

EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE ESPÉCIES DE *Baccharis* NATIVAS DO SUL DO BRASIL: ANÁLISE OLFATOMÉTRICA E MODELAGEM MATEMÁTICA

A. T. Espirito Santo, V. B. Xavier, A. Lucas, R. M. F. Vargas e E. Cassel

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Engenharia
Email para contato: cassel@puocs.br

RESUMO – A busca por produtos naturais faz com que se investiguem novas propriedades em matérias vegetais. O gênero *Baccharis* encontrado no sul do Brasil e seus óleos essenciais (OE) são amplamente estudados, mas a análise olfatométrica ainda é necessária para desenvolver produtos que contenham aromas diferenciados obtidos de uma fonte natural. Logo, este trabalho utiliza um equipamento desenvolvido para detectar aromas e avaliar os aromas do OE usando cromatografia a gás/olfatometria (CG/O), técnica capaz de separar os compostos de uma amostra, quantificá-los e identificar os seus aromas. O OE de *B. trimera* e *B. tridentata* foi obtido via extração por arraste a vapor em unidade laboratorial com rendimentos de extração de 0,37% e 0,26% (m/m), respectivamente. A modelagem matemática da extração foi realizada para prever rendimentos e tempos ótimos de operação, utilizando um modelo difusivo. As análises cromatográficas apresentaram compostos com aromas distintos, a se destacar os aromas mais intensos: chá na *B. trimera* e maizena na *B. tridentata*.

1. INTRODUÇÃO

Os seres humanos conseguem interagir com qualquer objeto ou outros seres através de um ou mais de seus sentidos, normalmente, através da captação de um estímulo externo. Dentre os distintos estímulos um dos que mais se destaca é o aroma detectado pelo olfato. Baseando-se nisso, cada vez mais, as indústrias alimentícia e farmacêutica buscam aromas que sejam bem recebidos pelos seus consumidores. Uma das principais técnicas utilizadas para a avaliação de aromas é a cromatografia gasosa/olfatométrica (CG/O), por se tratar de uma técnica híbrida que combina o poder de separação da cromatografia gasosa (CG) com a seletividade e a sensibilidade específicas do “nariz” humano, conforme Goodner e Rouseff (2011).

Uma fonte reconhecida por conter aromas naturais são os óleos essenciais de diversos gêneros de plantas, já que estes são concentrados em compostos voláteis como terpenos, álcoois, aldeídos, ésteres, cetonas, glicosídeos, fenóis, ácidos graxos, entre outros, segundo Czepak e Bandani (2008).

As plantas do gênero *Baccharis* pertencem à família *Asteraceae* e possuem exemplares de suas mais de 500 espécies em todo o território americano, segundo Borella et al. (2006). Pela grande concentração de espécies no Brasil e nos Andes (cerca de 90% das espécies ocorrem na América do Sul) acredita-se que esta seja a possível região de origem do gênero. No Brasil são encontradas 120 destas espécies, sendo que sua maior concentração está nos Estados da região sul, juntamente com São Paulo. Algumas espécies de *Baccharis* são amplamente utilizadas na medicina popular da América do Sul para o tratamento de inflamações, dores de cabeça, diabetes, problemas hepáticos e utilizadas, também, para casos de desintoxicação, conforme apresentado por Verdi et al. (2005).

Dentre as diversas espécies de *Baccharis*, o estudo deteve-se na avaliação dos perfis olfatométricos de apenas duas: *Baccharis trimera* e *Baccharis tridentata*, ambas nativas do Estado do Rio Grande do Sul e coletadas junto ao Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza (CPCN) Pró-Mata, da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS), no município de São Francisco de Paula. Além da análise olfatométrica por CG/O também foi realizada a modelagem matemática da curva de rendimento do óleo essencial *versus* tempo.

A modelagem matemática de extrações por arraste a vapor se faz de grande importância para projetar instalações industriais e possibilitar sua operação de forma adequada. A partir de um modelo matemático gerado, é possível simular o processo sem a necessidade da realização de novos experimentos. Além disso, a modelagem matemática também propicia estratégias alternativas para avaliar a seleção das condições de operação do processo (CASSEL et al., 2009).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Extração

Para a obtenção do óleo essencial foi utilizada a técnica de arraste a vapor, método de extração bastante tradicional e muito utilizado pela indústria essencieira, devido ao fato de sua simplicidade e baixo custo se comparado a novas tecnologias como a extração por fluido supercrítico, segundo Cassel e Vargas (2006). O equipamento utilizado, em escala laboratorial, é constituído por uma caldeira onde a geração de vapor é feita através de uma resistência elétrica imersa na água, um vaso extrator, onde ocorre o contato do vapor com a matriz vegetal e um *clevenger* compreendido por um sistema de condensação e separação da mistura óleo-vapor e recirculação da água, retornando-a para o sistema de aquecimento, diminuindo assim a quantidade de água requerida para a realização da extração.

As extrações foram realizadas em duplicata com 100g das partes aéreas da planta *in natura* vegetal para cada extração. A curva do rendimento mássico (m/m) do processo (massa de óleo obtido em relação à massa de planta) em função do tempo foi obtida a partir da média das duas extrações. Estes dados foram utilizados para a realização da modelagem matemática.

Também foram determinadas a densidade do material vegetal (0,4 g/mL), a semiespessura média deste mesmo material (0,11 mm) e a altura do leito de extração (21 cm), valores estes foram considerados iguais para as duas espécies em estudo.

2.2. Análise Olfatométrica

A análise do perfil olfatométrico dos óleos essenciais obtidos foi realizada utilizando-se um cromatógrafo gasoso com detector de ionização de chama (FID) Perkin Elmer Auto System. Neste equipamento foi acoplado, na saída da coluna de separação, um *sniffing port* (porta olfatométrica) com um sistema de umidificação para tornar a análise mais agradável. Desta forma o analisador pode identificar os compostos aromáticos separados pela coluna, com tempos de retenção diferentes, assim como ocorre em outros tipos de cromatografia.

A coluna de separação utilizada para o fracionamento dos componentes do óleo essencial é uma coluna capilar de sílica HP-5MS revestida com 5% de fenil metil silox (30 m x 250 µm i.d., 0,25 µm de espessura de face). Para cada análise foram injetados 2 µL de óleo essencial diluído em ciclohexano no modo splitless, sendo que o gás de arraste utilizado foi o nitrogênio a uma vazão de 1 mL/min. O injetor e o detector FID foram ajustados a 250°C e o programa de temperatura utilizado foi: 60°C durante 8 minutos, aumentando para 180°C a 3°C/min, 180-250°C a 20°C/min, então 250°C por 10 minutos. Enquanto o detector olfatométrico foi mantido constante a 120°C durante toda a análise.

Para a realização da análise olfatométrica foram selecionados três avaliadores, aleatoriamente, para compensar a diferença entre os critérios individuais e minimizar anosmias (incapacidade de sentir odores) específicas, conforme apresentado por Goodner e Rouseff (2011), onde cada um desses avaliadores deveria relatar a cada vez que sentisse um odor durante a análise as seguintes informações:

- a) tempo, em relação ao início da análise, em que sentiu um determinado odor;
- b) descrição do odor;
- c) intensidade do odor em uma escala de números inteiros de 1 a 5 (sendo 1 a menor intensidade e 5 a maior intensidade).

Com os dados obtidos pelos três avaliadores foi possível uma comparação entre os resultados obtidos individualmente e a geração de uma nova grandeza, que relaciona intensidade e frequência de detecção, denominada Frequência Modificada (FM), apresentada na Equação 1. A equação da FM utilizada é a mesma proposta por Dravnieks (1985):

$$FM(\%) = \sqrt{F(\%) \cdot I(\%)} \quad (1)$$

onde F(%) é a frequência, em termos percentuais, de detecção de um aroma entre o universo de avaliadores e I(%) é a intensidade média de um atributo aromático em relação à escala, sendo 100% correspondente à média 5. Se um aroma possui 100% de FM quer dizer que o mesmo foi detectado por todos os avaliadores e com máxima intensidade.

Para a identificação da composição dos óleos essenciais de cada uma das espécies de *Baccharis*, foram realizadas análises utilizando-se um cromatógrafo gasoso da marca Agilent 7890A equipado com um espectrômetro de massas (CG/EM) da marca Agilent 5975C. No equipamento foi utilizada uma coluna capilar de sílica HP-5MS revestida com 5% de fenil metil silox (30 m x 250 µm i.d., 0,25 µm de espessura de fase). As condições do cromatógrafo utilizadas para análises foram as seguintes: temperatura da coluna no forno, 60°C durante 8 minutos, aumentando para 180°C a 3°C/min, 180-250°C a 20°C/min, então 250°C por 10 minutos; temperatura do injetor, 250°C; modo de injeção, split; razão de split 1:55; volume injetado, 0,2 µL; o gás de arraste foi hélio com vazão 0,8 mL/min; a temperatura da interface, 250°C; modo MS EI; tensão de EI, 70eV; intervalo de massas de aquisição, m/z 40-450.

2.3. Modelagem Matemática

Um modelo embasado nos princípios de difusão foi utilizado para representar a transferência de massa associada à extração do óleo essencial para as espécies de *Baccharis* investigadas. Este modelo faz uso da 2ª Lei de Fick cuja solução para diferentes geometrias e condições de contorno é apresentada por Crank (1975). Em particular se considerou a difusão unidimensional em uma placa plana com concentração na superfície em equilíbrio com o meio. A solução, apresentada por Crank (1975), pode ser visualizada na Equação 2.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2L^2 \exp\left(-\frac{\beta_n^2 Dt}{l^2}\right)}{\beta_n^2 (\beta_n^2 + L^2 + L)} \quad (2)$$

sendo:

$$\beta_n \tan \beta_n = L \quad (3)$$

$$L = \frac{lk_c}{D} \quad (4)$$

onde: t é o tempo, M_t é a massa em função do tempo, M_∞ é a massa no instante infinito, l é a semiespessura da planta, k_c é o coeficiente de transferência de massa, D é o coeficiente efetivo de difusão, β_n são as raízes positivas da Equação 2 e L é um parâmetro adimensional.

A solução do equacionamento foi obtida usando o software *Matlab* para o ajuste dos dados experimentais, determinando assim valores numéricos para a difusividade efetiva do óleo na planta e o valor para o coeficiente de transferência de massa superficial.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As extrações por arraste a vapor apresentaram rendimento mássico (m/m) de 0,26% e 0,37% para as espécies *B. tridentata* e *B. trimera*, respectivamente. A partir dos dados da extração foi possível realizar a modelagem matemática conforme apresentado na Figura 1.

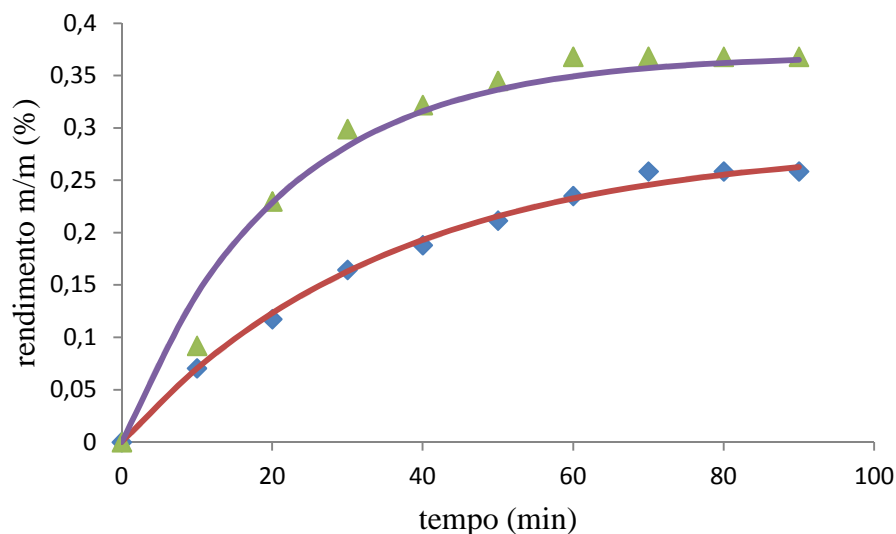


Figura 1 – Rendimento mássico em função do tempo da extração. Condições experimentais (♦ *Baccharis tridentata* e ▲ *Baccharis trimera*) e modelagem matemática (— *Baccharis tridentata* e — *Baccharis trimera*).

O coeficiente de determinação (R^2) entre os dados experimentais e o modelo matemático foi de 0,984 para a *B. trimera* e 0,996 para a *B. tridentata*. Na extração envolvendo a *Baccharis trimera*, o coeficiente de transferência de massa (k_c) determinado pelo ajuste dos dados experimentais ao modelo matemático foi de $8,88 \times 10^{-8}$ m/s, com os parâmetros de coeficiente de difusão (D) e o parâmetro adimensional (L) de $4,57 \times 10^{-10}$ m²/s e 0,021 respectivamente. Para a *B. tridentata*, os valores de k_c , D e L obtidos foram de $5,35 \times 10^{-11}$ m/s, $5,87 \times 10^{-11}$ m²/s e 0,100 respectivamente.

A análise química dos óleos essenciais foi realizada em cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (CG/EM) para a identificação dos compostos e a quantificação dos mesmos nos óleos de cada uma das espécies em estudo. Na Tabela 1 estão apresentados os compostos que apresentaram área maior que 0,10% resultantes das análises dos óleos essenciais, sendo que para as duas espécies foram identificados não menos do que 90% dos constituintes.

Por sua vez, a análise cromatográfica gás/olfatometria (CG/O) foi capaz de identificar uma grande variabilidade de aromas para as duas espécies. A Tabela 2 apresenta todos compostos identificados, apresentando o aroma de cada composto percebido pelos analisadores, a intensidade média analisada pelos avaliadores dos aromas, a frequência de detecção do aroma entre o universo de avaliadores e a Frequência Modular (FM) relacionando intensidade e frequência. Também foi criada a sigla “NID” representando quando o avaliador identificou algum aroma, mas não identificou a descrição do aroma.

Tabela 1 - Análise Cromatográfica CG/EM dos óleos essenciais de *B. trimera* e *B. tridentata*

| COMPOSTO ^a | TR ^b (min) | IR ^c | Área ^d | |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|-------------------|----------------------|
| | | | <i>B. trimera</i> | <i>B. tridentata</i> |
| β-pineno | 10,46 | 974 | 5,04% | 4,55% |
| limoneno | 13,35 | 1028 | 2,27% | 1,75% |
| γ-terpineno | 14,55 | 1050 | 1,08% | - |
| isoborneol | 20,39 | 1158 | 0,21% | 1,28% |
| trans-carveol | 23,46 | 1219 | 0,35% | 3,98% |
| acetato de carquejila | 27,44 | 1298 | 47,04% | 49,42% |
| β-elemeno | 31,50 | 1393 | 1,00% | - |
| germacreno D | 35,26 | 1483 | 2,84% | - |
| β-bisaboleno | 36,24 | 1506 | 1,44% | - |
| d-cadineno | 36,96 | 1524 | 1,24% | - |
| palustrol | 38,75 | 1572 | 8,28% | 11,98% |
| spatulanol | 39,10 | 1579 | 2,42% | 4,05% |
| óxido de cariofileno | 39,47 | 1584 | 1,06% | 2,82% |
| viridiflorol | 39,64 | 1594 | 3,04% | 2,09% |
| ledol | 40,08 | 1604 | 2,71% | 2,83% |
| β-eudesmol | 41,83 | 1651 | 2,90% | 1,77% |

^a = compostos identificados pela comparação de seus espectros de massa e índices de retenção com a biblioteca Adams (2007); compostos com área ≥ 0,1%; ^bTR = tempo de retenção do composto na coluna cromatográfica em minutos; ^c IR = índice de retenção calculado em relação a uma série de alcanos; ^d Área = área percentual de cada pico em relação à área total do cromatograma.

 Tabela 2 - Cromatografia Gasosa/Olfatometria dos óleos essenciais *B. trimera* e *B. tridentata*

| | Tempo de Retenção (min) | Intensidade Média | Aroma | Frequência FM(%) |
|-------------------|-------------------------|-------------------|----------------|------------------|
| <i>B. trimera</i> | 4,49 | 3,33 | mato/erva/chá | 1,00 82 |
| | 12,82 | 1,33 | ferro/ferrugem | 1,00 52 |
| | 13,35 | 1,67 | NID | 0,33 33 |
| | 15,51 | 0,67 | cítrico | 0,67 30 |
| | 17,44 | 0,67 | queimado | 0,67 30 |
| | 19,23 | 1,00 | mato | 0,67 37 |
| | 21,37 | 1,33 | chá cidreira | 0,67 42 |
| | 23,90 | 1,33 | mato | 1,00 52 |
| | 31,05 | 1,67 | chá cítrico | 0,67 47 |

Continuação da Tabela 2

| | | | | | |
|----------------------|-------|------|--------------------|------|----|
| <i>B. tridentata</i> | 4,53 | 1,67 | NID | 0,67 | 47 |
| | 5,00 | 2,33 | NID | 0,67 | 56 |
| | 5,74 | 2,00 | comida de forno | 0,67 | 52 |
| | 6,92 | 2,00 | maizena | 1,00 | 63 |
| | 11,37 | 1,33 | tinta | 0,67 | 42 |
| | 11,68 | 1,33 | queimado | 0,67 | 42 |
| | 12,52 | 1,00 | produto de limpeza | 0,67 | 37 |
| | 14,43 | 0,67 | alecrim | 0,67 | 30 |
| | 15,42 | 1,00 | margarida | 0,67 | 37 |
| | 17,03 | 1,00 | azeitona | 0,67 | 37 |
| | 17,92 | 1,67 | terra | 1,00 | 58 |
| | 22,90 | 0,67 | NID | 0,67 | 30 |
| | 24,25 | 1,67 | manga | 0,67 | 47 |

A Tabela 3 apresenta os compostos identificados tanto por CG/O quanto por CG/EM, sendo que apenas o composto limoneno apresentou área maior do que 1% em relação ao total de suas amostras. Contudo apenas compostos identificados para a *B. trimera* foram identificados em ambos os métodos.

 Tabela 3 - Compostos identificados por CG/EM e CG/O no OE de *B. trimera*

| Tempo de Retenção (min) | Composto | Área(%) | Aroma | FM(%) |
|-------------------------|-------------------|---------|--------------|-------|
| 13,35 | limoneno | 2,27 | NID | 33 |
| 21,37 | terpinen-4-ol | 0,09 | chá cidreira | 42 |
| 31,05 | (E)-b-damascenono | 0,13 | chá cítrico | 47 |

4. CONCLUSÕES

O modelo matemático utilizado adequou-se às condições da extração, sendo uma ferramenta preditiva para futuras extrações ou predições de escalonamento do processo. A ordem de grandeza do coeficiente de transferência de massa obtido está de acordo com os valores apresentados por Vargas et al. (2013).

Os resultados das análises cromatográficas das espécies em estudo apresentam compostos aromáticos com aromas distintos para cada espécie, com destaque para o aroma de chá na *B. trimera* e maizena na *B. tridentata*, já que esses apresentaram maior FM. Contudo apenas três dos aromas percebidos pelos analisadores foram identificados pelo espectrômetro de massas, ou seja, a grande maioria dos aromas encontrados provém de constituintes minoritários no óleo essencial.

Por fim, as espécies estudadas possuem aromas que podem ser utilizados na indústria farmacêutica ou alimentícia no desenvolvimento de novos produtos. Porém é necessário separá-los, total ou parcialmente, de outros aromas que não possuam esse interesse, já que a análise olfatométrica utilizada avalia os compostos isoladamente, sem a interação entre os diferentes compostos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. 4 ed. Allured 2007. 804p.

BORELLA, J. C.; DUARTE, D. P.; NOVARETTI, A. A. G.; JUNIOR, A. M.; FRANÇA, S. C.; RUFATO, C. B.; SANTOS, P. A. S.; VENEZIANI, R. C. S., LOPES, N. P. Variabilidade sazonal do teor de saponinas sw *Baccharis trimera* (Less.) DC (Carqueja) e isolamento de flavona. *Rev Bras Farmacognosia*, v. 16, n.4, p. 557-561, out./dez. 2006.

CASSEL, E.; VARGAS, R.M.F. Experiments and Modeling of the *Cymbopogon winterianus* Essential Oil Extraction by Steam Distillation. *J Mex Chem Soc*, v. 50, n. 3, p. 126-129, 2006.

CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; MARTINEZ, N.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. *Ind Crop Prod*, v. 29, n. 1, p. 171-176, 2009.

CRANK, J. *The Mathematics of Diffusion*. 2 ed. Oxford: Oxford Science Publications. 1975 414 p.

CZEPAK, M. P.; BANDONI, A. *Os Recursos Vegetais Aromáticos no Brasil: Seu Aproveitamento Industrial para a Produção de Aromas e Sabores*. 1 ed. Vitória: EDUFES, 2008. 624 p.

GOODNER, K.; ROUSEFF, R. *Gas Chromatography/Olfactometry - GC/O Practical Analysis of Flavor and Fragrance Materials*. 3 ed. Hoboken: Wiley, 2011. p. 228.

VARGAS, R. M. F.; BARROSO, M. S. T.; NETO, R. G.; SCOPEL, R.; FALCÃO, M. A.; SILVA, C. G.; CASSEL, E. Natural products obtained by subcritical and supercritical fluid extraction from *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. using CO₂. *Ind Crop Prod*, v. 50 n. 1, p. 430-435, 2013.

VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C.; PIZZOLATTI, M. G. Gênero *Baccharis* (Asteraceae): Aspectos Químicos, Econômicos e Biológicos. *Quim Nova*, v. 28, n.1 p. 85-94, jan./fev. 2005.