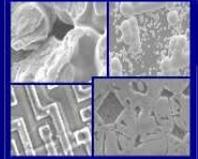




PUCRS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia
Faculdade de Física
Faculdade de Química



PGETEMA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DAS FRAÇÕES DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITRONELA (*Cymbopogon winterianus*),
ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) E AROEIRA (*Schinus molle*).**

FERNANDO CIDADE TORRES
FARMACÊUTICO

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

Porto Alegre

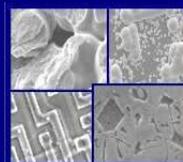
Março, 2010



PUCRS

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
TECNOLOGIA DE MATERIAIS**

Faculdade de Engenharia
Faculdade de Física
Faculdade de Química



PGETEMA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CARRAPATICIDA DAS FRAÇÕES DOS
ÓLEOS ESSENCIAIS DE CITRONELA (*Cymbopogon winterianus*),
ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) E AROEIRA (*Schinus molle*).**

FERNANDO CIDADE TORRES

FARMACÊUTICO

ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO CASSEL

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Tecnologia de Materiais.

Porto Alegre

Março, 2010

Há pessoas que choram,
pois as rosas têm espinhos.
Outras sorriem, pois os espinhos
têm rosas.

(Machado de Assis)

DEDICATÓRIA

Ao meu amado pai, Dr. Paulo Dirceu Torres, pai carinhoso, atencioso, amoroso e presente, de quem herdei grande parte do que eu sou, e que não mede esforços para ver seus filhos felizes. Sempre incentivando aos estudos com muita veemência, colaborando nas horas difíceis e se orgulhando nas horas boas. Com certeza me orgulho muito em ter nascido seu filho.

À minha mãe, senhora Lúcia Inês Cidade Torres, a melhor mãe do mundo. Amorosa, carinhosa, presente, atenciosa. Uma pessoa bastante difícil descrever, pois é única, incomparável. Só quem é seu filho ou um dia teve o prazer de desfrutar da sua presença de espírito tem idéia do que esta mulher representa. Uma pessoa de fibra, que sempre apareceu nos meus momentos mais difíceis para me confortar, que me deu a vida, e me orgulho muito disso.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu infinito amor que me fascina cada vez mais. Por ter me dado a honra de nascer filho do Dr. Paulo e da Dona Lúcia. Pelo companheirismo e amizade nos momentos de solidão.

Aos meus irmãos Guilherme e Eduardo, por quem eu daria minha vida. Pelo carinho e incentivo e por estarem sempre ao meu lado mesmo que na presença de espírito, quando a distância parecia uma barreira.

Aos amigos Guilherme e Vítor Scotta Hentschke pelo apoio irrestrito para que eu aceitasse o desafio de fazer uma pós-graduação, além da amizade inexplicável, companheirismo e capacidade de me fazer rir nos momentos mais difíceis, onde era necessário dar um tempo aos livros.

As amigas e colegas Danna, Aline e Andréia, pela colaboração com o trabalho, pela amizade incondicional e pelo carinho imensurável que sempre demonstraram por mim. Pelos momentos de amizade, de brincadeiras nos intervalos de trabalho e pelo apoio para a realização deste trabalho.

Ao colega Marcos A. Pereira, grande amigo e companheiro. Exemplo de trabalho e dedicação aos óleos essenciais, à química e ao desenvolvimento dessa área. Um profissional adorado e respeitado por todos, desde os profissionais da limpeza até os coordenadores do curso da Farmácia da PUCRS.

Ao meu orientador, Dr. Eduardo Cassel, pela sua disposição e paciência demonstradas durante sua orientação. Além de seus ensinamentos, por não medir esforços para me ajudar durante toda a pesquisa e pelos puxões de orelha sempre bem vindos. Um grande mestre pelo conhecimento, um grande mestre por aguçar e incentivar a capacidade de seus alunos de criar coisas inovadoras. Agradeço também sua paciência em esperar meu amadurecimento como estudante e saber lidar de forma inclusive bem humorada com isso.

A querida professora PhD Marlise dos Santos, um agradecimento mais do que especial. Pelo carinho a mim dispensado, pela confiança, pelos ensinamentos na área de docência e de farmácia, pelas oportunidades e pelas críticas. Uma profissional que

realmente se destaca em seu meio, e me ensinou que humildade, empatia, bom humor e principalmente trabalho, podem quebrar barreiras e nos abrir inúmeras portas.

A prof. Dr^a Gilsane Von Poser pelo apoio e por estar sempre à disposição compartilhando seus conhecimentos e suas idéias brilhantes. Com certeza o desenvolvimento deste trabalho não seria o mesmo sem as suas idéias.

A professora Vera Lúcia Sardá Ribeiro, pela disponibilidade não apenas do Laboratório de Entomologia, mas também pela disponibilidade em esclarecer dúvidas e apoiar esta pesquisa.

A professora e colega Gerti Weber Brun, pela amizade e pela disposição em ajudar sempre que foi necessário, sempre com grande boa vontade e bom humor.

Ao aluno do curso de farmácia Manuel, pela amizade e pela ajuda com o trabalho.

A Tekton Óleos Essenciais Ltda, na pessoa do senhor Newton, pela gentileza em doar os óleos essenciais utilizados no trabalho.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, em especial ao professor Rúbem Mário Figueiró Vargas, que além de conhecimento sabe transmitir toda a sua alegria e dedicação ao trabalho para quem com ele convive.

A Coordenação do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais pela oportunidade de realização deste trabalho.

A todos os colegas de turma pela amizade construída nesses dois anos.

Ao CNPQ, pela oportunidade e concessão de bolsa de estudo.

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	4
AGRADECIMENTOS.....	5
SUMÁRIO	7
LISTA DE TABELAS.....	9
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivos Gerais.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1. Carrapatos.....	17
3.1.1. Ciclo de vida do carrapato.....	18
3.2. Produtos naturais e sua importância.....	20
3.2.1. Atividade carrapaticida de produtos naturais.....	23
3.2.2. Óleos Essenciais.....	25
3.3. Plantas produtoras de óleos essenciais utilizadas no trabalho.....	29
3.3.1. Citronela.....	29
3.3.2. Alecrim.....	30
3.3.3. Aroeira.....	31
3.4. Obtenção de óleos essenciais.....	32
3.5. Destilação Fracionada a Vácuo.....	34
3.6. Controle de qualidade de óleos essenciais.....	35
4. MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1. Fracionamento dos óleos essenciais.....	38
4.2. Determinação da composição química.....	40
4.3. Determinação da atividade carrapaticida.....	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
5.1. Experimentos com óleo essencial de citronela.....	43

5.2. Experimentos com óleo essencial de alecrim.....	48
5.3. Experimentos com óleo essencial de Aroeira.....	51
6. CONCLUSÕES	55
7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS	57
8. REFERÊNCIAS	58
ANEXOS.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1. Intervalo de temperatura das frações do óleo essencial de citronela e seus respectivos rendimentos v/v.....	43
Tabela 5.2. Percentual em área e índice aritmético teórico dos compostos presentes no óleo essencial de citronela e nas respectivas frações.....	44
Tabela 5.3. Percentual dos compostos leves e pesados no óleo essencial de citronela e suas respectivas frações.....	46
Tabela 5.4. Valores das concentrações letais frente a larvas do carrapato <i>B. microplus</i> para as amostras de óleo essencial de citronela e suas respectivas frações.....	46
Tabela 5.5. : Intervalo de temperatura das frações do óleo essencial de alecrim e seus respectivos rendimentos v/v.....	48
Tabela 5.6. Percentual em área e índice aritmético teórico dos compostos presentes no óleo essencial de alecrim e nas suas respectivas frações.....	48
Tabela 5.7. Percentual dos compostos leves e pesados no óleo essencial de alecrim e suas respectivas frações.....	50
Tabela 5.8. Valores das concentrações letais frente a larvas do carrapato <i>B. microplus</i> para as amostras de óleo essencial de alecrim e suas respectivas frações.....	51
Tabela 5.9. Percentual em área e índice aritmético teórico dos compostos presentes no óleo essencial de aroeira e nas suas respectivas frações.....	51
Tabela 5.10. Percentual dos compostos leves e pesados no óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações.....	53
Tabela 5.11. Valores das concentrações letais frente a larvas do carrapato <i>B. microplus</i> para as amostras de óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações.....	54

Anexo 1. Índice aritmético experimental dos compostos presentes no óleo essencial de citronela e suas respectivas frações.....	65
Anexo 2. Índice aritmético experimental dos compostos presentes no óleo essencial de alecrim e suas respectivas frações.....	67
Anexo 3. Índice aritmético experimental dos compostos presentes no óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações.....	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Imagem de um carrapato macho de <i>R. (B) microplus</i> e de uma fêmea ingurgitada ainda na pelagem do hospedeiro.....	17
Figura 3.2. Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato <i>R. (B) microplus</i> . ..	19
Figura 3.3. Etapas para obtenção de fármacos à partir de plantas.....	22
Figura 3.4. Formação dos terpenóides.....	28
Figura 3.5. Citronela na usina da empresa Tekton óleos essenciais.....	29
Figura 3.6. Alecrim na usina da empresa Tekton óleos essenciais.....	30
Figura 3.7. Folhas e frutos da aroeira.....	31
Figura 4.1.: Fluxograma da empresa Tekton Óleos Essenciais.....	37
Figura 4.2. Aparelho de destilação fracionada coluna 50 cm.....	38
Figura 4.3. Esquema do aparelho de destilação fracionada a vácuo.....	39

RESUMO

TORRES, Fernando Cidade. **Avaliação da atividade carrapaticida das frações dos óleos essenciais de citronela (*C. winterianus*), alecrim (*R. officinalis*) e aroeira (*S. molle*).** Porto Alegre. 2010. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Tecnologia e Materiais. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL.

A utilização de produtos naturais na pesquisa de carrapaticidas para o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tem aumentado a cada ano. Neste sentido, o trabalho em questão visa o emprego de óleos essenciais e suas respectivas frações obtidas por destilação fracionada a vácuo como agentes carrapaticidas naturais. Os produtos selecionados para este estudo foram os óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e aroeira (*Schinus molle* L.). Estes óleos essenciais foram extraídos das respectivas plantas aromáticas pelo processo de destilação por arraste a vapor e posteriormente foram fracionados por destilação a vácuo. As composições dos óleos essenciais e suas respectivas frações foram analisadas por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS). Todos os extratos obtidos foram avaliados experimentalmente quanto ao seu efeito em larvas do carrapato bovino, *R.(B.) microplus*, considerando diferentes diluições dos agentes carrapaticidas e concluiu-se que existem diferenças significativas entre a ação do óleo essencial e das frações pesadas obtidas por destilação fracionada a vácuo, principalmente para as frações dos óleos essenciais de citronela e de aroeira.

Palavras-chave: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, óleos essenciais, carrapatos, carrapaticida, destilação fracionada

ABSTRACT

TORRES, Fernando Cidade. **Evaluation of acaricidal activity fractions of citronela (*C. winterianus*), alecrim (*R. officinalis*) and aroeira (*S. molle*) essential oils.** Porto Alegre. 2009. Dissertation of Masters in Materials Engineering and Technology. Post-Graduation Program in Materials Engineering and Technology, PONTIFICAL CATHOLIC UNIVERSITY OF RIO GRANDE DO SUL.

The use of natural products in research of acaricides for *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* has been increased each year. In this sense, this work is aimed at the use of essential oils and their fractions obtained by distilling in a vacuum for acaricidal natural agents. The products selected for this study were the essential oils of citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and pepper tree (*Schinus molle* L.). These essential oils were extracted from the herbs by the process of steam distillation and then were fractionated by vacuum distillation. The compositions of essential oils and their fractions were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). All extracts were evaluated by experiments and its effect on larvae of cattle tick *R. (B.) microplus*, with different dilutions of acaricidal agents and concluded that there are significant differences between the action of essential oil and heavy fractions obtained by distilling, especially for the fractions of essential oils of citronella and pepper tree.

Key words: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, essential oils, tick, acaricidal, vacuum distilling.

1. INTRODUÇÃO

A infestação por carrapatos, especificamente da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* descrito por Canestrini em 1887, parasita principal de bovinos, constitui uma das doenças parasitárias de maior impacto econômico para o estado do Rio Grande do Sul, bem como para outras regiões tropicais e subtropicais do mundo. Estima-se um valor de perda aproximado de oito reais por ano, para cada cabeça de gado do rebanho brasileiro.

Este problema torna-se cada vez mais preocupante, pois para combater este parasita são utilizados carrapaticidas químicos sintéticos, que combatem os exemplares sensíveis aos princípios ativos destes, mas gradativamente tornam-se ineficazes devido à capacidade de desenvolvimento da resistência pelos carrapatos. O uso indiscriminado e sem orientação técnica destas drogas corrobora com a resistência aos agentes carrapaticidas comerciais.

Soma-se aos fatores descritos anteriormente, todo o problema ambiental causado por este tipo de tratamento, pois se averigua que estes tratamentos químicos podem ter uma elevada toxicidade para o meio ambiente, além de causar um desequilíbrio ecológico nas populações de carrapatos e seus predadores, quando utilizados indiscriminadamente.

O cenário citado anteriormente incentiva pesquisadores a buscar novas alternativas para o combate do carrapato. Dentre muitas já testadas, a utilização de produtos de origem vegetal se destaca, pois além de já existirem pesquisas com resultados que demonstraram atividade biológica satisfatória, estes princípios ativos, em geral, não danificam o ambiente, são biodegradáveis, apresentam baixo custo de produção e pequena ou nenhuma toxicidade ambiental. A grande diversidade de espécies vegetais produtoras destes princípios ativos, bem como, grande disponibilidade de exemplares, dependendo de fatores como aclimação da planta e o tipo de solo no local também corroboram para a realização de estudos sobre o uso de extratos vegetais como carrapaticidas.

Problemas como a falta de clareza sobre métodos de cultivo destas plantas e maior disponibilidade de produções científicas sobre a utilização no controle de carrapatos, frequentemente geram dúvidas sobre o potencial destes produtos, fato este que incentiva a realização de novos trabalhos utilizando extratos vegetais.

O presente estudo avalia a atividade acaricida dos óleos essenciais e das frações destes obtidas em laboratório por destilação fracionada a vácuo. Os óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), aroeira (*Schinus molle* L.) e suas respectivas frações foram testados nas larvas de carrapatos (*R. (B) microplus*). Através deste estudo pretende-se desenvolver produtos naturais com ação carrapaticida, visando à obtenção de alternativas aos carrapaticidas químicos utilizados em grande proporção, principalmente em regiões onde a pecuária é um setor econômico de importância.

Esta dissertação está estruturada em 7 seções, estruturadas da seguinte forma:

A seção 1 (este capítulo) introduz e justifica a realização deste trabalho.

A seção 2 trata do objetivo deste trabalho.

A seção 3 apresenta a revisão bibliográfica, dando um panorama geral sobre os carrapatos e seu comportamento, bem como, trata dos óleos essenciais e das tecnologias empregadas na sua obtenção e processamento.

A seção 4 apresenta os materiais e métodos utilizados nos experimentos realizados nesta dissertação.

A seção 5 apresenta os resultados obtidos e discussão sobre os principais pontos do trabalho.

As seções 6 e 7 apresentam as conclusões e sugestões para trabalhos futuros, respectivamente.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O presente trabalho tem como objetivo principal determinar a atividade carrapaticida dos óleos essenciais de citronela (*C. winterianus*), alecrim (*R. officinalis*) e aroeira (*S. molle*) e de suas respectivas frações obtidas por destilação fracionada a vácuo frente a carrapatos da espécie *R. (B) microplus*.

2. 2. Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão bibliográfica sobre o controle de carrapatos através do uso de produtos naturais, dando um enfoque especial para o emprego de extratos obtidos a partir de plantas aromáticas.

- Fracionar os óleos essenciais de citronela (*C. winterianus*), alecrim (*R. officinalis*), aroeira (*S. molle*), a partir dos produtos fornecidos pela empresa Tekton Óleos Essenciais – Brasil (citronela e alecrim) e pelo “Programa de Plantas Aromaticas y Medicinales” Ministerio de Agricultura y Ganadería da Provincia de Santa Fé – Argentina (aroeira).

- Executar experimentos laboratoriais da ação carrapaticida dos óleos essenciais e suas respectivas frações frente a larvas de carrapato da espécie *R. (B) microplus*.

- Identificar e quantificar os compostos presentes nos óleos essenciais e nas frações por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS).

- Avaliar a relação entre as variáveis de operação do processo de destilação, composição química das frações dos óleos essenciais e o efeito carrapaticida dos mesmos sobre larvas de carrapatos da espécie *R. (B) microplus*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Carrapatos

R. (B) microplus é um ectoparasito que está distribuído em áreas tropicais e subtropicais entre os paralelos 32° norte e 32° sul, exceto nos Estados Unidos da América, onde foi erradicado, e nas áreas muito altas ou muito áridas (Cordovés, 1996).

Segundo Gonzáles (1974), os carrapatos da espécie *R. (B) microplus* são parasitas preferencialmente de bovinos, podendo esporadicamente parasitar outros animais como equinos e ovinos. A introdução de drogas sintéticas foi um dos fatores preponderantes para o desenvolvimento da pecuária em várias regiões, porém a resistência aos produtos químicos utilizados tem se tornado um dos grandes problemas enfrentados pelos criadores de gado bovino.

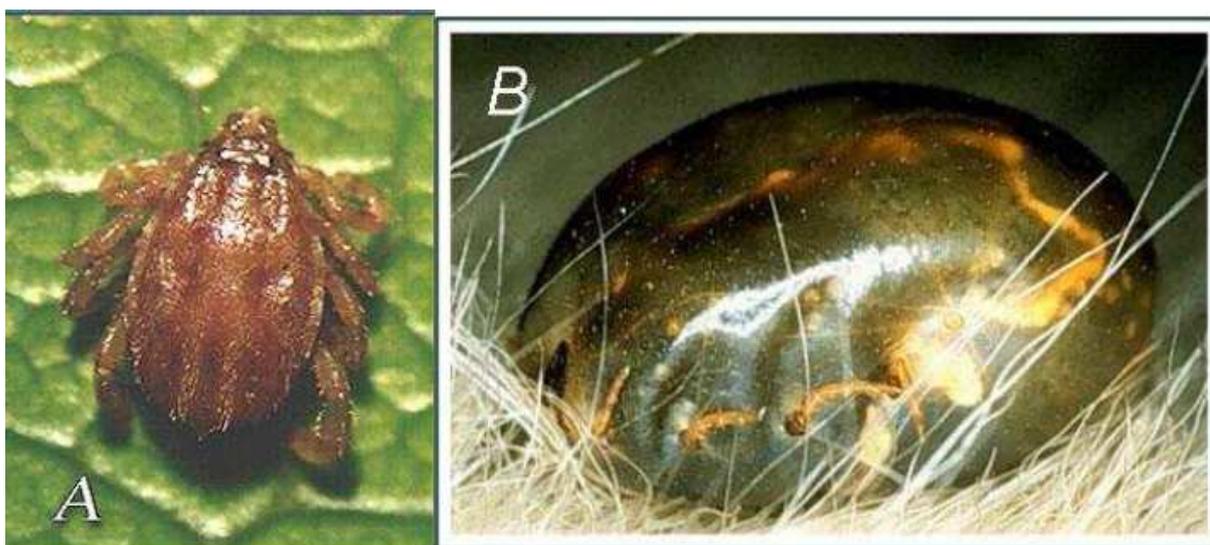


Figura 3.1. Imagem de um carrapato macho de *R. (B) microplus* (A) e de uma fêmea ingurgitada ainda na pelagem do hospedeiro (B) (Sequeira e Amarante, 2002).

Algumas doenças que afetam o rebanho bovino também são transmitidas pelos carrapatos, pois são vetores de patógenos como *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e

Anaplasma marginale que são agentes da doença denominada tristeza parasitária bovina, e alguns vírus que causam doenças nestes animais. Além de problemas de saúde, estes parasitas provocam danos à pele dos bovinos, afetando diretamente a qualidade do produto final derivado do couro (Ducornez et al., 2005). Cerca de um bilhão de bovinos, a maioria deles localizados nos trópicos, podem ter seu desempenho afetado pelas espécies de carrapatos existentes, ou mesmo pelas doenças que são transmitidas por eles, causando perdas significativas nos sistemas de produção destes animais (Pegram et al., 1991).

Frisch (1999) avalia que os custos crescentes para se desenvolver novas drogas, bem como o curto período de vida útil que elas apresentam (De Castro, 1993), estão se tornando incompatíveis com o preço que o criador pode pagar sem que a produção deixe de ser rentável. Já Rodriguez et al. (1995) enfocam que a exigência do mercado consumidor por alimentos com níveis cada vez menores de resíduos químicos e que não contaminem o ambiente, são fatores predominantes para a busca de novas alternativas para o controle das parasitoses bovinas.

3.1.1. Ciclo de vida do carrapato

Fortes (1993) preconiza que o *R. (B) microplus* é a única espécie do gênero *Boophilus* registrada no Brasil.

De acordo com Fortes (1993), esta espécie é um ectoparasita hematófago, cujo principal hospedeiro é o bovino, sendo que utiliza um só hospedeiro em seu ciclo evolutivo (monoxeno). Necessita obrigatoriamente passar por duas fases em seu período de vida: vida livre e vida parasitária conforme se observa na figura 3.2.

Na fase de vida livre a teleógina (fêmea fecundada, ingurgitada, cheia de sangue) se desprende do bovino e cai ao solo onde procura um local abrigado (úmido e escuro) para realizar uma postura de 100 até cerca de 7.700 ovos (Veríssimo, 1993a).

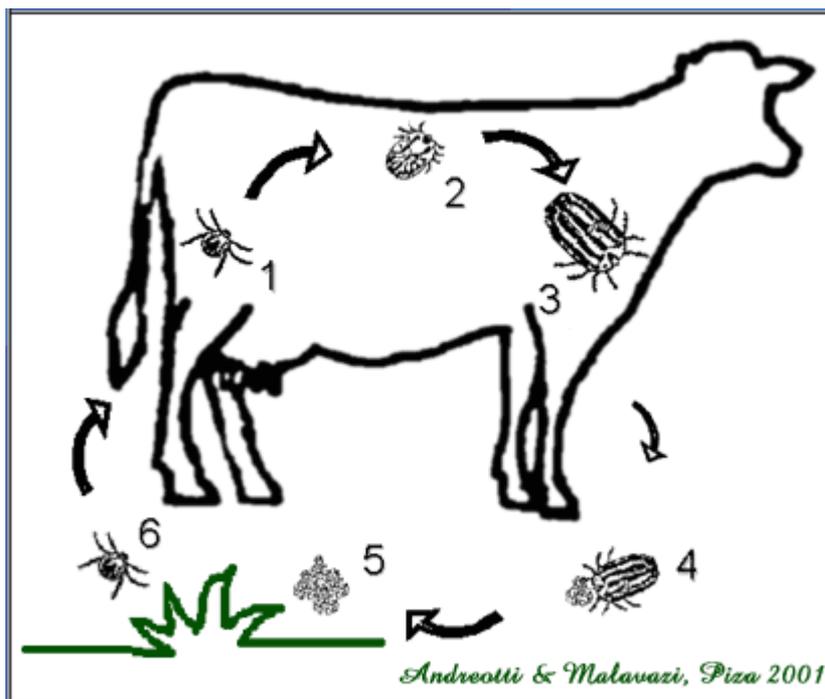


Figura 3.2. Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato *R. (B) microplus*. **Fase parasitária:** (1) larva infectante realizando a fixação no bovino; (2) ninfa; (3) teleógina em estágio final de engurgitamento. **Fase de vida livre:** (4) teleógina logo após desprendimento, em período de postura no solo; 5 - ovos, no solo, em período de incubação; 6 - larva, no solo, em período de incubação (Andreotti, et al., 2002).

Com umidade relativa do ar em torno de 70% e com temperatura ambiente de 27°C, o período de postura se inicia 02 a 03 dias após o desprendimento da teleógina (fase livre), sendo totalizado ao final de 15 dias. Condições ambientais desfavoráveis podem prolongar esse período, além de prolongar o período de formação da larva no interior do ovo e a sua eclosão que, em condições normais, aconteceria em 7 dias. O período para que as larvas eclodidas tornem-se infestantes é de 7 dias e, por geotropismo negativo sobem nos pastos à espera do bovino (Charles e Furlong, 1992; Furlong e Massard, 1994; Farias, 1995; Cordovés, 1997; Kessler e Schenk, 1998).

A fase de vida parasitária inicia-se quando a larva infestante instala-se no hospedeiro passando a ser larva parasitária e se transformando em metalarva, não se alimentando durante esta fase. São necessários cinco dias, em média, para esse período, podendo variar entre três a oito dias. São necessárias várias transformações para que o parasito chegue ao estágio adulto, sendo apresentados, a seguir, os seus respectivos períodos de duração: de metalarva a ninfa (05 a 10 dias, em média 08); de ninfa a metaninfa (09 a 23 dias, 13 em média). Nesta fase, já há diferenciação entre os

sexos e a transformação de metaninfa para neandro (macho) necessita de 18 a 28 dias, com 14 dias em média, passando a gonandro (macho) em 02 dias, permanecendo no animal por mais de 38 dias. A transformação de metaninfa para neógina (fêmea) é feita em torno de 14 a 23 dias, sendo, em média, de 17 dias, passando à partenógena (fêmea) em três dias e à teleógina em dois dias. O início da queda das teleóginas ocorre no 19º dia da infestação, sendo, em média, entre o 22º e 23º dia (Gonzales, 1974).

O ingurgitamento e queda da fêmea do *R. (B) microplus* são bastante rápidos. Wharhorn e Utech (1970) demonstraram que fêmeas ingurgitadas que têm crescimento de 4-6 mm (10 -30 mg), podem atingir um rápido final de ingurgitamento à noite, chegando a 8-11 mm (150 - 250 mg) e se destacando do animal nas primeiras horas do dia. Porém, os padrões de ingurgitamento se diferenciam entre as estações, assim como em bovinos estabulados, sugerindo que estes padrões sofrem uma influência do ambiente externo, principalmente de luz e temperatura. A contagem de carrapatos de 4,5 a 8,0 mm de comprimento em um dia, demonstrou fornecer uma confiável estimativa do número de carrapatos ingurgitados caindo no dia seguinte, e é adotada para a determinação do número de carrapatos nos bovinos.

A fase de vida parasitária, ao contrário da não parasitária, é pouco afetada pelas condições climáticas. O clima afeta diretamente a fase de vida livre, determinando o número de infestações/gerações do carrapato nos bovinos durante o ano (Kessler e Schenk, 1998). Dessa forma, como sugerem Furlong e Massard (1994), são necessárias estratégias de controle diferenciadas para o Brasil. Estas devem respeitar as diferenças entre condições climáticas das regiões Sudeste e Centro-Oeste, das condições da Região Sul, onde a infestação nos animais desaparece durante os meses de temperaturas mais baixas do ano (de maio a agosto).

3.2. Produtos naturais e sua importância

O homem primitivo, ao procurar plantas para seu sustento, foi descobrindo espécies com ação tóxica ou medicinal, dando início a uma sistematização empírica dos seres vivos, de acordo com o uso que podia fazer delas. Índícios do uso de plantas medicinais e tóxicas foram encontrados nas mais antigas civilizações (Simões, 2000).

Pesquisadores na área de produtos naturais mostram-se impressionados pelo fato desses produtos encontrados na natureza revelarem uma gama quase

inacreditável de diversidade em termos de estrutura e propriedades físico-químicas e biológicas. Apesar do aumento de estudos nessa área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (Nodari e Guerra, 2000).

Soulé (2000) relata que Brasil, México, Equador, Colômbia, Peru, China, Malásia, Índia, Indonésia, Zaire, Madagascar e Austrália são considerados países detentores de megadiversidade. Junto ao desenvolvimento de pesquisa sobre novas moléculas bioativas, devemos também, desenvolver programas de proteção ambiental voltados à preservação dessa biodiversidade, pois dados publicados por fontes confiáveis, como o *World Resources Institute*, demonstram que a ameaça crescente aos ecossistemas pode retirar alguns desses países do patamar em que se encontram, ou mesmo diminuir sua capacidade de descoberta de novos produtos provenientes de fontes naturais.

O organismo vivo pode ser considerado um laboratório biossintético no que se refere a uma infinidade de compostos (glicosídeos, alcalóides, terpenóides) que exercem efeitos fisiológicos.

Os produtos do metabolismo primário (carboidratos, proteínas, gorduras), através de rotas biossintéticas diversas, e muitas vezes desconhecidas, originam à custa de energia o segundo grupo de compostos químicos, denominados de metabólitos secundários ou micromoléculas. Estas geralmente apresentam estrutura complexa, baixo peso molecular, marcantes atividades biológicas e, diferentemente daqueles do metabolismo primário, são encontrados em concentrações relativamente baixas e em determinados grupos de plantas. São estes últimos que conferem propriedades terapêuticas aos princípios ativos extraídos de plantas e animais, e, assim como os primeiros, são produzidos pelo metabolismo das plantas.

Os óleos essenciais, objetos de estudo neste trabalho, são resultado de uma mistura de produtos com atividade biológica comprovada derivada do metabolismo secundário. A função de compostos como os óleos essenciais estaria ligada à sobrevivência da planta, visto que o vegetal utiliza rotas biossintéticas elaboradas, com elevados gastos de energia, concluindo-se então que estas moléculas são de extrema

importância na preservação e sobrevivência do vegetal (Robbers, 1997). Os óleos essenciais serão tratados particularmente no capítulo 3.2.2.

A rede de reações que compõe o metabolismo secundário das espécies vegetais é coordenada por uma série de enzimas e co-enzimas responsáveis pelos processos de síntese e degradação destes compostos, os quais estarão diferentemente distribuídos nas espécies vegetais (Mann, 1987). Por esse motivo, muitas plantas são conhecidas por serem produtoras de óleos essenciais (plantas aromáticas), alcalóides e taninos, por exemplo, o que não quer dizer que esta planta não tenha poder de produzir outros tipos de metabólitos.

Através do desenvolvimento de métodos extrativos geralmente seletivos para cada classe de metabólitos secundários e o processamento dos extratos obtidos a partir de plantas é possível isolar princípios ativos de grande importância para saúde humana e animal, bem como para diversos ramos da indústria mundial.

A figura 3.3 apresenta as etapas para obtenção de novos fármacos a partir de plantas. Dentro desta realidade, podemos citar a produção e desenvolvimento de produtos provenientes de fontes naturais para utilização como carrapaticida. Uma das principais limitações até agora relacionada com a questão dos produtos naturais como fonte de novas moléculas biotivas é a alegada complexidade do processo de avaliação, pela presença de misturas biológicas de difícil caracterização. Entretanto, técnicas inovadoras e novos processos de engenharia vêm superando rapidamente essas limitações (Nisbet e Moore, 2000).

Componentes e constituintes são os termos com que geralmente são caracterizadas as preparações, mas como plantas são constituídas por muitos compostos químicos, é prática comum individualizar os responsáveis pelo efeito biológico, chamando-os de princípios ativos. (Robbers, 1997).

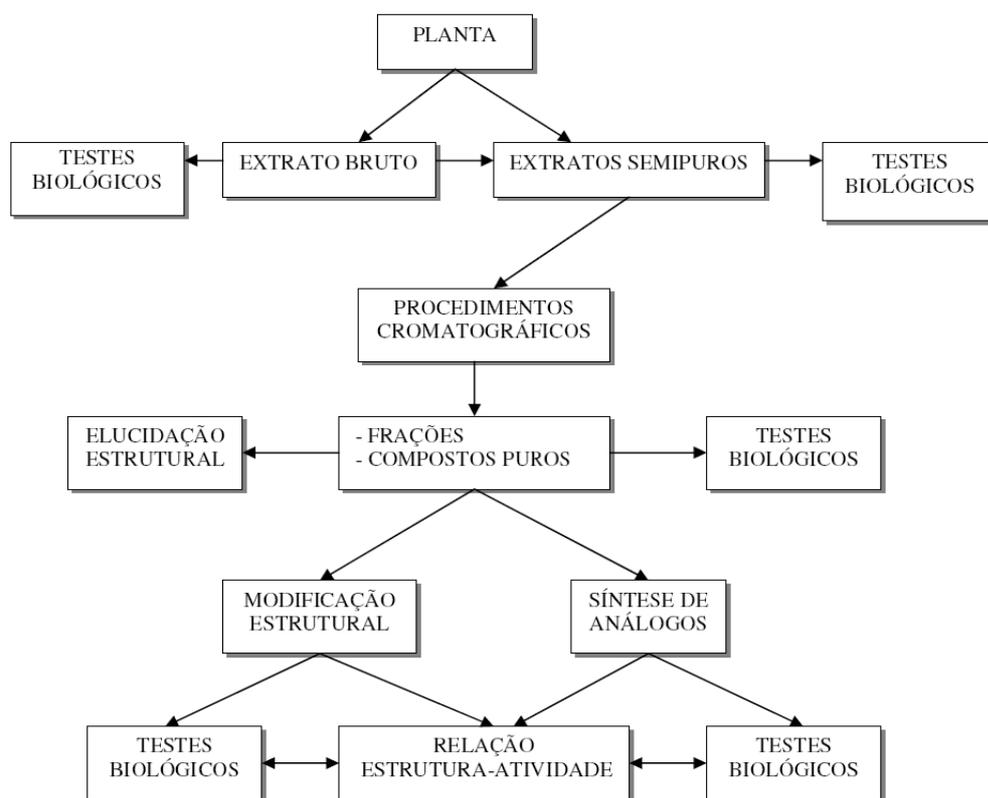


Figura 3.3. Etapas para obtenção de fármacos à partir de plantas (Simões, 2007).

3.2.1. Atividade carrapaticida de produtos naturais

A necessidade de redução do uso de acaricidas sintéticos, visto que os mesmos não são mais tão eficientes, bem como a necessidade da criação de novos produtos que controlem a população de carrapatos e que sejam menos nocivos ao meio ambiente, torna os produtos naturais uma alternativa bastante valiosa. Esta afirmação é de senso comum, principalmente devido ao fato que há um grande número de plantas e seus derivados com ações farmacológicas, os quais se incluem os efeitos acaricidas desejados para o controle de carrapatos. Soma-se a este fato, o risco de intoxicação e a maior predisposição a outras doenças, quando no manejo do gado submetido a banhos com carrapaticidas químicos. Para realizar este procedimento os animais sofrem grande estresse físico, trazendo problemas na produção de carne (Clark, 1982).

Para Araújo Filho (2002) a fitoterapia e a homeopatia são bases para o controle de doenças na produção animal ecológica, trazendo como vantagem um maior retorno econômico em função de um menor desembolso com a compra de produtos químicos

industrializados. Também traz como vantagem a redução de resíduos tóxicos contaminantes, além de terem demonstrado resultados positivos na prevenção e na cura dessas doenças. É preciso haver uma recuperação e valorização histórica dos modos de cura das doenças dos animais, tanto as utilizadas pelos meios populares, quanto às técnicas terapêuticas mais antigas.

Avancini (1994) considera que a utilização de plantas medicinais na medicina veterinária não é uma terapia alternativa, e sim tradicional, pois a mesma faz parte da cultura popular. Somado ao uso de plantas medicinais deve haver um grande esforço para organizar e armazenar as informações científicas obtidas. Isso porque existem muitas disparidades em relação às quantidades, partes da planta, forma e época de colheita, estágio de desenvolvimento, forma de obtenção e tempo de conservação das substâncias (óleos essenciais, entre outros componentes) da planta a ser utilizada. Adicionando-se a estes questionamentos, têm-se recomendações de mistura de diferentes plantas, o que dificulta a análise de resultados individuais de determinados grupos de plantas.

O desenvolvimento de acaricidas químicos vem de longa data, aproximadamente no ano de 1949, quando foram lançados os carrapaticidas arsênicos. Estes foram sendo substituídos por exemplares como fosforados, amidinas e ultimamente os piretróides e os quimioterápicos com ação inseticida. (Furlong, 1993). O uso indiscriminado destes acaricidas traz problemas como o desenvolvimento da resistência por parte dos carrapatos aos carrapaticidas químicos, fato que incentiva a busca de novos produtos para esta finalidade.

Com relação ao carrapato, diversas plantas têm sido testadas em programas de controle, na tentativa de redução na utilização de produtos acaricidas sintéticos, tais como *Drimys brasiliensis*, (Ribeiro et al. 2008), *Hypericum polyanthemum* (Ribeiro et al. 2007), *C. winterianus* Chagas (2002) e (Martins, 2006), *Azadirachta indica* (Martinez, 2002), *Melinis multiflora* Beauv. (Prates, 1993), e algumas espécies do gênero *Stylosanthes* (Castrejón et al., 2003).

3.2.2. Óleos Essenciais

Neste trabalho abordaremos a parte do metabolismo secundário das plantas responsável pela produção de óleos essenciais nos órgãos vegetais. Óleos essenciais são compostos basicamente por moléculas denominadas isoprenóides e fenilpropanóides, que são produtos da interação genética da planta com o seu habitat.

Segundo Corazza (2002), óleos essenciais ou voláteis correspondem aos principais componentes odoríferos encontrados nas plantas. São denominados óleos voláteis ou essenciais pelo fato de evaporarem quando expostos ao ar. Os óleos essenciais são originários do metabolismo secundário das plantas e possuem composição química complexa, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanóides (Silva et al., 2003). Estes constituem os elementos voláteis contidos em muitos órgãos vegetais e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal, exercendo papel fundamental na defesa da planta contra microorganismos (Siqui et al., 2000).

Segundo a Resolução - RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007, óleos essenciais são produtos voláteis de origem vegetal obtidos por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado). Podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Entende-se por retificados os produtos que tenham sido submetidos a um processo de destilação fracionada para concentrar determinados componentes; por concentrados os que tenham sido parcialmente desterpenados; por desterpenados, aqueles dos quais tenha sido retirada a quase totalidade dos terpenos (Brasil, 2007).

Em várias espécies, o local da biossíntese está restrito a um órgão, enquanto que os produtos são acumulados em toda a planta ou em órgãos diferentes, devido ao sistema de transporte intercelular. Nas células, certos mecanismos bioquímicos garantem a condução dos compostos aos compartimentos de estocagem apropriados: os metabólitos mais hidrofílicos tendem a ser armazenados nos vacúolos, enquanto que os lipofílicos acumulam-se em ductos de células mortas ou ligam-se aos componentes celulares lipofílicos, como membranas, ceras cuticulares e lignina (Santos, 2000).

Os óleos essenciais podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas, tais como tricomas glandulares, idioblastos, canais oleíferos ou em bolsas lisígenas ou

esquizolisígenas (Simões e Spitzer, 1999). As estruturas anatômicas nas quais os óleos essenciais são depositados evoluíram de células oleíferas, cavidades e canais secretores a tricomas glandulares. Estas estruturas caracterizam linhagens evolutivas de angiospermas (Gottlieb e Salatino, 1987).

O conteúdo de óleo essencial pode variar consideravelmente de espécie para espécie, parâmetros climáticos e fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, colheita e especialmente a fase de desenvolvimento da planta na data da colheita. Muitas plantas existem sob vários fenótipos, isto é, diferindo na sua aparência e diversidade qualitativa e quantitativa, geralmente detectada na composição do óleo essencial obtido (Kerrola et al., 1994). Geralmente, a concentração de óleo essencial presente em espécies vegetais é muito baixa, normalmente inferior a 1%. Percentagens elevadas são encontradas, por exemplo, em botões florais de cravos, os quais produzem cerca de 15 % de óleo essencial (Bruneton, 1991).

Basicamente os óleos essenciais são constituídos de uma mistura complexa de hidrocarbonetos oxigenados, álcoois e compostos aromáticos, encontrados em todo tecido vivo de plantas, mas em geral concentrados na casca, flores, folhas, rizomas e sementes (Simões e Spitzer, 1999).

Os elementos voláteis dos óleos essenciais, desde antigamente lhes deram grande importância para diversos setores da indústria, pois através destes, podemos reproduzir o aroma e sabor da planta na qual foi extraído o óleo, e esta propriedade faz com que estes óleos tenham um papel importante na economia mundial de aromatizantes e flavorizantes, mesmo quando observamos a disputa de mercado destes produtos com produtos sintéticos.

Marques (1958) já destacava as aplicações genéricas mais importantes para os óleos essenciais:

- a) As baseadas no odor, que constituem os fundamentos da indústria e da arte da perfumaria, bem como da aromatização de produtos industriais;
- b) As que se fundamentam no sabor, proporcionando à indústria de alimentos e de bebidas alcoólicas ou recursos importantes para a valorização desses produtos;

c) As que se baseiam nas características físicas e químicas, possibilitando a obtenção de produtos terapêuticos, de solventes e de emulsionantes industriais, e ainda de produtos intermediários ou iniciais para processos sintéticos visando substâncias muito variadas;

d) As que se baseiam na associação odor-sabor que permitem a valorização e maior consumo de produtos comestíveis, tais como os de confeitarias.

Atualmente, óleos essenciais se apresentam como valiosas alternativas para diversos ramos da indústria, aplicações baseadas na antiga utilização destes pela medicina popular, agora fundamentada cientificamente pelas inúmeras produções que asseguram suas atividades biológicas, sendo então bastante utilizados por ramificações da indústria farmacêutica, tais como a elaboração de cosméticos e uso veterinário (Santos, 2000).

Corazza (2002) relata que geralmente óleos essenciais apresentam densidade menor que a da água, alto índice de refração e sensibilidade à luz e ao ar. Com relação à coloração, podem variar de totalmente incolores a fortemente dourados, passando por nuances esverdeadas, ambarinas ou amareladas.

Os óleos essenciais são misturas complexas tanto do ponto de vista qualitativo quanto do ponto de vista quantitativo. Todos os óleos essenciais contêm um número elevado de componentes individuais pertencentes a diferentes classes de grupos funcionais. Somente em alguns casos os aromas são devidos a compostos alifáticos que podem ser alcoóis, aldeídos, cetonas, éteres ou ésteres (Santos, 2000).

Os terpenóides distribuem-se amplamente na natureza e são encontrados em abundância nas plantas superiores. O conceito de que os terpenóides são constituídos a partir de unidades de isopreno recebe o nome de “regra do isopreno”, conforme é possível observar na Figura 3.4. (Robbers et al., 1997).

Nos óleos essenciais predominam os monoterpenos regulares (Figura 3.4), de fórmula geral $C_{10}H_{16}$, e os sesquiterpenos, de fórmula estrutural $C_{15}H_{24}$, e os derivados oxigenados de ambos os grupos, por exemplo, alcoóis, aldeídos, cetonas e ésteres.

Esses derivados oxigenados geralmente são responsáveis pelo aroma característico de um óleo essencial, e são denominados terpenóides (Serafini et al. 2002).

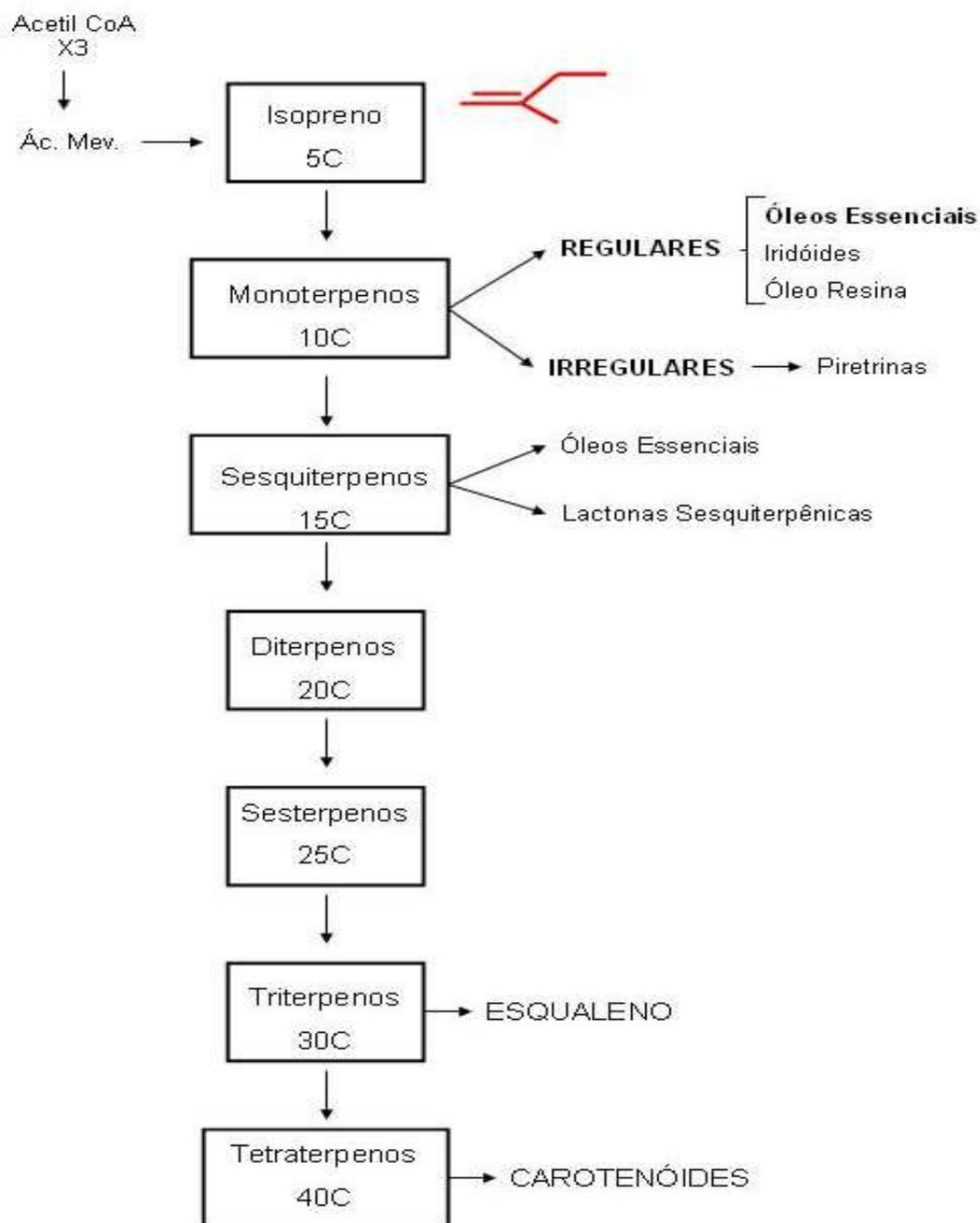


Figura 3.4. Formação dos terpenóides (Robbers et al., 1997).

Nos óleos essenciais também estão presentes os fenilpropanóides simples, que são moléculas derivadas de aminoácidos aromáticos. Os fenilpropanóides são assim classificados com base em seu peso molecular relativamente baixo, e nas pequenas modificações estruturais em relação aos intermediários da biossíntese dos demais fenilpropanóides.

3.3. Plantas produtoras de óleos essenciais utilizadas no trabalho

3.3.1. Citronela (*C. winterianus*)

Segundo Corazza (2002), a citronela (*C. winterianus*), é uma planta herbácea tropical, de ciclo perene, podendo atingir até 1,5 metros de altura (Figura 3.5). Monocotiledônea, pertencente à família *Poaceae*, apresenta folhas verdes longas, simples, lineares, alternas e com lígula entre o limbo e a bainha. É originária do sudeste da Ásia.



Figura 3.5. Citronela (*C. winterianus*) na usina da empresa Tekton óleos essenciais.

É conhecida por ser uma planta muito resistente, que pode crescer em solos de características muito variadas, mas com preferência pelos solos bem drenados e ricos em nutrientes (Tanu e Adholeya, 2004). Esta espécie é largamente cultivada na Ásia e em alguns países da América Central. Mostrou-se facilmente cultivável em regiões de clima tropical, adaptando-se muito bem em diversas regiões do Brasil. É conhecida popularmente como repelente para mosquitos, inclusive o *Aedes aegypti* (Tawatsin et al., 2001).

Seu óleo essencial geralmente é extraído através de destilação por arraste a vapor. Tanu e Adholeya (2004) relatam que o óleo de citronela é muito utilizado na

indústria farmacêutica como matéria-prima para produção de cosméticos e principalmente na perfumaria.

Suas principais propriedades sensoriais são o frescor, intensidade cítrica e o aroma levemente frutal, semelhante ao óleo de capim-limão (Corazza, 2002).

3.3.2. Alecrim

O alecrim (*R. officinalis*) é um arbusto perene, aromático da família das Labiadas, originário do sul da Europa (Figura 3.6). Possui folhas pequenas, lenhoso e ramoso. É cultivado no sul da Espanha, Dalmácia (ex- Iugoslávia), Tunísia, Marrocos (Costa, 1994; Beckstrom-Sternberg e Duke, 1994). Para a extração dos óleos essenciais dessa planta, são utilizadas as folhas e as flores.



Figura 3.6. Alecrim (*R. officinalis*) na usina da empresa Tekton óleos essenciais.

O alecrim fresco contém de 1,0 a 2,0% de óleo essencial constituído por 0,8 a 6,0% de ésteres (calculados como acetato de bornilo) e 8,0 a 20,0% de alcoóis totais, calculados como borneol. As folhas contêm também alcoóis triterpênicos, α -amirina, β -amirina, betulina e β -sitosterol junto com epi- α -amirina, (Costa, 1994; Evans, 1991). O óleo essencial do alecrim é obtido tradicionalmente pelo processo de arraste a vapor das folhas frescas, com rendimento de 0,5 a 1,5%. O óleo contém 1,8 cineol, α -pineno, borneol e cânfora, linalol e verbenona. A quantidade desses componentes pode variar consideravelmente de acordo com a região de produção da planta (Guillen et al., 1996).

Seu óleo essencial é conhecido pela sua atividade antioxidante, sendo muito utilizado na indústria de embutidos. Possui aplicações também na indústria de perfumaria e cosméticos. Dentre as propriedades terapêuticas destacam-se: estimulante, antisséptico, diaforético, antiespasmódico, narcótico e antioxidante (Beckstrom-Sternberg e Duke, 1994). O clima temperado é considerado ótimo para a produção dessa planta, bem como o local de plantio deve ser ensolarado e protegido dos ventos. O alecrim tolera a falta de chuva, porém quando novo deve ser regado até que as mudas se desenvolvam. Sua propagação é dada através de estacas e sementes (Serafini, 2002).

3.3.3. Aroeira

Amplamente distribuída no Rio Grande do Sul, *Schinus molle* L. (*Anacardiaceae*) também conhecida como anacaita ou aroeira mansa é uma espécie heliófita e com características xerofíticas, usualmente empregada em paisagismo ou arborização das ruas (Figura 3.7). É originária do Peru, mas se pode encontrar como nativa no Brasil, Uruguai, Argentina e outros países da região Andina (Backes e Nardino, 2002).



Figura 3.7. Folhas e frutos da aroeira (*S.molle*).

Suas folhas e frutos contêm óleos picantes, bastante utilizados na medicina popular, sendo conhecida na Costa Rica como “**chile**” ou “pimenta da califórnia” (León, 2000).

Seu óleo apresenta propriedades antimicrobianas, antifúngicas, antiinflamatórias, antiespasmódicas, antipiréticas e cicatrizantes (Marongiu et. al, 2004).

A composição química do óleo essencial consiste principalmente de hidrocarbonetos monoterpênicos, alguns sesquiterpenos e fenóis. No entanto, a composição química de plantas de mesma espécie irá depender de diversos fatores, tais como estado fenológico da planta, fatores geográficos (localização), ecológicos (habitat), variabilidade genética (expressa através dos quimiotipos), processo de extração empregado, entre outros (Bandoni, 2000).

3. 4. Obtenção de óleos essenciais

Desde tempos remotos, o homem tem utilizado o reino vegetal para a obtenção de produtos de uso alimentício, curativo ou cosmético. Durante este período, os métodos para isolamento das substâncias, de acordo com sua classe ou finalidade, têm sido desenvolvidos. Isto é função entre outros fatores, do tipo de material a ser processado, observando características físicas e químicas das moléculas de interesse ou da aplicação que será dada a este material.

O processo de extração de óleos essenciais mediante arraste com vapor d'água é um dos métodos de extração utilizados com maior frequência para obter os principais componentes aromáticos de uma planta, assim como alguns de seus princípios ativos (Bandoni, 2000).

Os óleos voláteis possuem pressão de vapor mais elevada que a água, sendo, por isso, arrastados pelo vapor d'água. Em pequena escala, emprega-se o aparelho de clewenger para realizar a separação óleo/água. O óleo volátil obtido, após separar-se da água, deve ser seco com sulfato de sódio anidro, por exemplo. Esse procedimento, embora clássico, pode levar a degradação térmica em função da temperatura empregada. Preferencialmente, esse método é utilizado para extrair óleos de plantas frescas (Santos, 2000).

A unidade industrial da usina da empresa Tekton Óleos Essenciais, em Viamão - RS opera da seguinte forma: a matéria prima vegetal é colocada no vaso extrator com dimensões de 1,4 m de diâmetro e 2,5 m de altura, de maneira que forme um leito fixo compactado. Seu estado pode ser moído, cortado, inteiro ou combinação desses, porém, para os óleos usados nesta dissertação, a matéria-prima é colocada inteira no leito. O vapor é gerado em uma caldeira externa alimentada a lenha, com pressão de 7 kgf/cm². Uma válvula de expansão reduz sua pressão para 1,2 kgf/cm², obtendo dessa forma vapor levemente superaquecido a temperatura média de 105 °C. O vapor é injetado no vaso extrator através de um distribuidor interno, próximo à base. Conforme o vapor entra em contato com o leito, aquece a matéria-prima, quebra as frágeis bolsas intracelulares que se abrem e liberam o óleo essencial, vaporizando a parcela mais volátil. O óleo é solubilizado no vapor circundante e é arrastado ao topo do vaso extrator. A mistura com vapor de óleo essencial e vapor d'água, que deixa o vaso extrator, percorre o condensador de serpentina, onde passa do estado vapor para o estado líquido, devido à refrigeração indireta por água à temperatura ambiente. A mistura condensada alimenta o vaso separador, chamado de vaso florentino, no qual a fase óleo essencial é separada da fase aquosa por diferença de densidade. A água residual é o hidrolato, utilizado para irrigar as plantações ou como água de colônia (Sartor, 2009).

Segundo Bandoni (2000) habitualmente a destilação é realizada logo após a colheita, com a finalidade de preservar os constituintes químicos da planta. Levando-se em consideração que em uma unidade industrial trabalha-se com grandes quantidades de material, chega-se então a conclusão de que esta deve ser instalada nas proximidades das fontes de matéria prima. Para a escolha do local adequado para a instalação da unidade, também se deve levar em conta que o combustível da caldeira e a água utilizada no processo, devem ser de fácil acesso à unidade industrial de destilação, diminuindo custos.

A quantidade de material a ser carregado no extrator deve ser avaliada com a utilização de uma escala piloto de arraste com vapor d'água, que simula o processo industrial em uma escala menor. Para tanto, não é válido dar uma norma geral para este tipo de extração, pois cada tipo de planta terá suas particularidades, sendo a escala piloto o padrão para definição dos parâmetros ideais de produção (Bandoni, 2000).

Os óleos essenciais também podem ser extraídos da planta através de métodos como a prensagem, muito utilizado para obtenção de óleos cítricos, e bastante utilizado na indústria de processamento de suco de laranja. Os métodos de extração através de solventes orgânicos podem ser utilizados, mas apresentam inúmeras restrições, pois não são seletivos, além da preocupação com a parte residual do solvente utilizado. Podem-se citar ainda como uma inovação tecnológica de grande importância, a extração com a utilização de dióxido de carbono em meio supercrítico. Esta técnica apresenta alta seletividade quando determinadas previamente as condições experimentais do processo, além de ser uma tecnologia totalmente limpa, não deixa resíduos na amostra, e não trabalha em altas temperaturas, o que diminui o risco de degradação térmica da amostra.

3.5. Destilação Fracionada a Vácuo

Segundo Gonçalves (1988), a destilação fracionada a vácuo consiste em um processo de separação de uma mistura promovido pela diferença de pontos de ebulição entre os compostos presentes na mesma. O processo em questão utiliza vácuo para evitar a degradação de compostos termolábeis presentes nos óleos essenciais, pois a uma pressão reduzida o ponto de ebulição dos compostos diminui em relação ao ponto de ebulição destes à pressão atmosférica. Este tipo de processo de separação é tradicionalmente utilizado para a separação de compostos de elevado peso molar que degradam a temperaturas mais elevadas, por exemplo, a destilação do petróleo.

O processo em questão consiste de uma fonte de aquecimento, que no caso laboratorial caracteriza-se por uma manta térmica, um reservatório para alimentação da mistura, uma coluna de destilação recheada, onde se promove a transferência de massa e energia entre o líquido e o vapor, um condensador que liquefaz o vapor que alcança o topo da coluna e um vaso que recolhe o produto destilado. Para promover a redução da pressão, todo o sistema está sob vácuo controlado (Seader e Henley, 1998).

O recheio da coluna promove o contato entre o vapor quente ascendente e o líquido condensado descendente. A intenção desses recheios é promover várias etapas de vaporização e condensação da matéria com o objetivo de aumentar a eficiência da separação. No caso de uma coluna recheada a vaporização/condensação ocorre de

modo contínuo e quanto maior a área de contato entre o líquido e o vapor no interior da coluna, mais eficiente é a separação (Wankat, 2007).

Os vapores que alcançam o topo da coluna têm sua temperatura medida, pois a partir da mesma define-se a faixa de destilação das diferentes frações. Posteriormente são liquefeitos em um condensador e recolhidos em um reservatório. O processo conceitual apresentado é empregado tanto em escala laboratorial como em escala industrial (Wankat, 2007).

A destilação a vácuo pode então ser utilizada para o fracionamento dos óleos essenciais, pois se considera que os mesmos são misturas de compostos orgânicos com pontos de ebulição diferentes. A pressão reduzida através do vácuo serve para diminuir o ponto de ebulição dos compostos, diminuindo assim, problemas de degradação térmica dos componentes da mistura.

3.6. Controle de qualidade de óleos essenciais

Para óleos essenciais, o acoplamento do cromatógrafo gasoso (GC) ao espectrômetro de massas (MS) tem recebido grande atenção desde a sua introdução. A técnica permite obter o espectro de massa de cada componente eluído através da coluna cromatográfica. É possível obter dados sobre seu peso molecular e sua estrutura. Existem bases de dados com os espectros de massas de muitos componentes (Serafini, 2002).

A cromatografia gasosa consiste numa fase móvel e uma fase estacionária, onde a fase móvel é um gás, geralmente He, N₂ ou H₂ e a fase estacionária é geralmente um líquido não-volátil, podendo ser, às vezes, um sólido. Na cromatografia gasosa, o constituinte gasoso (ou líquido volátil) é transportado pela coluna por uma fase móvel gasosa, chamada gás de arraste. A escolha do gás de arraste depende do detector e da eficiência e velocidade de separação desejada. De maneira geral, a cromatografia gasosa é aplicável para a separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis (Harris, 2001).

Uma amostra líquida volátil ou gasosa é injetada dentro de uma câmara aquecida, na qual ela se evapora rapidamente. O vapor é arrastado na coluna pelo gás

de arraste, e os constituintes separados fluem em direção ao detector, cuja resposta é mostrada num computador ou registrador. A coluna deve estar aquecida o bastante para proporcionar uma pressão de vapor suficiente para que os constituintes sejam eluídos num tempo razoável. O detector é mantido numa temperatura superior à da coluna, logo todos os constituintes serão gasosos (Harris, 2001).

Um espectrômetro de massas é caracterizado por ter detector para a análise qualitativa e quantitativa de componentes voláteis. Na espectrometria de massas, as moléculas gasosas são ionizadas (geralmente para formarem cátions), aceleradas por um campo elétrico, e então separadas de acordo com as suas massas. O processo de ionização geralmente confere energia suficiente para quebrar a molécula numa variedade de fragmentos. Um espectro de massas é um gráfico que mostra a abundância relativa de cada fragmento que atinge o detector do espectrômetro de massas (Harris, 2001) e os mesmos são comparados com os espectros de bibliotecas através do software específico para esta aplicação (Adams, 2007).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Os óleos essenciais de citronela e alecrim foram fornecidos pela empresa Tekton Óleos Essenciais Ltda., localizada em Viamão – RS, região metropolitana de Porto Alegre. Os óleos essenciais foram extraídos das partes aéreas das plantas aromáticas por destilação por arraste a vapor em escala industrial (figura 4.1).

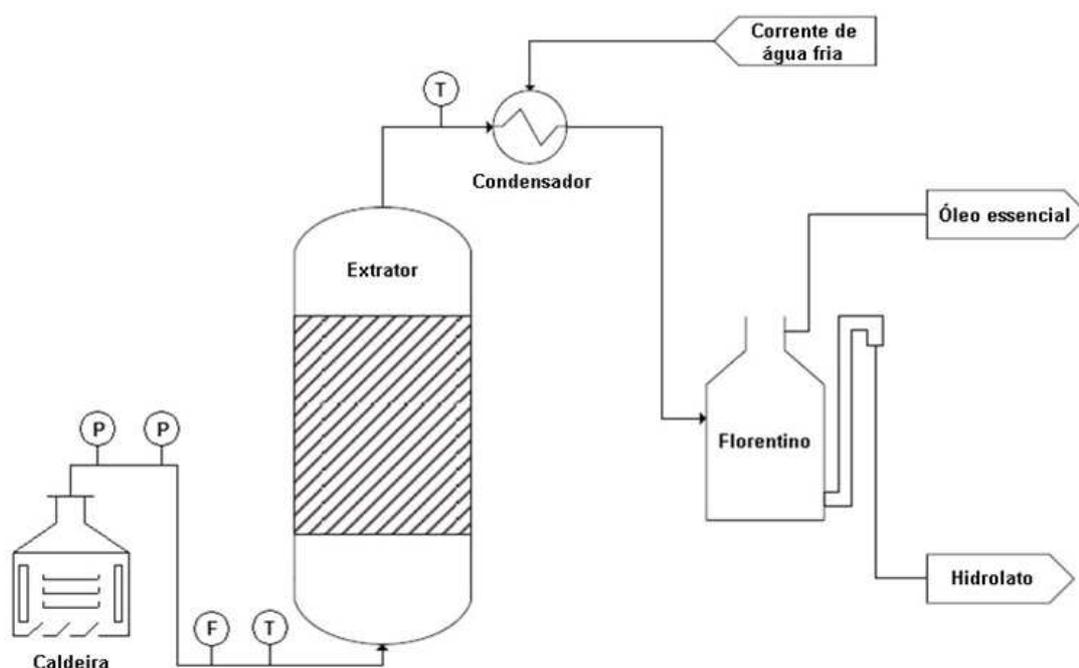


Figura 4.1.: Fluxograma do processo industrial da empresa Tekton Óleos Essenciais

O óleo essencial de aroeira foi fornecido pelo Programa de Plantas Aromáticas e Medicinais do Ministério de Agricultura e Pecuária da Província de Santa Fé – Argentina. O óleo essencial foi também extraído por arraste a vapor, porém o mesmo teve como matéria prima vegetal os frutos da aroeira.

4.1. Fracionamento dos óleos essenciais

O processo utilizado para o fracionamento foi a destilação fracionada a vácuo. O equipamento utilizado tem escala laboratorial e está instalado no Laboratório de Operações Unitárias (LOPE) da Faculdade de Engenharia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

O aparelho para destilação fracionada a vácuo foi projetado e construído no LOPE para esta dissertação. Primeiramente foi utilizada uma coluna de fracionamento recheada com pedaços de vidro com 3 mm de espessura, de aproximadamente 50 cm de comprimento, isolada com manta térmica (Figura 4.2). Com o desenvolvimento da dissertação, aprimorou-se o equipamento com a substituição da coluna de fracionamento inicial, por uma coluna de aproximadamente 150 cm de comprimento com recheio de limalha de titânio e manta térmica de isolamento térmico (Figura 4.3).



Figura 4.2. Aparelho de destilação fracionada coluna 50 cm.

O aquecimento do óleo essencial na etapa de fracionamento é feito por manta de aquecimento (Fisatom, modelo 102) e o controle do vácuo do sistema fica a cargo de uma bomba de vácuo (Tecnal, modelo TE 058) que está conectada ao sistema de destilação logo abaixo do segundo condensador, como pode ser observado na Figura 4.3.

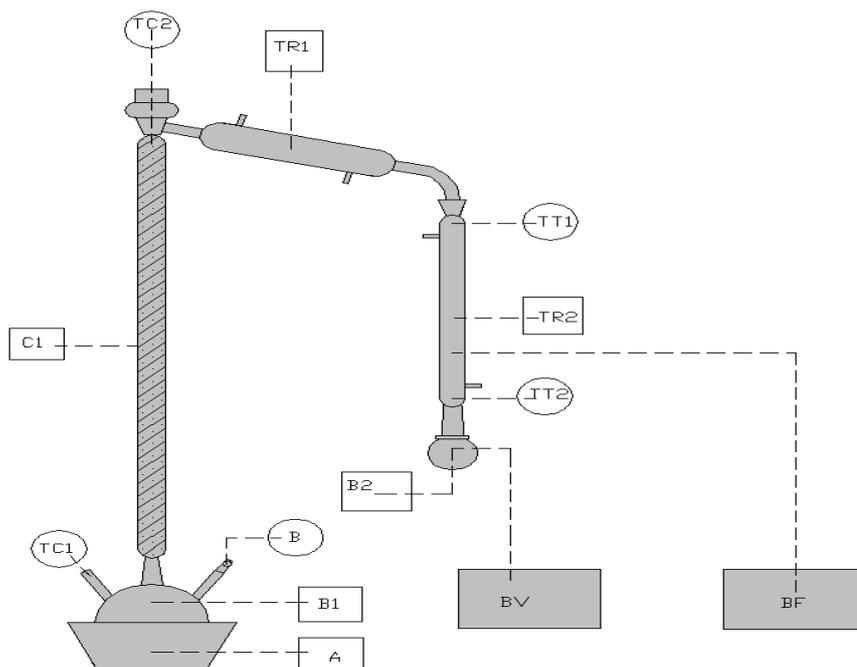


Figura 4.3. Esquema do aparelho de destilação fracionada a vácuo composto por uma manta térmica (A), balão de fundo redondo com três entradas (B1), saída para tubo capilar (B), sensor interno de temperatura no balão (TC1), coluna recheada (C1), controle de temperatura na saída da coluna (TC2), condensadores (TR1 e TR2), bomba de vácuo (BV) e banho termostático frio (BF).

O equipamento de destilação fracionada possui um balão de fundo redondo (B1), onde é colocada a quantidade desejada de óleo essencial. Este é provido de três saídas: na saída B é conectada um tubo capilar que tem como função controlar e estabilizar a ebulição do óleo essencial; na saída TC1 introduzido um sensor de temperatura que permite o controle da mesma durante o processo. O principal objetivo deste controle é evitar temperaturas muito elevadas que possam vir causar uma degradação do óleo essencial; na terceira saída é conectada a coluna de fracionamento C1.

Em relação à coluna recheada C1, foram utilizadas duas peças. No início dos trabalhos foi empregada uma coluna de fracionamento de 0,50 m recheada com pedaços de vidro. Em função dos resultados obtidos pelo fracionamento, esta peça foi substituída por uma coluna de 1,5 m e recheada com limalhas de titânio. O material do recheio foi selecionado em função da proteção contra a corrosão.

No topo da coluna, inserido na cabeça de destilação do sistema, foi introduzido um termopar (TC2) que indica a temperatura de saída das frações da coluna. Este termopar está ligado a um amostrador digital e a precisão desta variável é de $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$.

Após a cabeça de destilação, foram inseridos em série, dois condensadores refrigerados por água. O primeiro é um condensador de tubo (TR1) e o segundo um condensador de bolas (TR2). A temperatura da água de refrigeração é controlada por um banho termostático (BF), marca Tecnal, modelo TE-2000.

Após a sequência de condensadores, utilizou-se uma junta conectante, com saída para vácuo e ligada a ela uma junta conectante para isolamento do vácuo no sistema, visando a coleta de amostras das frações destiladas. O objetivo desta conexão é impedir a variação da pressão interna do sistema no momento da retirada da fração destilada. Esta junta foi desenvolvida no próprio laboratório e é constituída por duas válvulas, uma para o isolamento do sistema e uma para alívio da pressão interna no compartimento onde está acondicionada a fração a ser retirada. Esta fração é mantida em um balão de fundo redondo (B2) de 100mL que é substituído após cada amostragem.

O óleo essencial de citronela foi destilado em 05 frações, de alecrim em 04 frações e de aroeira em 03 frações. Os dados com as condições operacionais das respectivas destilações e os rendimentos são apresentados no capítulo referente a resultados e discussões.

4.2. Determinação da composição química

Os óleos essenciais e suas respectivas frações foram analisados por cromatografia gasosa - espectrometria de massas em triplicata. O equipamento utilizado é da marca Agilent Technologies, modelo 7890A CG system Coluna capilar HP – 5 MS (30 m de comprimento x 0,250 mm de diâmetro interno x 0,25 μm de espessura), 60 a 325/350 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura. O gás de arraste utilizado é o hélio. As análises no espectrômetro de massa (MS) foram realizadas em equipamento da marca Agilent Technologies, modelo 5975C VL MSD, operando em 70 eV e a temperatura da fonte de íon foi mantida em 230 $^{\circ}\text{C}$. É injetado 5 μL de amostra diluída (1:1) em n-hexano. De posse dos resultados se calculou o índice aritmético de cada componente detectado nas

condições físicas utilizadas na técnica, comparando-os com os índices aritméticos teóricos de cada composto. Em caso de sobreposição de picos devido à grande quantidade de compostos com propriedades semelhantes estes foram descritos como uma soma dos percentuais em área dos componentes envolvidos.

4.3. Determinação da atividade carrapaticida

Os métodos para determinação da atividade carrapaticida empregados neste estudo são descritos por Ribeiro et al. (2008).

O método consiste na coleta a campo de fêmeas ingurgitadas em bovinos não tratados com carrapaticidas químicos. As fêmeas são então acondicionadas em uma estufa a uma temperatura entre 27 e 28°C, com umidade controlada entre 70 e 80%. Estas são as condições físicas ideais para o cultivo dos carrapatos. Assim, os carrapatos fêmea realizam a postura dos ovos em laboratório. Após a postura, as fêmeas são desprezadas.

Após o término da postura, foi feita a coleta dos ovos, realizou-se a pesagem e colocaram-se os ovos em saquinhos pré-preparados de TNT (tecido-não-tecido), onde foram cultivados os ovos de carrapato. Sendo assim, foram pesados em média 0,005 g de ovos de carrapatos, o que corresponde, em média, a 100 ovos de carrapatos por cultura.

Os testes acaricidas foram realizados utilizando soluções etanólicas dos óleos essenciais e suas respectivas frações, preparadas com etanol P.A. As concentrações definidas para a realização dos ensaios foram 25%, 12,5%, 6,25%, 5%, 2,50%, 1,25% e 0,625%, todas concentrações em v/v.

Para os testes de morte larval, incubam-se os ovos por 14 dias até o desenvolvimento das larvas, a uma temperatura entre 27 e 28° C, com umidade controlada em torno de 70 a 80%. Então, as bolsas contendo as larvas são submetidas ao teste de imersão. Banham-se os sacos com ovos de carrapatos por cinco minutos nas diferentes soluções etanólicas de óleo essencial, previamente preparadas. Após a imersão, deixam-se as bolsas ao ar livre por aproximadamente uma hora, com a finalidade de realizar a evaporação do solvente. Após este procedimento, levam-se as

bolsas contendo as larvas para estufa nas condições previamente citadas, deixando-as em repouso por 48 horas. Os sacos com larvas também são imersos em etanol P.A. e em água destilada, servindo assim de controle. Os testes foram realizados em quadruplicata. Ao fim deste período, contam-se as larvas mortas e se define o percentual de mortalidade. Os testes carrapaticidas foram realizados no Laboratório de Entomologia, Faculdade de Veterinária da UFRGS Porto Alegre, RS, Brasil, com a supervisão da professora Vera Lucia Sardá Ribeiro.

A representação da atividade carrapaticida dos óleos essenciais e suas respectivas frações foram expressas através da concentração letal das amostras. Realizou-se o cálculo das concentrações inibitórias através de regressão linear das médias de inibição encontradas para cada experimento. Foi calculada a concentração letal média (LC_{50}) para cada amostra testada frente aos carrapatos, bem como as concentrações onde os extratos são letais para 1% dos exemplares de carrapatos (LC_1) e para 99,9% dos exemplares ($LC_{99,9}$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Experimentos com óleo essencial de citronela

O fracionamento do óleo essencial de citronela foi realizado utilizando-se uma coluna de fracionamento recheada com vidro, de 50 cm de comprimento. Foram definidas 05 faixas de destilação (FR1, FR2, FR3, FR4 e FR5), como se pode observar na tabela 5.1.

Tabela 5.1. Intervalo de temperatura das frações do óleo essencial de citronela e seus respectivos rendimentos v/v.

Frações	Intervalo temperatura (°C)	Rendimento (% V/V)
FR1	25-50	4,5
FR2	50-75	13,5
FR3	75-100	15,0
FR4	100-125	22,0
FR5	> 125	45,0

Ao analisar a tabela 5.1 se observa que as frações com maior volume, FR4 e FR5, são as que correspondem à faixa de temperatura mais elevadas, conseqüentemente, obtém-se um maior rendimento para as frações mais pesadas.

Os resultados das análises cromatográficas do óleo essencial de citronela e das respectivas frações destiladas são apresentados na tabela 5.2. A identificação dos compostos é obtida por similaridade de espectro com a biblioteca Adams (Adams, 2007). Também são apresentados na tabela 5.2 os resultados teóricos da comparação do tempo de retenção do composto com o tempo de retenção de uma série de n-alcenos, calculando-se, então, o índice aritmético (AI) para cada componente das amostras. Os dados completos dos índices aritméticos para o óleo essencial e as frações FR1, FR2, FR3, FR4 e FR5 encontram-se no Anexo 01.

Tabela 5.2. Percentual em área e índice aritmético teórico dos compostos presentes no óleo essencial de citronela e nas respectivas frações

Composto	(%)Área						
	IA teórico	Óleo	F1	F2	F3	F4	F5
triciclano	921	tr	tr	-	-	-	-
α-thujeno	924	tr	-	-	-	-	-
α-pineno	932	tr	0,140	-	-	-	-
canfeno	946	tr	tr	-	-	-	-
sabineno	969	tr	0,158	-	-	-	-
β-pinene	974	tr	0,112	-	-	-	-
mirreno	988	tr	0,266	tr	0,626	1,147	-
α-felandreno	1002	tr	0,171	-	-	-	-
α-terpineno	1014	tr	-	-	-	-	-
O-cymeno	1022	tr	-	-	-	-	-
limoneno	1024	4,120	26,193	4,978	0,321	0,155	-
1,8-cineol	1026	tr	-	0,366	0,195	-	-
Z-β-ocymene	1032	tr	-	-	0,285	0,487	-
E-β-ocymene	1044	tr	-	-	0,468	0,873	-
bergamal	1051	0,118	0,427	-	-	-	-
γ-terpinene	1054	tr	tr	-	-	-	-
p-menta-3,8-dieno	1068	tr	-	-	0,116	0,120	-
terpinoleno	1086	tr	0,330	tr	-	tr	-
linalol	1095	0,777	1,511	1,871	1,685	1,000	-
cis-rose oxido	1106	tr	0,110	0,121	0,131	tr	-
trans-rose oxido	1122	tr	-	-	tr	-	-
isopulegol	1145	1,371	2,764	5,241	6,959	3,198	0,263
citronelal	1148	37,987	41,292	53,851	38,711	16,76	1,811
iso-isopulegol	1155	tr	0,424	0,366	-	0,404	-
iso-mentona	1162	tr	0,180	1,414	2,023	1,030	-
terpinen-4-ol	1174	tr	0,132	-	-	-	-
α-terpineol	1186	tr	0,133	tr	0,140	0,156	-
n-decanal	1201	0,116	4,748	0,119	0,107	tr	-
citronelol	1223	12,030	0,195	6,994	10,052	15,829	12,445
neral	1235	0,412	6,532	0,331	0,406	0,427	0,139
geraniol	1249	16,606	0,264	9,108	11,848	17,389	17,018
geranial	1264	0,501	-	0,416	0,375	0,288	-
citronelil formato	1271	tr	tr	tr	0,186	0,282	-
bornil acetato	1287	tr	-	-	-	-	-
geranil formato	1298	tr	tr	tr	0,191	0,296	-
ácido citronelico	1312	0,196	-	-	-	-	-
8-hidróxi-neo-mentol	1328	0,232	2,560	-	-	-	-
α-cubebeno	1345	tr	-	-	0,105	tr	-
citronelil acetato	1350	2,028	1,293	2,069	4,435**	5,768	4,183
eugenol	1356	1,215	1,131	0,225	-	0,674	0,954
α-copaeno	1374	tr	-	-	tr	0,111	-
geranil acetato	1379	1,325	1,136	1,867	3,612	5,435	5,253
beta-elemeno	1389	1,850	1,586	2,537	4,574	6,201	4,870
E-cariofileno	1417	0,118	-	tr	0,140	0,203	0,195
β-copaeno	1430	tr	-	-	-	tr	0,320
α-humuleno	1452	0,136	-	tr	0,141	0,220	-

Cont. tabela 5.2.							
	IA teórico	Óleo	F1	F2	F3	F4	F5
trans-cadina-1(16),4-dieno	1475	tr	tr	-	-	0,046	-
γ-muuroleno	1478	0,260	0,179	0,130	0,254	0,436	0,706
germacreno D	1484	2,322	-	-	-	-	-
β-selineno	1489	0,146	-	-	-	0,120	0,296
α-selineno	1498	0,278	0,181	-	-	0,121	0,229
α-muuroleno	1500	0,674	-	0,289	0,555	0,908	1,686
germacreno A	1508	0,826	-	-	-	-	-
γ-cadineno	1513	0,709	0,247	0,327	0,607	0,951	2,118
Δ-cadineno	1522	2,643	0,793	1,142	1,999	3,148	6,788
α-cadinene	1537	0,144	-	-	0,143	0,240	0,647
elemol	1548	3,811	1,170	1,89	3,400	5,619	21,715
germacrene-4-ol	1574	0,800	tr	-	-	-	-
globulol	1590	0,347	tr	-	-	tr	0,564
1-epi-cubenol	1627	0,792**	0,135	0,159	0,245	0,395	0,285
γ-eudesmol	1630	-	-	0,219	0,397	0,671	2,119
epi-α-muurolol	1640	1,157	0,192	-	-	0,109	3,802
α-muurolol	1644	0,709**	-	tr	0,176	0,308	0,642
beta-eudesmol	1649	-	-	0,314	0,593	0,998	1,928
α-cadinol	1652	1,716	-	-	-	-	6,143
TOTAL		98,473	96,686	96,349	96,201	92,531	97,118

*tr refere-se a % de área <0,1%

**Soma das áreas dos picos sobrepostos

IA = Índice aritmético

Analisando a tabela 5.2, observa-se uma significativa alteração de composição química entre as frações destiladas do óleo essencial de citronela, assim como em relação ao óleo essencial. Também é possível observar que a relação entre as temperaturas das faixas de destilação e a massa molar média dos componentes presentes nas frações é diretamente proporcional. Logo, observa-se uma maior concentração de monoterpenos nas frações mais leves, bem como um aumento na concentração de sesquiterpenos e fenilpropanóides nas frações mais pesadas.

Agrupando esses compostos (Tabela 5.3) de acordo com sua massa molar, visualizam-se dois grupos distintos: compostos leves, formado por moléculas com massas molares de até $160\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, basicamente formado por componentes monoterpênicos; compostos pesados, formado por moléculas com massas molares maiores de $160\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, constituído basicamente por fenilpropanóides, monoterpenos ligados a grupamentos pesados e sesquiterpenos.

Tabela 5.3. Percentual dos compostos leves e pesados no óleo essencial de citronela e suas respectivas frações.

Fração	Compostos Leves	Compostos Pesados
FR1	89,03%	10,97%
FR2	88,50%	11,50%
FR3	77,00%	23,00%
FR4	64,00%	36,00%
FR5	32,60%	67,40%
OE	75,19%	24,81%

É válido ressaltar, que os constituintes da classe dos fenilpropanóides possuem peso molecular semelhante aos dos compostos monoterpênicos, mas devido à sua geometria e distribuição molecular possuem ponto de ebulição mais alto, sendo então, classificados como compostos pesados no óleo de citronela.

Os resultados para os testes carrapaticidas estão e especificados na tabela 5.4. Estes resultados são expressos em valores para as concentrações letais de cada fração em $\mu\text{L/mL}$, através de regressão linear.

Como controles foram utilizados água destilada e etanol P.A., que não apresentaram atividade carrapaticida.

Tabela 5.4. Valores das concentrações letais frente a larvas do carrapato *B. microplus* para as amostras de óleo essencial de citronela e suas respectivas frações.

LC ($\mu\text{L/mL}$)	FR1	FR2	FR3	FR4	FR5	Óleo essencial
LC1	2,42	1,75	0,63	ND	ND	0,70
LC50	4,37	4,24	3,49	1,19	1,34	3,30
LC99.9	6,86	6,85	6,41	4,38	4,19	5,95

*ND= Não determinado

Através da comparação de composição entre as frações (tabela 5.2), nota-se semelhança entre as composições das frações FR4 e FR5. Nestas frações, nota-se a presença majoritária dos monoterpênicos citronelol, δ -cadineno e geraniol que não

estavam presentes majoritariamente nas outras frações. Observa-se, também, como constituintes majoritários, a presença do sesquiterpenos hedicariol, β - elemeno nas frações FR4 e FR5 , bem como α - cadinol, que está presente na fração FR5. Ressalta-se também a presença de citronelal na fração FR4, que está presente com aproximadamente 17,0% nessa fração e de forma minoritária na fração FR5.

O percentual de morte larval mais alto foi observado na fração FR4, quando em comparação com a fração FR5, também pode ser explicado pela maior concentração de monoterpenos misturados aos compostos mais pesados.

Martins (2006) testou o óleo de citronela contra larva de *B. microplus*, onde obteve 100% de morte larval a uma concentração de aproximadamente 5,5% de óleo nas soluções de teste. Estes valores ficam próximos aos encontrados no experimento com óleo puro nesta dissertação. Ele ainda demonstra que, quando testados separadamente, geraniol e citronelal exibiram maiores propriedades acaricidas em comparação com citronelol. No entanto, neste trabalho, as frações que apresentam menores quantidades de citronelal foram as mais ativas. A atividade aumentada nas frações mais pesadas pode ser atribuída à presença de compostos leves que possuem atividade carrapaticida, mas também ao aumento da presença de compostos pesados que devido ao maior peso molecular permanecem mais tempo em contato com o parasita, e funcionam como veículo para os princípios ativos, ou seja, essas moléculas interagem quimicamente com as mais leves, aumentando o tempo de exposição das larvas ao princípio ativo. Sob esta ótica, o fracionamento é considerado pertinente para este tipo de amostra.

Chagas et al. (2002) constataram efeito acaricida no óleo essencial de *E. citriodora*, que possui característica química semelhante ao óleo de citronela. Este apresentou 100% de mortalidade larval a concentrações muito elevadas de óleo na solução testada. Segundo os autores, o componente responsável pela ação acaricida é o citronelal, conclusão que vai contra os resultados apresentados nesse trabalho. Os autores ainda reportam que, através do desenvolvimento de concentrados emulsionáveis destes óleos, pode-se obter 100% de mortalidade em concentrações mais baixas.

5.2. Experimentos com óleo essencial de alecrim

O fracionamento do óleo essencial de alecrim foi realizado utilizando-se uma coluna de fracionamento recheada com vidro, de 50 cm de comprimento. Foram previamente determinadas 04 faixas de destilação (FR1, FR2, FR3 e FR4), como se pode observar na tabela 5.5.

Tabela 5.5. : Intervalo de temperatura das frações do óleo essencial de alecrim e seus respectivos rendimentos v/v.

Frações	Intervalo temperatura (°C)	Rendimento (% V/V)
FR1	25-35	12.5
FR2	35-45	12.0
FR3	45-55	15.5
FR4	>55	60.0

Ao analisar a tabela 5.5 se observa que a fração de maior volume, FR4, é a que corresponde à faixa de temperatura mais elevada. Conseqüentemente se obtém um maior rendimento para a fração mais pesada.

Os resultados das análises cromatográficas do óleo essencial de alecrim e das respectivas frações são apresentados na tabela 5.6. Também são apresentados na tabela 5.6 os resultados dos Índices Aritméticos (IA) teóricos para cada composto, calculando-se, então, o índice aritmético (IA) para cada componente das amostras. Os dados completos dos índices aritméticos para o óleo essencial e as frações FR1, FR2, FR3 e FR4 encontram-se no Anexo 2.

Tabela 5.6. Percentual em área e índice aritmético teórico dos compostos presentes no óleo essencial de alecrim e nas suas respectivas frações.

Composto	IA teórico	(%)Área				
		Óleo	F1	F2	F3	F4
triciclono	921	0,208	0,537	0,543	0,418	tr
α -thujeno	924	0,240	0,566	0,587	0,482	0,100
α -pinene	932	26,020	54,052	55,383	48,433	13,754
canfeno	946	4,360	8,488	8,782	8,280	2,612
thuja-2,4(10)-dieno	953	0,714	1,330	1,344	1,245	0,384
sabineno	969	tr	-	-	tr	-
β -pinene	974	2,576	3,901	4,053	4,378	1,994

Cont. tabela 5.6.

	IA teórico	Óleo	F1	F2	F3	F3
mircenol	988	1,306	1,515	1,569	1,768	1,073
α-felandreno	1002	0,297	0,268	0,221	0,217	0,125
α-terpineno	1014	0,571	0,443	0,331	0,324	0,200
O-cimeno	1020	2,223**	1,821	2,098**	3,011**	3,606**
p-cimeno	1022		-			
limoneno	1024	20,956**	18,624**	18,972**	23,068**	22,070**
1,8-cineol	1026					
γ-terpineno	1054	1,163	0,597	0,455	0,531	0,650
cis-sabineno hidrato	1065	tr	-	-	-	tr
terpinoleno	1086	1,265	0,519	0,426	0,548	1,012
α-pineno oxido	1099	tr	-	-	-	0,334
linalol	1095	2,843	0,777	0,651	0,831	3,670
crisantenona	1124	0,583	0,191	0,173	0,228	0,107
trans-pinocarveol	1135	0,122	-	-	-	0,208
canfor	1141	4,019	1,211	0,840	1,446	5,497
trans-pinocanfona	1158	0,174	-	-	-	0,242
borneol	1165	4,488	0,991	0,675	0,855	6,420
p-menta-1,5-dien-8- ol	1166	0,328%	-	-	-	-
cis-pinocanfona	1172	0,769	0,184	0,153	0,210	1,155
terpinen-4-ol	1174	1,411	0,315	0,239	0,315	1,848
p-cymen-8-ol	1179	0,143	-	-	-	0,243
α-terpineol	1186	2,325	0,473	0,339	0,425	3,149
mirtenol	1194	0,588	-	-	-	0,768
verbenona	1204	8,307	1,569	1,188	1,561	9,114
citronelol	1223	0,202	-	-	-	0,278
geraniol	1249	3,172	0,455	0,309	0,349	4,043
geranial	1264	0,288	-	0,319	-	0,382
bornil acetato	1287	2,164	0,451	-	0,401	2,981
piperitona	1340	tr	-	-	-	0,108%
geranil acetato	1379	0,326	-	-	-	0,450
metil eugenol	1403	0,459	-	-	-	0,629
E-cariofileno	1417	3,446	0,537	0,352	0,398	3,971
α-humulene	1452	0,557	-	-	-	0,690
oxido-cariofileno	1582	0,445	-	-	-	1,100
TOTAL		99,060%	99,814%	100,000%	99,721%	94,966%

*tr refere-se a % de área <0,1%

**Soma das áreas dos picos sobrepostos

IA = Índice aritmético

Analisando a tabela 5.6, observa-se uma alteração de composição química entre as frações destiladas do óleo essencial de alecrim, assim como em relação ao óleo essencial. Também é possível observar que a relação entre o peso molecular dos

compostos nas temperaturas das faixas de destilação de FR1, FR2 e FR3 são muito semelhantes entre si, e significativamente diferente quando comparadas com FR4. Logo, observa-se uma maior concentração de terpenos nas frações mais leves, bem como aumento na concentração de monoterpenos com substituintes pesados e sesquiterpenos na fração mais pesada (FR4).

Agrupando esses compostos (Tabela 5.7) de acordo com sua massa molar, visualiza-se dois grupos distintos: compostos leves, formado por moléculas com massas molares de até $160\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, basicamente formada por componentes monoterpênicos; compostos pesados, formado por moléculas com massas molares maiores de $160\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, formados basicamente por monoterpenos ligados a grupamentos pesados e sesquiterpenos.

Através da análise da tabela 5.7 se observa também que o óleo essencial de alecrim é formado em sua grande parte por constituintes leves, que representam em torno de 92,54% da composição total do óleo. Sendo assim, o óleo essencial de alecrim pode ser classificado com um óleo essencial bastante volátil, constituído basicamente de monoterpenos.

Tabela 5.7. Percentual dos compostos leves e pesados no óleo essencial de alecrim e suas respectivas frações.

Fração	Compostos Leves	Compostos Pesados
FR1	99,01%	0,99%
FR2	99,65%	0,352%
FR3	99,19%	0,81%
FR4	89,55%	10,45%
OE	92,54%	7,46%

Os testes para determinação da atividade carrapaticida das frações e do óleo essencial de alecrim não apresentaram resultados positivos nas concentrações testadas. Este fato pode ser explicado pelo estudo da composição do óleo essencial de alecrim, que apresenta percentual majoritário de componentes monoterpênicos (leves), que permanecem menos tempo em contato com a amostra. Concentrações maiores de frações e de óleo essencial de alecrim podem apresentar atividade carrapaticida, mas não foram testadas neste trabalho.

5.3. Experimentos com óleo essencial de Aroeira

O fracionamento do óleo essencial de aroeira foi realizado em uma coluna de fracionamento com 1.5m de comprimento, recheada com limalha de titânio. Foram previamente definidas 03 faixas de destilação (FR1, FR2 e FR3), como se pode observar na tabela 5.8.

Tabela 5.8. Intervalo de temperatura das frações do óleo essencial de aroeira e seus respectivos rendimentos v/v.

Frações	Intervalo temperatura (°C)	Rendimento (% V/V)
FR1	25-35	12
FR2	35-50	18
FR3	>50	70

Ao analisar a tabela 5.9 se observa que a fração de maior volume, FR3, é a que corresponde à faixa de temperatura mais elevada. Conseqüentemente se obtém um maior rendimento para as frações mais pesadas.

Os resultados das análises cromatográficas do óleo essencial de aroeira e das respectivas frações são apresentados na tabela 5.9. A identificação dos compostos é obtida por similaridade de espectro com a biblioteca Adams (Adams, 2007). Também são apresentados na tabela 5.9 os resultados teóricos para cada composto do tempo de retenção deste com o tempo de retenção de uma série de n-alcenos, calculando-se, então, o índice aritmético (AI) para cada componente das amostras. Os dados completos dos índices aritméticos para o óleo essencial e as frações FR1, FR2 e FR3 encontram-se no Anexo 03.

Tabela 5.9. Percentual em área e índice aritmético teórico dos compostos presentes no óleo essencial de aroeira e nas suas respectivas frações.

Composto	AI teórico	(%)Área			
		Óleo	F1	F2	F3
n-octano		tr	2,355	-	tr
Triciclano	921	0,045	0,106	tr	-
α-thujeno	924	1,782	3,861	3,312	0,431
α-pineno	932	8,345	18,479	17,114	3,243
Canfeno	946	0,32	0,577	0,569	0,124

Cont. tabela 5.9.

	AI teórico	Óleo	F1	F2	F3
Sabineno	969	34,301	53,578	57,149	28,501
β -pineno	974	2,979	6,94	7,828	5,225
Mirceno	988	1,985	1,773	1,694	0,964
α -felandreno	1002	0,178	0,126	0,549	0,334
α -terpineno	1014	1,892	1,107	-	-
o-cimeno/ ρ -cimeno	1022/1020	4,517	3,177	5,025	8,964
Limoneno	1024	5,987	4,354	4,610	6,493
E- β -ocimeno	1044	0,143	-	-	tr
γ -terpineno	1054	3,598	1,385	0,956	1,524
cis-sabineno hidratado	1065	tr	-	-	0,134
Terpinoleno	1086	1,049	0,297	0,221	0,615
trans-sabineno hidratado	1098	tr	-	-	0,135
cis- ρ -ment-2-en-1-ol	1118	0,281	-	-	0,364
trans-sabinol	1137	tr	-	-	0,184
terpinen-4-ol	1174	8,214	1,157	0,683	11,091
ρ -cimeno-8-ol	1179	0,274	-	-	0,702
α -terpineol	1186	0,428	-	-	0,570
trans-piperitol	1207	0,175	-	-	0,248
trans-ascaridol glicol	1266	tr	-	-	0,362
ρ -cimeno-7-ol	1289	tr	-	-	0,334
Carvacrol	1298	0,333	-	-	0,384
α -copaeno	1374	0,295	-	-	0,394
β -elemeno	1389	0,198	-	-	0,585
α -gurjuneno	1409	0,182	-	-	0,186
E-cariofileno	1417	2,276	0,171	0,121	2,589
Aromandrene	1439	tr	-	-	tr
α -humulene	1452	0,328	-	-	0,324
9-epi-E-cariofileno	1464	1,812	0,111	-	2,427
γ -muuroloeno	1478	0,14	-	-	tr
germacreno D	1484	1,348	-	-	0,623
Valenceno	1496	0,161	-	-	-
biciclogermacreno	1500	1,215	-	-	0,426
α -muuroloeno	1500	0,513	-	-	0,686
γ -cadineno	1513	2,227	0,107	-	2,843
Δ -cadineno	1522	1,764	-	-	2,169
α -cadineno	1537	0,153	-	-	-
Nerolidol	1561	0,133	-	-	0,111
Espatuleno	1577	2,222	-	-	1,787
Gleenol	1586	0,344	-	-	-
Ledol	1602	0,114	-	-	-
1,10-di-epi-cubenol	1618	0,595	-	-	0,580
1-epi-cubenol	1627	tr	-	-	-
epi- α -cadinol	1638	4,276	-	-	6,631
TOTAL		97,132%	99,662%	99,831%	93,286%

*tr refere-se a % de área <0,1%

AI = Índice aritmético

Analisando a tabela 5.9, observa-se uma alteração de composição química entre as frações destiladas do óleo essencial de aroeira, assim como em relação ao óleo

essencial. Também é possível observar que a relação entre o peso molecular dos compostos nas temperaturas das faixas de destilação de FR1 e FR2 são muito semelhantes, o que não se reproduz na fração FR3. Logo, observa-se uma maior concentração de monoterpenos nas frações mais leves, bem como aumento na concentração de sesquiterpenos na fração mais pesada (FR3).

Agrupando esses compostos (Tabela 5.11) de acordo com sua massa molar, visualiza-se dois grupos distintos: compostos leves, formado por moléculas com massas molares de até $160\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, basicamente formada por componentes monoterpênicos; compostos pesados, formado por moléculas com massas molares maiores de $160\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$, formados basicamente por sesquiterpenos.

Através da análise da tabela 5.10 se observa também que o óleo essencial de aroeira apresenta maior percentual de componentes pesados (79%) quando comparado ao óleo essencial de alecrim. Conclui-se, portanto, que se tratando de peso dos compostos, o óleo essencial de aroeira aproxima-se mais da composição encontrada no óleo essencial de citronela, caracterizando-os como óleos essenciais mais pesados quando comparados ao óleo essencial de alecrim.

Tabela 5.10. Percentual dos compostos leves e pesados no óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações.

Fração	Compostos Leves	Compostos Pesados
FR1	99,61%	0,39%
FR2	99,87%	0,13%
FR3	76,04%	23,96%
OE	79,10%	20,90%

Os resultados para os testes carrapaticidas realizados com o óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações estão especificados na tabela 5.11.

Estes resultados são expressos em valores para as concentrações letais de cada fração em $\mu\text{L}/\text{mL}$, através de regressão linear.

Como controle se utilizou água destilada e etanol P.A., que não apresentaram atividade carrapaticida.

Tabela 5.11. Valores das concentrações letais frente a larvas do carrapato *B. microplus* para as amostras de óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações.

LC ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	FR1	FR2	FR3	Óleo essencial
LC ₁	ND	ND	5,13	ND
LC ₅₀	ND	ND	8,8	ND
LC _{99..9}	ND	ND	12,5	ND

*ND= Não determinado

Observando a tabela 5.11 que as amostras representantes da FR1 e FR2 não apresentaram efeito carrapaticida, bem como as amostras de óleo essencial de aroeira. Observa-se que nestas frações a presença de compostos pesados é quase insignificante (Tabela 5.10). Embora se tenha a ação esperada na fração FR3, nota-se que esta se desenvolve em concentrações altas quando comparada a ação das frações do óleo essencial de citronela nesta dissertação.

Não foram encontradas referências sobre presença de atividade carrapaticida no óleo essencial de aroeira. A ação encontrada pode ser justificada pela fraca ação carrapaticida de moléculas presentes no óleo, que a partir do aumento do tempo de contato dessas moléculas com as larvas através da presença de compostos mais pesados, tornam-se mais efetivas.

6. CONCLUSÕES

Através deste trabalho, concluiu-se que a técnica de destilação fracionada a vácuo, quando utilizada para óleos essenciais, pode ter grande importância no processamento deste tipo de produto, pois altera significativamente a composição química dos óleos essenciais, bem como a qualidade da sua ação biológica contra carrapatos.

Pode-se dizer também que, aumentando a concentração de compostos pesados no óleo essencial se mantém a amostra do óleo por mais tempo em contato com as larvas de carrapatos, e assim observa-se um aumento do percentual de morte carrapaticida do óleo essencial para as frações FR4 e FR5 da citronela.

Mesmo não havendo relatos na literatura sobre atividade carrapaticida para o óleo obtido de aroeira, este fato ocorre também no óleo essencial obtido desta planta, porém, devido às características químicas dos componentes do óleo, não apresentaram o mesmo poder acaricida do óleo de citronela. Conclui-se então que o fracionamento de óleos essenciais além de modificar a composição química dos óleos, apresenta aumento satisfatório da atividade biológica testada.

No caso do óleo essencial de citronela e aroeira, concluiu-se que as frações que possuem atividade carrapaticida aumentada são as frações de maior rendimento através do processo de fracionamento. Este fato justifica a realização do fracionamento para este tipo de aplicação, visando futuras aplicações industriais.

As frações mais leves obtidas através de destilação fracionada a vácuo, que através dos testes realizados nesta dissertação não apresentaram atividade carrapaticida, são ricas em monoterpenos, que são moléculas de grande importância na indústria química e farmacêutica. Este fato corrobora com a utilização da destilação fracionada a vácuo para o processamento de óleos essenciais.

O óleo essencial de citronela apresenta atividade carrapaticida satisfatória em concentrações baixas de princípios ativos, principalmente nas frações FR4 e FR5. Além de justificar o uso do fracionamento, concentrações baixas de princípios ativos diminuem riscos como intoxicação de mamíferos e problemas ambientais relacionados ao uso destes produtos.

7. PROPOSTAS PARA TRABALHOS FUTUROS

- Realizar os testes acaricidas do óleo essencial de citronela e aroeira frente a fêmeas ingurgitadas de carrapato, avaliando a inibição da postura dos ovos.
- Realizar testes utilizando padrões das moléculas presentes nos óleos essenciais de citronela e aroeira, com a finalidade de comparar a atividade entre as duas amostras.
- Projetar uma unidade de destilação fracionada em escala piloto, com a finalidade de definir parâmetros a serem utilizados em uma futura unidade industrial de processamento de óleos essenciais.
- Realizar o fracionamento de óleos essenciais com uma variedade maior de óleos.
- Realizar o fracionamento para outras utilizações, como por exemplo, contra bactérias e fungos patogênicos.
- Realizar testes toxicológicos dos óleos essenciais empregados no fracionamento e de suas respectivas frações, visando à utilização destas amostras *in vivo*.

8. REFERÊNCIAS

ACOSTA, L. L. D. **Proporciónese salud cultive plantas medicinales**. Habana: Editorial Científico -Técnico, 1993. 43-46 p.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry**. Illinois: Allured publishing, 2007. 804 p.

ANDREOTTI, R.; et alli. **BmTI antigens induce a bovine protective immune response against *Boophilus microplus* tick**. International Immunopharmacology v.2. 2002. 557-563p.

ARAÚJO FILHO, R. **Introdução à pecuária ecológica: a arte e a ciência de criar animais sem drogas ou venenos**. Porto Alegre: São José, 2000. 136p.

AVANCINI, C. A. M. **Sanidade Animal na Agroecologia – Atitudes Ecológicas de Sanidade Animal e Plantas Medicinais em Medicina Veterinária**. 1ºed. Porto Alegre: Fundação Gaia, 1994. 46p.

BACKES, P.; Nardino, M. **Árvores, arbustos e algumas lianas nativas no Rio Grande do Sul**. São Leopoldo: Editora Unisinos, 2002. 202p.

BANDONI, A. **Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica**. Argentina: Editorial de La Universidad Nacional de La Plata. 2000. 417p.

BECKSTROM-STERBERG, S. M.; Duke, J. A. Potential for synergistic action of phytochemicals in spices. **Dev. Food Sci.**, v.34, 1994. 201-223p.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. **Resolução - RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> . Acesso em 20/02/2009.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de Farmacognosia.** 1º ed. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. 274p.

CASTREJÓN, F. M.; et alli. Repellence of *Boophilus microplus* larvae in *Stylosanthes humilis* and *Stylosanthes hamata* plants. **Parasitologia Latinoamericana.** v.58, n.2, 2003. 118-121p.

CASTRO, L. O. **Manual de identificação e cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas.** Porto Alegre: SEC- Governo do Estado do RS, 1993. 79p.

CHAGAS, A. C. S. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 5, 2002. 247-253p.

CHARLES, T. P.; FURLONG, J. **Doenças parasitárias dos bovinos de leite.** Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1992. 134p.

CLARK, L. G. ; et alli. Association of pesticide toxicosis with some health factors during the tick eradication program in Puerto Rico. In: International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics, 1982, Arlington. **Proceedings...** Edwardsville: Veterinary Medicine Publishing Co., 1982. p. 620-3.

CORAZZA, S. **Aromacologia: uma ciência de muitos cheiros.** São Paulo: SENAC, 2002. 408p.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação.** Alegrete: Editora Galha, 1996. 130p.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação.** Guaíba: Agropecuária, 1997. 176p.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5ª Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. 104-110p.

DE CASTRO, J. J. N. Host resistance in cattle tick control. **Parasitol.** v. 9,1993. 13-17p.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2º ed. São Paulo: Ed. Da UNESP, 2002. 160p.

DUCORNEZ, S. ; Barre', N.; Miller, R.J.; de Garine-Wichatisky, M. **Diagnosis of amitraz resistance in Boophilus microplus in New Caledonia with modified Larval Packet Test.** Vet. Parasitol., 2005. 285–292p.

EVANS, W. C. **Farmacognosia**. México: Interamericana/ Mcgraw-Hill, 1991. 254p.

FARIAS, N. A. R. **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina**. Guaíba: Agropecuária, 1995. 80p.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 2º ed. Porto Alegre: Sulina. 1993. 606p.

FRISCH, J. E. Towards a permanent solution for controlling cattle ticks. **J. Parasitol.** v. 29, 1999. 57-71p.

FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região sudeste do Brasil. **Cad. Téc. Esc. Vet. Univ. Fed. Minas Gerais**, v. 8, 1993. 49-61p.

FURLONG, J.; Massard C. A. Controle do carrapato dos bovinos. In: FURLONG, J. **Manejo sanitário, prevenção e controle de parasitoses e mamite em rebanhos de leite**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1994. 37-48p..

GONÇALVES, D. **Química Orgânica Experimental**. São Paulo: McGraw – Hill, 1988. 302p.

GONZALES, J. C. **O carrapato do boi: vida, resistência e controle**. São Paulo: Mestre, 1974. 101p.

GOTTLIEB, O. R.; Salatino, A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Cienc. Cult.**, v. 39, n. 8, 1987. 707-715p.

GUILLEN, M. D.; Cabo, N.; Burillo, J. Characterization of the Essentials oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 70, 1996. 359-363p.

HARRIS, D. C. **Análise química quantitativa**. 5^o ed. São Paulo: LTC, 2001. 600-603p.

KERROLA, K.; Galambosi, B.; Kallio, H. Volatile Components and Odor Intensity of Four Phenotypes of Hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**. v.42, 1994. 776-781p.

KESSLER, R. H.; Schenck, M. A. M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1998. 157p.

LEÓN, J. **Nombres comunes de las plantas em Costa Rica**. San José: Guayacán, 2000. 182p.

LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512p.

MARONGIU, B.; et alli. Chemical composition of the oil and supercritical CO₂ extract of *Schinus molle* L.. **Flavour and Fragrance Journal**, v.19, 2004. 554-558p.

MARQUES, S. C. **Enciclopédia Técnica Universal**. v. 2. Porto Alegre: Globo, 1958. 135p.

MARTINEZ, S. S. O emprego do Neem. In: MARTINEZ, S. S. **O Neem (*Azadirachta indica*): natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: IAPAR, 2002. 69-80 p.

MARTINS, R. M. Estudio *in vitro* de la acción acaricida del aceite esencial de la gramínea Citronela de Java (*Cymbogon winterianus* Jowitt) em la garrapata *Boophilus microplus*. **Rev. Bras. Pl. Med.** V. 8, n. 2, 2006. 71-78p.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2^o ed. Oxford: Clarendon, 1987. 374p.

NISBET, L. J.; Moore, M. Will natural products remain an important source of drug research for the future? In: Simões C. M.O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 11-24p.

NODARI, R. O.; Guerra, M. P. Biodiversidade, aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões C.M.O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 11-24p.

PRATES, H. T. **Atividade carrapaticida e composição química do óleo essencial do capim-gordura**. Brasília: Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.28, nº 5, 1993. 621-625 p.

PEGRAM, R. G.; et alli. Studies on the economic impact of ticks in Zambia. **Experimental and Applied Acarology**, v. 12, 1991. 9-26p.

RIBEIRO, V.L.S.; Toigo, E.; Bordignon S.A.L.; Gonçalves, K.; Von Poser, G.L. **Acaricidal properties of extracts from the aerial parts of Hypericum polyanthemum on the cattle tick Boophilus microplus**. Vet. Parasitol. 2007. v147.199–203p.

RIBEIRO, V. L. S.; et alli. Chemical composition and larvicidal properties of the essential oils from *Drimys brasiliensis* Miers (Winteraceae) on the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* and the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasitol Res.** v. 102, 2008. 531–53p.

ROBBERS, J. E. **Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology**. Baltimore: Premier, 1997. 356p (*mudar et al na dissertação*)

RODRIGUEZ, M.; et alli. Effect of vaccination with a recombinant Bm86 antigen preparation on natural infestation of *Boophilus microplus* in grazing dairy and beef pure and cross-bred cattle in Brazil. **Vaccine**, v. 13, 1995. 1804-1808p.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 323-354p.

SARTOR, R. B. **Modelagem, simulação e otimização de uma unidade industrial de extração de óleos essenciais por arraste a vapor**. Porto Alegre, 2009. 73p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Faculdade de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

SEADER, J. D., Henley, E. J. **Separation process principles**. New York: Wiley, 1998. 920p.

SEQUEIRA, T.; Amarante, A. **Parasitologia animal**. CD-ROM. São Paulo: Epub, 2002.

SERAFINI, L. A. **Biotecnologia: avanços na agricultura e na agroindústria**. Caxias do Sul: EDUCS, 2002. 433p.

SILVA, A. F.; et alli. Composição química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v. 6, 2003. 1-7p.

SIMÕES, C. M. O. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**. 5^o ed. Porto Alegre: UFRGS, 1998. 173p.

SIMÕES, C. M. O.; Spitzer, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 1999. 387-415p.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2000. 50-110p.

SIMÕES, C. M. O., **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6^oed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2007. 115-136p.

SIQUI, A. C.; et alli. Óleos essenciais: Potencial antiinflamatório. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 16, 2000. 38-43p.

SOULÉ, M. E. Conservation: Tactics for a constant crisis. In: Simões C. M. O. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, 2000.

TANU, P. A.; Adholeya, A. Effect of different organic manures/composts on the herbage and essential oil of *Cymbopogon winterianus* and their influence on the native AM population in a marginal alfisol. **Bioresource Technology**, v. 92, 2004 311-319p.

TAWATSIN, A.; Wratten, S.D.; Scott, R.R.; Thavara, U.; Techadamrongsin, Y. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. **Journal of the society for vector ecology**, v. 26, 2001. 76-82p.

VERÍSSIMO, C. J. **Controle do carrapato dos bovinos**. Jaboticabal: Fundação de Estudos e Pesquisas em Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia (FUNEP), 1993a. 27p.

WANKAT, P. C. **Separation process engineering**. 2 ed. Upper River: Prentice Hall. 2007 738p.

WHARTHORN, R. H.; Utech, K. B. W. The relation between engorgement and dropping of *B. microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. **Journal Australian Entomology Society**, v. 9, 1970. 171-182p.

ANEXOS

Anexo 1. Índice aritmético experimental dos compostos presentes no óleo essencial de citronela e suas respectivas frações.

Composto	IA experimental					
	Óleo	F1	F2	F3	F4	F5
triciclono	922	922	-	-	-	-
α -thujeno	924	-	-	-	-	-
α -pineno	928	928	-	-	-	-
canfeno	942	944	-	-	-	-
sabineno	969	969	-	-	-	-
β -pinene	972	972	-	-	-	-
mirceno	986	985	990	990	990	-
α -felandreno	990	990	-	-	-	-
α -terpineno	1015	-	-	-	-	-
O-cymeno	1023	-	-	-	-	-
limoneno	1028	1032	1028	1027	1026	-
1,8-cineol	1029	-	1029	1029	-	-
Z- β -ocymene	1038	-	-	1038	1038	-
E- β -ocymene	1048	-	-	1048	1048	-
bergamal	1054	1054	-	-	-	-
γ -terpinene	1057	1057	-	-	-	-
p-menta-3,8-dieno	1068	-	-	1068	1068	-
terpinoleno	1086	1086	1086	-	1086	-
linalol	1100	1100	1100	1100	1100	-
cis-rose oxido	1110	1110	1110	1110	1110	-
trans-rose oxido	1127	-	-	1127	-	-
isopulegol	1146	1145	1146	1147	1145	1143
citronelal	1163	1164	1162	1162	1158	1153
iso-isopulegol	1168	1168	1170	-	1168	-
iso-mentona	1170	1170,627	1167	1167	1164	-
terpinen-4-ol	1177	1176	-	-	-	-
α -terpineol	1190	1205	1189	1189	1188	-
n-decanal	1206	1231,989	1205	1205	1205	-
citronelol	1236	1241,326	1231	1233	1236	1231
neral	1243	1259,284	1241	1241	1242	1240
geraniol	1265	1271	1259	1261	1264	1258
geranial	1273	-	1271	1271	1272	-
citronelil formato	1277	1276	1275	1276	1276	-
bornil acetato	1285	-	-	-	-	-
geranil formato	1303	1301	1301	1301	1302	-
ácido citronelico	1327	-	-	-	-	-
8-hidróxi-neo-mentol	1336	1336	-	-	-	-
α -cubebeno	1349	-	-	1347	1347	-

Cont. anexo 1.						
	Óleo	F1	F2	F3	F4	F5
citronelil acetato	1356	1354	1353	1354	1356	1353
ceugenol	1359	1358	1355		1358	1355
α -copaeno	1374	-	-	1372	1372	-
geranil acetato	1386	1384	1383	1384	1386	1383
beta-elemeno	1392	1389,706	1389	1390	1391	1389
E-cariofileno	1417	-	1414	1415	1415	1414
β -copaeno	1428	-	-	-	1425	1448
α -humuleno	1452	-	1448	1449	1449	-
trans-cadina-1(16),4- dieno	1473	1472,674	-	-	1469	-
γ -muuroleno	1477	1476,583	1471	1472	1472	1472
germacreno D	1481	-	-	-	-	-
β -selineno	1491	-	-	-	1481	1480
α -selineno	1495	1495,967	-	-	1490	1489
α -muuroleno	1501	-	1495	1495	1496	1495
germacreno A	1505	-	-	-	-	-
γ -cadineno	1514	1509,125	1508	1508	1509	1509
Δ -cadineno	1525	1519,047	1517	1519	1519	1519
α -cadinene	1537	-	-	1531	1532	1531
elemol	1553	1544,783	1543	1545	1546	1547
germacrene-4-ol	1576	1569,005	-	-	-	-
globulol	1618	1622,433	-	-	1618	1609
1-epi-cubenol	1631	1631,993	1620	1621	1621	1618
γ -eudesmol		-	1629	1631	1631	1622
epi- α -muurolol	1642	1643,904	-	-	1635	1631
α -muurolol	1649	-	1637	1638	1638	1636
beta-eudesmol		-	1641	1643	1643	1639
α -cadinol	1656	-	-	-	-	1644

IA = Índice aritmético

Anexo 2. Índice aritmético experimental dos compostos presentes no óleo essencial de alecrim e suas respectivas frações.

Composto	IA experimental				
	Óleo	F1	F2	F3	F4
triciclono	918	918	918	918	918
α -thujeno	922	923	923	923	922
α -pinene	933	934	934	934	931
canfeno	944	945	945	945	943
thuja-2,4(10)-dieno	949	950	949	950	949
sabineno	969	-	-	970	-
β -pinene	973	973	973	973	973
mirceno	990	990	990	991	990
α -felandreno	1003	1003	1003	1003	1003
α -terpineno	1015	1015	1015	1015	1015
O-cimeno	1024	1024	1023	1024	1025
p-cimeno	1024	-	-	-	-
limoneno	1033	1031	1031	1032	1033
1,8-cineol	1033	1031	1031	1032	1033
γ -terpineno	1058	1057	1057	1057	1058
cis-sabineno hidrato	1066	-	-	-	1066
terpinoleno	1086	1086	1086	1086	1086
α -pineno oxido	1095	-	-	-	1095
linalol	1101	1099	1099	1100	1102
crisantenona	1123	1123	1123	1123	1120
trans-pinocarveol	1136	-	-	-	1136
canfor	1142	1141	1141	1141	1142
trans-pinocanfona	1157	-	-	-	1157
borneol	1165	1163	1163	1163	1165
p-menta-1,5-dien-8-ol	1166	-	-	-	-
cis-pinocanfona	1171	1171	1171	1171	1172
terpinen-4-ol	1176	1174	1175	1175	1176
p-cymen-8-ol	1186	-	-	-	1187
α -terpineol	1190	1188	1188	1188	1191
mirtenol	1196	-	-	-	1197
verbenona	1210	1208	1206	1206	1211
citronelol	1229	-	-	-	1229
geraniol	1257	1255	1255	1254	1258
geranial	1271	-	1284	-	1271
bornil acetato	1285	1284	-	1284	1285
piperitona	1339	-	-	-	1338
geranil acetato	1384	-	-	-	1383
metil eugenol	1404	-	-	-	1403
E-cariofileno	1417	1415	1415	1415	1416
α -humulene	1450	-	-	-	1449
oxido-cariofileno	1577	-	-	-	1576

IA = Índice aritmético

Anexo 3. Índice aritmético experimental dos compostos presentes no óleo essencial de aroeira e suas respectivas frações.

Composto	IA experimental			
	óleo	F1	F2	F3
n-octano			-	
trícicleno	919	919	919	-
α -thujeno	924	924	924	923
α -pineno	933	932	932	930
canfeno	944	944	944	943
sabineno	984	979	979	976
β -pineno	985	981	981	978
mirreno	996	993	993	992
α -felandreno	1005	1005	1017	1016
α -terpineno	1018	1017	-	-
O-cimeno/p-cimeno	1027	1025	1025	1026
limoneno	1033	1030	1030	1030
E- β -ocimeno	1050	-	-	1049
γ -terpineno	1061	1059	1059	1059
cis-sabineno hidrato	1067	-	-	1066
terpinoleno	1088	1088	1087	1087
trans-sabineno hidrato	1097	-	-	1096
cis- ρ -ment-2-en-1-ol	1121	-	-	1120
trans-sabinol	1137	-	-	1136
terpinen-4-ol	1182	1176	1176	1180
ρ -cimen-8-ol	1187	-	-	1185
α -terpineol	1191	-	-	1190
trans-piperitol	1208	-	-	1206
trans-ascaridol glicol	1252	-	-	1252
ρ -cimen-7-ol	1292	-	-	1290
carvacrol	1304	-	-	1301
α -copaeno	1374	-	-	1375
β -elemeno	1391	-	-	1391
α -gurjuneno	1408	-	-	1408
E-cariofileno	1419	1419	1418	1418
aromandrene	1437	-	-	1444
α -humulene	1452	-	-	1452
9-epi-E-cariofileno	1459	1461	-	1460
γ -muuroleno	1474	-	-	1477
germacreno D	1480	-	-	1480
valenceno	1487	-	-	-
biciclogermacreno	1496	-	-	1495
α -muuroleno	1500	-	-	1501
γ -cadineno	1515	1516	-	1515
Δ -cadineno	1524	-	-	1524
α -cadineno	1537	-	-	-
nerolidol	1566	-	-	1565
espatulenol	1580	-	-	1578
gleenol	1593	-	-	-
ledol	1602	-	-	-
1,10-di-epi-cubenol	1614	-	-	1614
1-epi-cubenol	1627	-	-	-
epi- α -cadinol	1644	-	-	1642

IA = Índice aritmético

