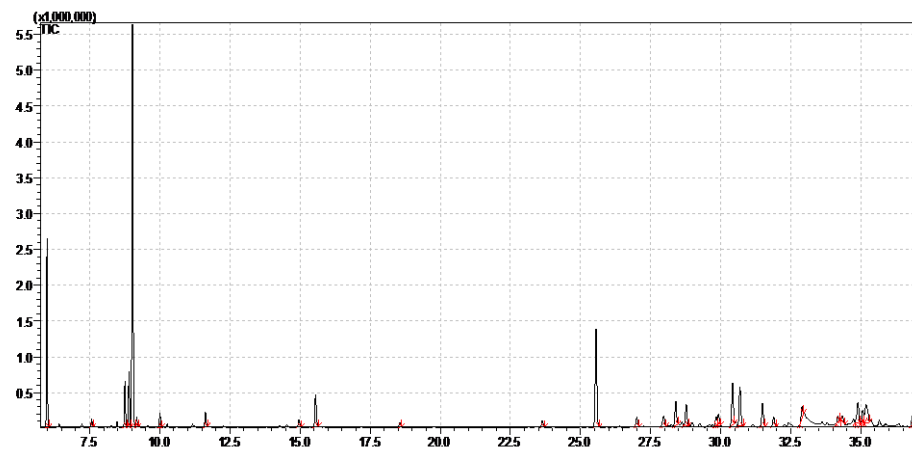
Amostra 1



Amostra 2

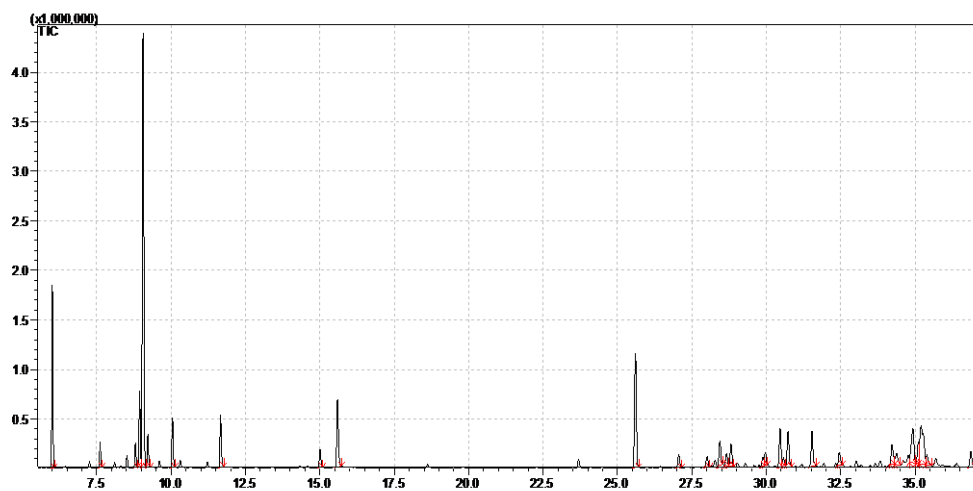


Amostra 3

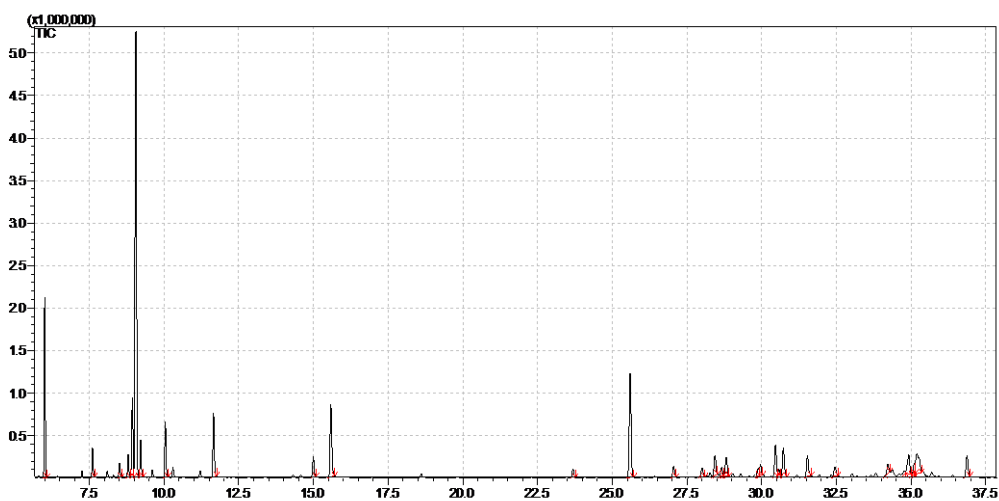


APÊNDICE M – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Outubro de 2015

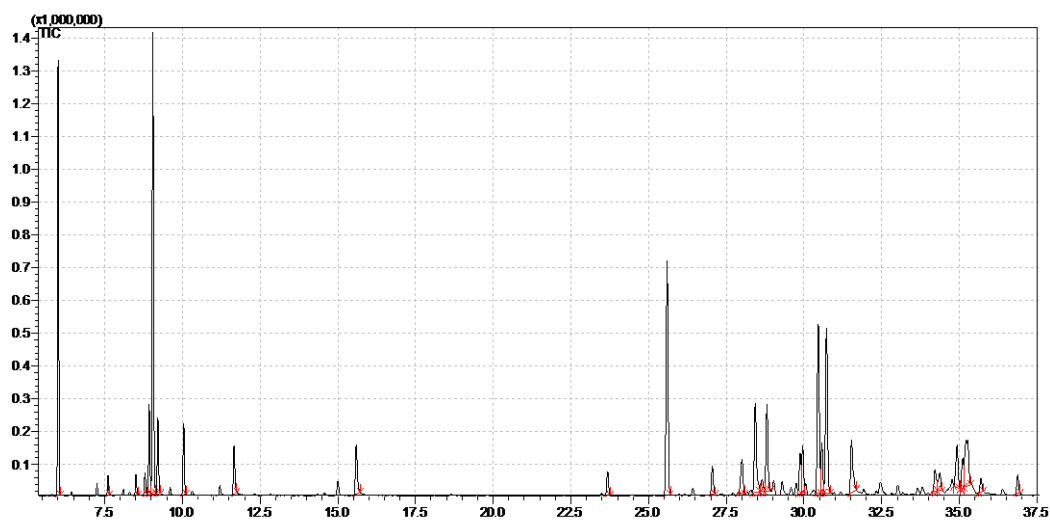
Amostra 1



Amostra 2

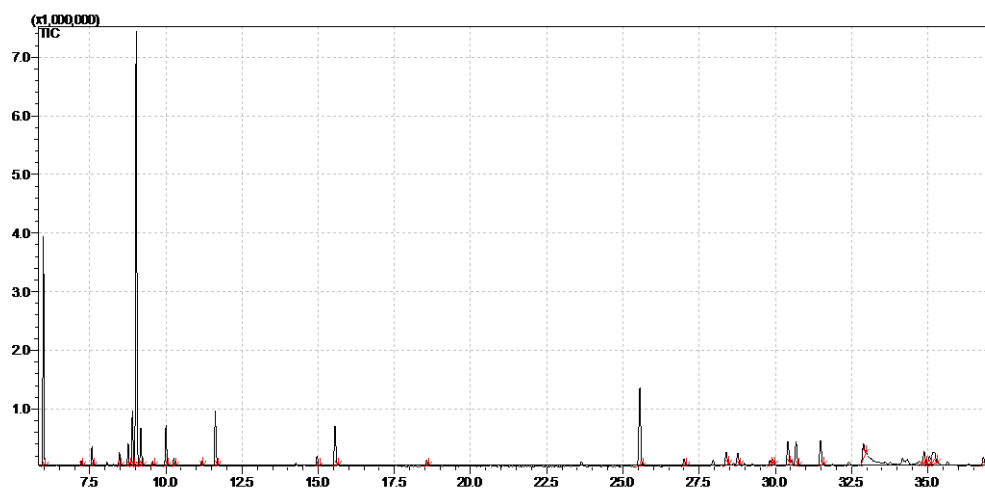


Amostra 3



APÊNDICE N – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Novembro de 2015

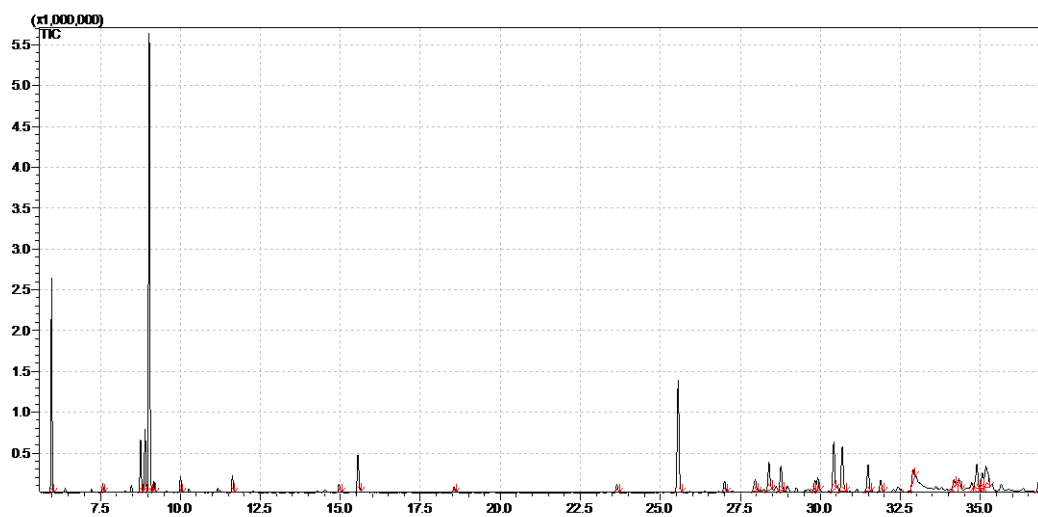
Amostra 1



Amostra 2



Amostra 3



APÊNDICE O – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Dezembro de 2015

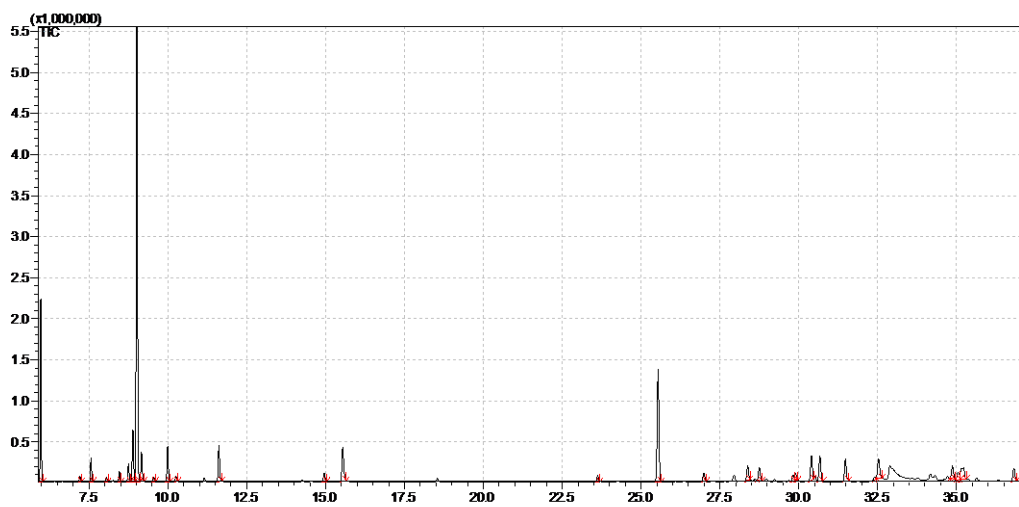
Amostra 1



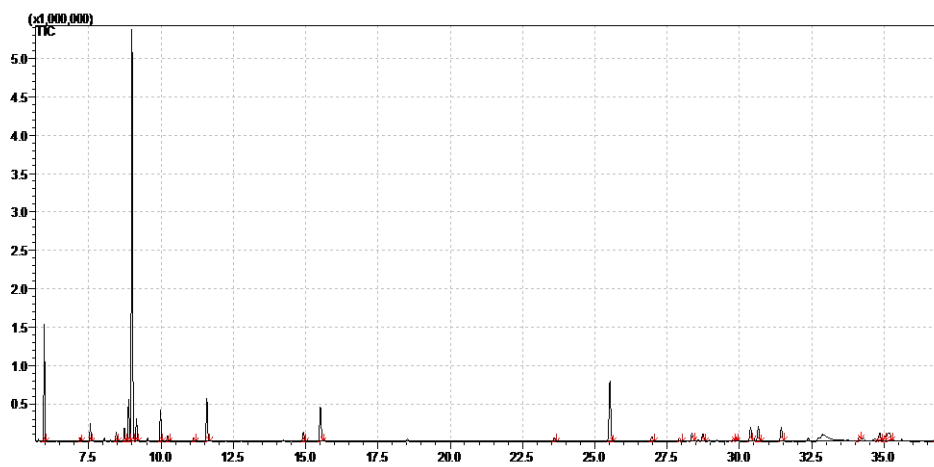
Amostra 2



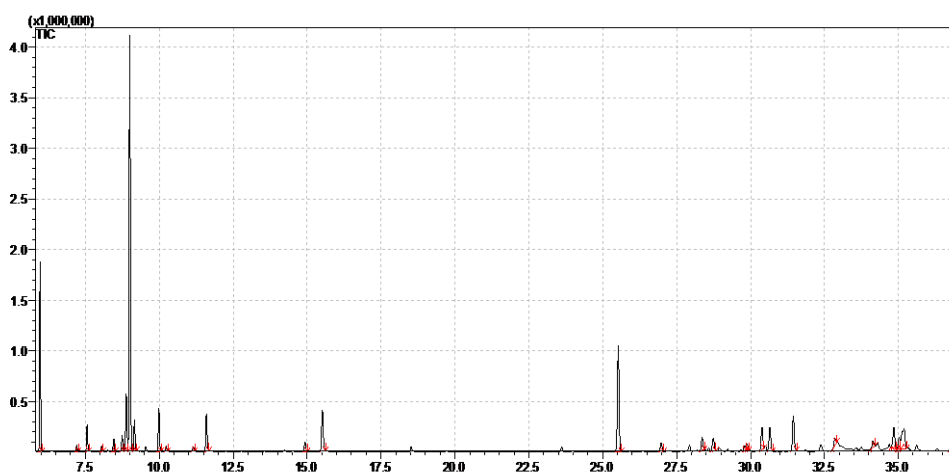
Amostra 3



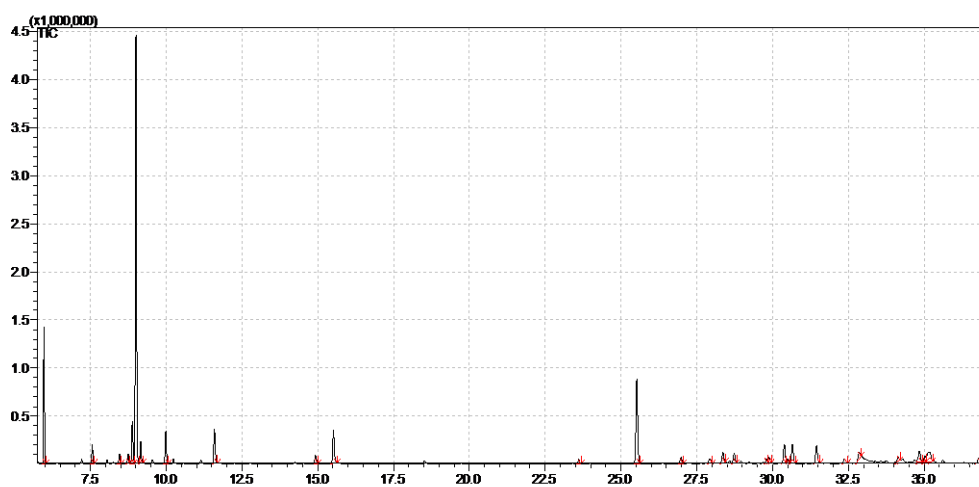
APÊNDICE P – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Janeiro de 2016
Amostra 1



Amostra 2

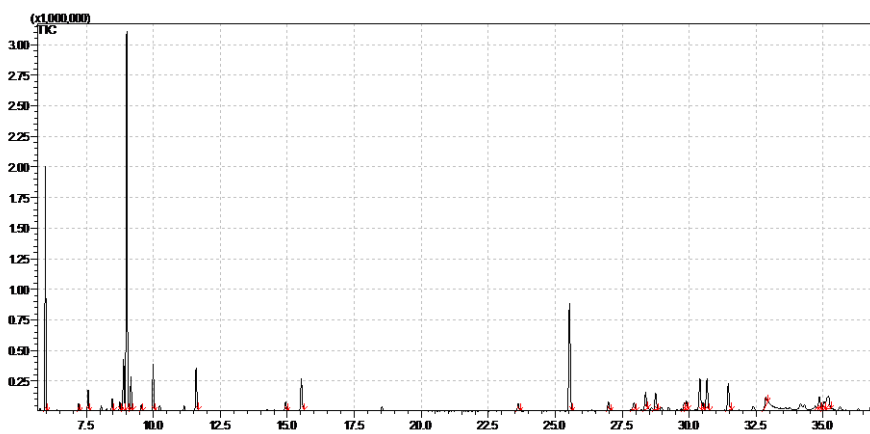


Amostra 3

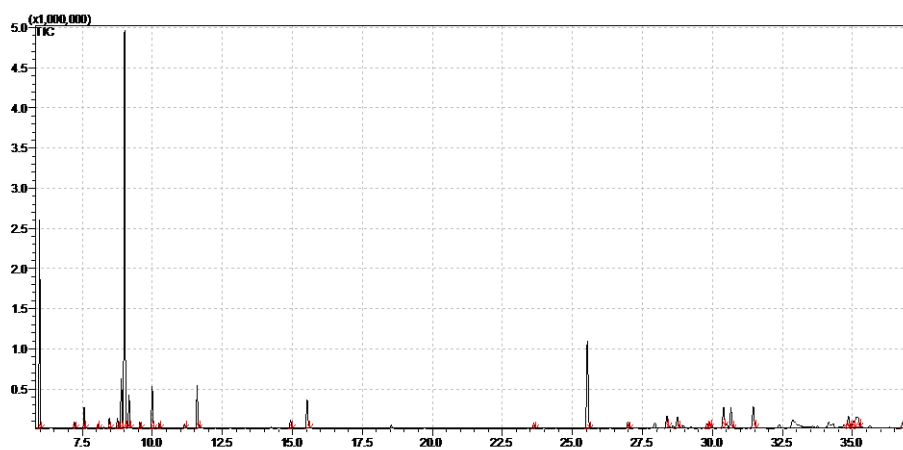


APÊNDICE Q – Cromatogramas das amostras de óleo essencial de *P. cattleyanum* coletadas na UTFPR em Fevereiro de 2016

Amostra 1



Amostra 2



Amostra 3

