

ELIZABETE APARECIDA RUZZA JAKIEMIU

**UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL E DO EXTRATO
DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)**

**CURITIBA
2008**

ELIZABETE APARECIDA RUZZA JAKIEMIU

**UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL E DO EXTRATO
DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação de Tecnologia de Alimentos do Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Dr^a Agnes de Paula Scheer
Co-orientador: Dr. Juarez Souza de Oliveira

**CURITIBA
2008**

Jakiemiu, Elizabete Aparecida Ruzza
Uma contribuição ao estudo do óleo essencial e do extrato de
tomilho (*Thymus vulgaris* L.) / Elizabete Aparecida Ruzza Jakiemiu. –
Curitiba, 2008.
89 f. : il., tabs, grafs..

Orientadora: Profa. Dra. Agnes de Paula Scheer
Co-orientadores: Dr. Juarez Souza de Oliveira
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de
Tecnologia, Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos.
Inclui Bibliografia.

1. Essências e óleos essenciais. 2. Tomilho. 3. Hidrodestilação.
1. Extração com solvente. I. Scheer, Agnes de Paula. II. Título.
III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 633.85

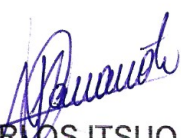
ELIZABETE APARECIDA RUZZA JAKIEMIU

UMA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO ÓLEO ESSENCIAL E DO
EXTRATO DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:


Orientadora: Prof.^a Dr.^a AGNES DE PAULA SCHEER
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof. Dr. CÍCERO DESCHAMPS
Setor de Ciências Agrárias, UFPR


Prof. Dr. CARLOS ITSUO YAMAMOTO
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 14 de abril de 2008

Dedico este Trabalho:

Ao meu amado companheiro Airton Jr. que sempre esteve presente com muita paciência, compreensão e muito amor, sempre me incentivando e colaborando para a realização deste trabalho.

Ao meu irmão José Carlos que nunca deixou de acreditar em mim e me apoiar nas decisões mais difíceis.

Aos meus pais Jair e Ivanir Jakiemiu que na sua simplicidade nunca deixaram que as dificuldades se sobrepujassem ao amor e ao carinho dedicado aos filhos.

Aos meus sogros Airton e Clarice Vendruscolo que me acolheram como filha dando todo o apoio possível para que eu conseguisse realizar esse trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo Seu infinito amor que me fascina cada vez mais.

Aos meus irmãos João, José Carlos, Maria Isabel, Genoefa e Gilberto pelo carinho e incentivo e por estarem sempre ao meu lado.

A minhas sobrinhas Gabrieli Luiza, Giovanna, Ana Laura, Victória e aos meus afilhados Paulo Alexandre, Vitória e José Pedro que sempre souberam me distrair nos momentos em que eu precisava dar um tempo aos livros. Que vocês possam fazer o futuro melhor!

A amiga e colega Solange Carpes pelo apoio irrestrito para que eu aceitasse o desafio de fazer uma pós-graduação.

À minha orientadora, Dr^a Agnes de Paula Scheer, pela sua disposição e paciência demonstradas durante sua orientação. Além de seus ensinamentos, por não medir esforços para me ajudar durante toda a pesquisa.

Ao co-orientador, Dr. Juarez de Souza Oliveira, pelo apoio e por estar sempre à disposição partilhando seus conhecimentos e suas idéias brilhantes.

A pesquisadora Lílian Cristina Côcco, pela grande amizade, incentivo e acima de tudo pelo conhecimento que me passou. Não tenho palavras para agradecer tudo que me ensinou.

Ao professor Dr. Cícero Deschamps, pela disponibilidade não apenas do Laboratório de Ecofisiologia, mas também pela disponibilidade em esclarecer dúvidas e apoiar esta pesquisa.

Ao Laboratório de Combustíveis Automotivos – LACAUT- ets, na pessoa do professor Dr. Carlos Itsuo Yamamoto, pela disponibilidade de equipamentos e de serviços.

A CHAMEL Indústria e Comércio de Produtos Naturais Ltda, na pessoa do senhor Estefano Dranka, pela gentileza em doar as plantas frescas e ao colega e funcionário desta empresa Kleber Berté pela sua presteza e disponibilidade.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, em especial à professora Sônia Haracemiv, que além de conhecimento soube transmitir muitos exemplos para a vida.

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

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

Ao colega Vitor Renan da Silva pela colaboração no desenho das fórmulas químicas.

Aos estagiários do Laboratório de Ecofisiologia, em especial ao Rodrigo Monteiro, que sempre esteve disposto a ajudar nas extrações.

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

Chegamos exatamente onde precisamos chegar, porque a Mão de Deus sempre guia aquele que segue seu caminho com fé.

Autor Desconhecido

RESUMO

O trabalho teve como objetivo identificar e quantificar os constituintes do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L) extraídos por hidrodestilação. Um estudo complementar foi desenvolvido também para um extrato obtido por extração com solvente. Foram utilizadas quatro tipos de amostras entre plantas secas e frescas e comparadas entre si conforme sua composição. No método de hidrodestilação utilizou-se três tempos de extração que foram de 1, 2 e 3 horas, no qual se obteve o melhor rendimento 1,86% para plantas frescas com haste no tempo de 3 horas. Para a identificação dos compostos utilizou-se cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas CG/EM e para a quantificação utilizou-se a cromatografia a gás com detector de chama CG/FID. Para o óleo essencial obtido por hidrodestilação foram identificados e quantificados trinta e três compostos que variaram a concentração de acordo com o tipo de amostra utilizada sendo que os majoritários foram o borneol, o carvacrol, o timol e o α -terpineol. Para o extrato obtido por extração com solvente foram identificados e quantificados trinta e oito compostos sendo que dezessete deles foram apenas traços, os principais compostos obtidos foram o β -pineno, o mirceno, o timol e o carvacrol que também variaram suas concentrações conforme o tipo de amostra. Quando comparados os dois métodos, o de hidrodestilação se mostrou mais efetivo na extração de timol enquanto que o método de extração com solvente se mostrou mais efetivo na extração de β -pineno.

Palavras-chave: Óleo essencial. Tomilho. Hidrodestilação. Extração com solvente.

ABSTRACT

This work aimed the identification and quantification of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* L.) contents, extracted by hydrodistillation. A complementary study was also developed for an extract obtained from an extraction with solvent. Four types of samples of dried and fresh plants were compared among them according to their composition. In the hydrodistillation method, it had been used three extraction times of 1, 2 and 3 hours, in which the best oil yield of 1.86% for fresh plants with aerial parts in 3 hours time. The components identification was performed by gas chromatography /mass spectrometry (GC/MS) and for the quantification, the equipment used was a gas chromatography with flame ionization detector (GC/FID). For the essential oil obtained by hydrodistillation, thirty three components had been identified and quantified, and the concentration varied in accordance to the plant type. The majority components founding this study were: borneol, carvacrol, thymol and α -terpineol. For the extract obtained by extraction with solvent, thirty eight components were identified and quantified, in which seventeen components had low concentration (traces). The mainly components were β -pinene, myrcene, thymol and carvacrol that also had their composition varying in accordance to the plant type. When compared both methods, the hydrodistillation showed effective extraction of thymol whereas the extraction with solvent method showed effective extraction of β -pinene.

Key-words: Essential oil. Thyme. Hydrodistillation. Extraction with solvent.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 -	PRINCIPAIS VIAS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO.....	24
FIGURA 02 -	BIOSSÍNTESE DE TERPENOS.....	27
FIGURA 03 -	BIOSSÍNTESE DE FENILPROPANOÍDES.....	30
FIGURA 04 -	TOMILHO (<i>Thymus vulgaris</i> L.).....	37
FIGURA 05 -	FÓRMULA ESTRUTURAL DE ALGUMAS SUBSTÂNCIAS PRESENTES NO ÓLEO ESSENCIAL DO TOMILHO (<i>Thymus vulgaris</i> L.).....	39
FIGURA 06 -	SISTEMA DE HIDRODESTILAÇÃO.....	48
FIGURA 07 -	EXTRATOR A GÁS.....	49
FIGURA 08 -	EQUIPAMENTO PORTÁTIL EXTRATOR PARA OPERAÇÕES COM GASES LIQÜEFEITOS.....	50
FIGURA 09 -	CROMATÓGRAFO A GÁS VARIAN, MODELO CP 3800 COM DETECTOR FID.....	52
FIGURA 10 -	CROMATÓGRAFO A GÁS ACOPLADO A UM DETECTOR DE MASSAS.....	53

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 -	PERCENTUAL DE UMIDADE MÉDIA POR TIPO DE AMOSTRA.....	54
TABELA 02 -	RENDIMENTO MÉDIO POR TIPO DE AMOSTRA EM PORCENTAGEM VOLUME/MASSA.....	55
TABELA 03 -	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO EXTRAÍDOS POR HIDRODESTILAÇÃO PLANTA SECA.....	57
TABELA 04 -	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO EXTRAÍDOS HIDRODESTILAÇÃO DA PLANTA FRESCA.....	59
TABELA 05 -	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO EXTRATO DE TOMILHO (<i>Thymus vulgaris</i> L.) OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM SOLVENTE.....	63
TABELA 06 -	COMPOSTOS DO EXTRATO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO EXTRAÍDOS DA PLANTA SECA.....	65
TABELA 07 -	COMPOSTOS DO EXTRATO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO DA PLANTA FRESCA.....	67

LISTA DE QUADROS

QUADRO 01-	RESUMO DE ARTIGOS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	43
QUADRO 02-	RESUMO DAS CONCENTRAÇÕES DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO TOMILHO COMPARADAS COM A LITERATURA.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

b.u. -	Base úmida
CG / FID -	Cromatografia a gás com detector de ionização de chama

CG/EM –	Cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas
DMAPP -	Dimetilalil difosfato
FPP -	Farnesil difosfato
GGPP -	Geranilgeranil difosfato
GPP -	Geranil difosfato
IPP -	Isopentenil difosfato
ISO -	International Standard Organization
MEP -	Metileritritol fosfato
m/z -	Massa / carga
Pir/CG/MS -	Pirólise / cromatografia a gás / espectrometria de massa
UV -	Raios ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 OBJETIVOS.....	18
1.1.1 OBJETIVO GERAL.....	18
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18

2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS - BREVE HISTÓRICO.....	19
2.2 OS ÓLEOS ESSENCIAIS - DEFINIÇÕES.....	20
2.2.1 Metabolismo Secundário.....	23
2.2.2 Os terpenóides.....	24
2.2.3 Biossíntese de Terpenos.....	26
2.2.4 Os Fenilpropanóides.....	28
2.2.5 Secagem de Plantas Aromáticas.....	30
2.2.6 Métodos de Extração e Análise do Óleo Essencial.....	33
2.2.7 Toxicidade.....	36
2.2.8 Tomilho.....	37
2.2.9 Utilização dos Principais Compostos na Indústria	44
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
3.1 MATERIAL BOTÂNICO.....	47
3.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	47
3.2.1 Extração por hidrodestilação.....	47
3.2.2 Extração com solvente orgânico.....	48
3.3 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	51
3.4 CROMATOGRAFIA A GÁS.....	51
3.5 ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	52
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	54
4.1 UMIDADE.....	54
4.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÓLEO ESSENCIAL.....	54
4.3 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS.....	56
4.3.1 Extração por Hidrodestilação	56
4.3.1.1 Planta seca.....	56

4.3.1.2 Planta Fresca.....	58
4.3.1.3 Comparação entre planta seca e planta fresca.....	61
4.3.2 Extração com Solvente.....	62
4.4 OBSERVAÇÕES SOBRE OS CONSTITUINTES OBTIDOS ATRAVÉS DOS DOIS DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	64
5 CONCLUSÕES.....	69
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	71
REFERÊNCIAS.....	72
APÊNDICES.....	79

1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são utilizados em diversos setores industriais como, por exemplo, na fabricação de fármacos, perfumes, cosméticos, produtos de higiene e limpeza, alimentos e bebidas. Esses óleos podem ser extraídos de caules, flores, frutos e raízes de diversas espécies de vegetais aromáticos e possuem diferentes aplicações. Na indústria alimentícia podem atuar como antioxidantes e antibacterianos, além de reproduzir o sabor e odor da planta

utilizada. Cerca de 300 diferentes tipos de óleos essenciais são comercializados, apesar de serem conhecidos aproximadamente 3.000 tipos de óleos essenciais (BUSATTA, 2006).

O desempenho do comércio exterior brasileiro de exportação de óleos essenciais decresceu tanto em relação ao volume quanto à receita, no período de 2003 a 2005, passando de 69.521 t para 59.745 t e de US\$ 1.649.640,00 para US\$ 1.275.720,00, respectivamente, segundo FERNANDES, 2005. Dentre os principais óleos exportados pelo Brasil, em 2007, destacam-se os óleos cítricos, pau-rosa, eucalipto e candeia sendo o principal produtor do óleo essencial de eucalipto o Estado do Sergipe e do pau rosa o Estado do Amazonas (MATTOSO, 2007).

As importações brasileiras de óleos essenciais mostraram uma tendência de crescimento nesses últimos anos. O ano de 2007 fechou com aproximadamente US\$ 51 milhões, sendo os principais óleos importados pelo Brasil o limão siciliano e a menta (MATTOSO, 2007).

No Estado do Paraná, as espécies mais importantes são a camomila e o gengibre, porém outras espécies como o capim limão e eucalipto vêm sendo exploradas. O Estado é responsável por 10% das importações de óleos essenciais de diversas plantas. Estes dados revelam a necessidade de expansão desse mercado, tanto no Paraná como no Brasil, nos próximos anos (BARATA *et al.*, 2005).

O mercado de óleos essenciais é próspero para países que dispõem de uma grande biodiversidade, como o Brasil, e possuem condições de agregar valor às suas matérias-primas, transformando-as em produtos beneficiados. Por esse motivo é importante pesquisar sobre o óleo essencial de plantas condimentares como o tomilho. Este condimento é de grande uso na culinária brasileira, e sabe-se que, na França, o óleo essencial dessa planta vem sendo utilizado em restaurantes por chefes de cozinha para aromatizar pratos à base de aves e peixes. No Brasil, apesar do grande uso dessa planta, poucos estudos sobre a composição do seu óleo essencial foram efetuados. JORDÁN *et al.* (2003) relatam

a existência de uma demanda elevada para o óleo essencial e uma variabilidade muito grande de espécies de tomilho.

O valor comercial do óleo essencial do *Thymus vulgaris* L., embora não muito acessível, pode variar de R\$ 500,00 a R\$ 1000,00 o litro, dependendo de fatores como a qualidade e a concentração.

O *Thymus vulgaris* L., conhecido também como tomilho comum, é uma planta nativa da região do Mediterrâneo (Espanha, Itália, França, Grécia). Além de uma fonte de óleo essencial, tem sido usada também como fonte de seus constituintes como, por exemplo, o timol, os flavonóides, o ácido cafeico e o ácido labiático, derivados de diferentes partes da planta (LEUNG e FOSTER, 1996).

O programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos tem trabalhado em conjunto com o Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal para estudar tanto as variáveis do manejo, desenvolvimento vegetativo, níveis de radiação e adubação quanto o rendimento e qualidade dos óleos essenciais de várias plantas.

Dentro do contexto de aplicação dos constituintes foram estudados neste trabalho o rendimento e a qualidade do óleo essencial de tomilho obtido por hidrodestilação e do extrato obtido por extração com solvente. O equipamento para extração foi projetado pelo co-orientador prof. Dr. Juarez Souza de Oliveira e utiliza como solvente hidrocarboneto liquefeito. Para a investigação da composição destes produtos foram aplicadas as técnicas de espectrometria de massas e cromatografia a gás.

Para a utilização de óleos essenciais pela indústria devem ser avaliados e otimizados métodos existentes e alternativos de extração. Cabe ressaltar ainda a necessidade do conhecimento tanto das variáveis de produção vegetal quanto de obtenção de derivados das plantas condimentares. A difusão destes conhecimentos possibilita a orientação do agricultor para diversificar seus ganhos e agregar valor aos seus produtos.

O presente trabalho está dividido em mais cinco capítulos. No capítulo dois, a seguir, são apresentados um breve histórico do uso de essências, a formação dos óleos essenciais pelo metabolismo secundário e os métodos de extração. Em

relação ao tomilho são relatadas suas principais características, sua toxicidade e os usos na indústria dos seus principais componentes: o timol e o carvacrol. No capítulo três são descritos os materiais, os procedimentos e as metodologias utilizadas para a obtenção dos resultados. No capítulo quatro são apresentados os resultados e as discussões. Nos capítulos cinco e seis são apresentadas as conclusões e sugestões para trabalhos futuros.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Identificar e quantificar os constituintes do óleo essencial e do extrato de tomilho (*Thymus vulgaris* L.).

1.1.2 Objetivos Específicos

1. Determinar o teor de óleo essencial de tomilho de plantas frescas e plantas secas;
2. Determinar o tempo de extração adequado para o óleo essencial do tomilho, utilizando o método de hidrodestilação;
3. Identificar e quantificar os principais componentes do óleo essencial obtido por hidrodestilação;
4. Identificar e quantificar os principais constituintes do extrato obtido por extração com solvente;
5. Comparar os métodos utilizados quanto à variação da porcentagem dos compostos extraídos de plantas frescas;
6. Comparar os métodos utilizados quanto à variação da porcentagem dos compostos extraídos de plantas secas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ÓLEOS ESSENCIAIS – BREVE HISTÓRICO

O emprego de essências começou nas antigas civilizações, quando o homem descobriu o fogo e percebeu que ao queimar determinados arbustos e resinas, estas exalavam um aroma intenso. Na Idade Média, a busca pela pedra

filosofal levou os alquimistas a realizarem inúmeras experiências, que contribuíram no desenvolvimento de processos para a extração dessas essências.

Os alquimistas perceberam que podiam sentir a presença das plantas aromáticas mesmo quando estas já haviam sido retiradas do recinto, devido ao aroma liberado. Isso os levou a buscar a quinta essência da matéria. Paracelsus, alquimista do século XVI, usou vapor para conseguir isolar o que ele chamou de “a alma da planta” ou a quinta essência daquele ser. Portanto, ele conseguiu isolar substâncias que continham o aroma. Essas substâncias, tal qual o óleo, não se misturavam com a água, de onde surgiu o nome óleo essencial. Hoje em dia, mesmo não havendo óleo ou lipídeos, nem sendo essencial, o termo óleo essencial ou essência é utilizado no mundo todo (BLANCO *et al.* 2007).

As primeiras referências históricas importantes provêm do Oriente, especialmente do Egito, onde os óleos essenciais eram usados para embalsamar múmias e para fazer oferendas nas cerimônias religiosas e, muitas vezes, eram colocados em recipientes com detalhes em ouro que seguiam juntos para os túmulos dos grandes faraós. Na Tumba de Tutancâmon, por exemplo, foram encontrados óleos aromáticos de cedro, mirra e zimbros. Os gregos adquiriram conhecimentos dos egípcios e o transmitiram aos romanos que, a partir de 45 a.C., adotaram o uso dos óleos essenciais para rituais religiosos e funerários, perfumando não somente o corpo, mas também a mobília da casa (BIOMIST, 2006).

Na Grécia, as folhas de tomilho eram queimadas como incenso, por ser a planta sinônimo de força, felicidade, coragem e altivez, de onde surgiu o nome *Thymus*. Os romanos consideravam o tomilho o remédio dos fracos e desanimados, estímulo dos guerreiros e antidepressivo, sendo utilizado em banhos aromáticos. No século XVII, fazia-se uma sopa com tomilho e cerveja para "curar a timidez"(OKA e ROPERTO, 2007).

A evolução da utilização, com base científica, dos produtos naturais tem caminhado junto com a própria evolução da humanidade. Atualmente as pesquisas indicam um forte crescimento do mercado de produtos naturais, apresentando média de crescimento acima de 20% ao ano. Os óleos obtidos

diretamente das plantas concorrem diretamente com produtos sintéticos, tendo como principal diferencial o custo. A indústria alimentícia tem se voltado para a utilização de produtos cada vez mais naturais e está preferindo utilizar aromatizantes extraídos de plantas, porém a falta de pesquisa das composições, princípios ativos e toxicidade dos componentes ainda impede que estes sejam utilizados em escala industrial.

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS - DEFINIÇÕES

O valor condimentar de uma planta está geralmente ligado ao teor de óleos voláteis, que são compostos químicos gerados durante o desenvolvimento da planta (FURLAN, 1998).

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).

Conforme a International Standard Organization (ISO), descrito por SIMÕES e SPITZER (2003), os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. A designação de “óleo” é devida a algumas características físico-químicas como a de serem geralmente líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente. Sua principal característica é a volatilidade, diferenciando-os dos óleos fixos, que são misturas de substâncias lipídicas obtidas normalmente de sementes, como, por exemplo, soja, mamona e girassol.

Os óleos voláteis podem estar presentes em certos órgãos das plantas, como nas flores, folhas, cascas, tronco, galhos, raízes, rizomas, frutos ou

sementes. Apesar de todos os órgãos de uma planta poderem acumular óleos voláteis, sua composição pode variar segundo a localização (SIMÕES *et al.*, 2000).

Óleos essenciais extraídos de diferentes partes de uma mesma planta, apesar de apresentarem cor e aspecto semelhantes, podem apresentar composição química, características físico-químicas e odores diferentes (ROBBERS *et al.*, 1997). Embora extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal, a composição química de um óleo essencial pode variar significativamente, dependendo ainda de fatores como a época de coleta - as espécies apresentam épocas específicas em que contêm maior quantidade de óleos voláteis no seu tecido, podendo esta variação ocorrer tanto no período de um dia como em épocas do ano (REIS *et al.*, 2003) - estágio de desenvolvimento, condições climáticas e de solo (SIMÕES e SPITZER, 2003).

O aroma agradável e intenso presente na maioria dos óleos voláteis faz com que estes sejam chamados de essências. Eles também são solúveis em solventes orgânicos pouco polares, como éter, recebendo, por isso, a denominação de óleos etéreos ou, em latim, *aetheroleum* (RADÜNZ, 2004).

Diversas funções biológicas da planta são atribuídas aos óleos voláteis, tais como a atração de polinizadores, a defesa contra o ataque de predadores, a proteção contra perda de água e aumento de temperatura e a inibição de germinação. Os óleos essenciais são também considerados como desperdício fisiológico ou produtos de desintoxicação, desempenhando a adaptação do organismo ao meio (SIMÕES *et al.*, 2000; FABROWSKI, 2002).

A constituição dos óleos essenciais varia desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, éteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas e compostos com enxofre. Na mistura, tais compostos estão presentes em diferentes concentrações, normalmente variando de acordo com as características de cada planta (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Segundo SILVA e CASALI (2000), os óleos essenciais são provenientes do metabolismo secundário. São normalmente elaborados nas folhas,

armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular. A biossíntese de óleos essenciais ocorre normalmente em estruturas chamadas tricomas glandulares que estão distribuídos em quantidades diferentes por toda a planta, mas que na maioria das plantas ocorrem principalmente nas folhas e cálices (LEVIN, 1973) .

A formação dos compostos dos óleos essenciais se dá a partir da derivação química de terpenóides, originados a partir do ácido mevalônico, ou de fenilpropanóides, provindos do ácido chiquímico (GUENTHER, 1977 e SIMÕES *et al.* 2000).

Uma grande variedade de substâncias vegetais é constituída por terpenóides, sendo empregado este termo para indicar todas as substâncias de origem biossintética derivadas de unidades do isopreno. Cada unidade isoprênica, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico (Mann e Breitmaier, citados por SIMÕES e SPITZER, 2003).

Nos óleos voláteis os compostos terpênicos encontrados com maior frequência são os monoterpenos (C_{10}) (cerca de 90% dos óleos voláteis) e os sesquiterpenos (C_{15}). Já os diterpenos (C_{20}) são encontrados apenas em óleos essenciais extraídos com solventes orgânicos devido à alta temperatura de volatilização desses compostos (Steinegger e Hansel, citados por SIMÕES e SPITZER, 2003).

Os constituintes de óleos essenciais de plantas são divididos em duas classes químicas inteiramente distintas, terpenóides e fenilpropanóides. Embora os terpenos representem a maioria dos componentes e ocorram com muito mais frequência e abundância, sempre que os fenilpropanóides estão presentes fornecem um sabor e odor indispensáveis e significativos ao óleo. Biogeneticamente, terpenóides e fenilpropanóides originam-se de metabolismos precursores diferentes e são gerados por rotas biossintéticas completamente distintas (SANGWAN *et al.* 2001).

Para melhor explicar essa formação faz-se necessário o entendimento do metabolismo secundário das plantas bem como a formação dos terpenos e dos fenilpropanóides.

2.2.1 Metabolismo Secundário

Por não ser necessário para todas as plantas, o metabolismo secundário origina compostos que não possuem uma distribuição universal e, por isso, esses compostos podem ser utilizados em estudos taxonômicos. Apesar de nem sempre ser necessário para que uma planta complete seu ciclo de vida, o metabolismo secundário desempenha um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente. Uma das principais funções dos compostos gerados são os mecanismos de defesa das plantas. Assim, produtos secundários agem como defesa contra herbívoros, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e microorganismos simbiotes. Possuem também ação protetora em relação a mudanças de temperatura, conteúdo de água, níveis de luz, exposição aos raios ultravioleta (UV) e deficiência de nutrientes minerais. Os metabólitos secundários dividem-se em três grandes grupos: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides (FIGURA 01). Os terpenos são formados a partir do ácido mevalônico, no citoplasma, ou do piruvato e 3-fosfoglicerato, no cloroplasto (PERES, 2004).

Muito do sabor, odor e coloração de diversos vegetais que apreciamos no nosso dia-a-dia, são gerados por compostos fenólicos. Alguns desses compostos, como o aldeído cinâmico da canela (*Cinnamomum zeyllanicum*) e a vanilina da baunilha (*Vanilla planifolia*), são empregados na indústria de alimentos. Os compostos fenólicos são atrativos não somente para seres humanos, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, os compostos fenólicos desenvolvem uma função de proteção nas plantas, como proteção contra os raios UV, insetos, fungos, bactérias e vírus. Algumas espécies vegetais desenvolvem compostos fenólicos para inibir o crescimento de outras plantas competidoras. Em termos químicos, os compostos fenólicos são substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Já os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais

são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos como a ornitina e a lisina (PERES, 2004).

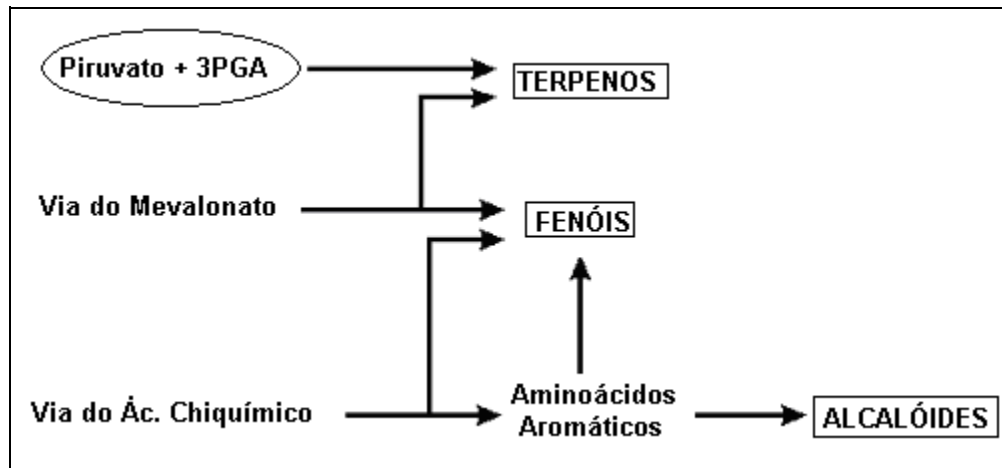


FIGURA 01 - PRINCIPAIS VIAS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO
 FONTE: PERES, 2004.

2.2.2 Os Terpenóides

Até o presente momento, já foram catalogados aproximadamente 25.000 diferentes compostos terpênicos. Os terpenos são compostos que ocorrem em todas as plantas e compreendem uma classe de metabólitos secundários com uma grande variedade estrutural (RAVEN *et al.*, 2001). Os terpenos são formados pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos; quando submetidos a altas temperaturas, podem se decompor em isoprenos, podendo referir-se, ocasionalmente, a todos os terpenos como isoprenóides (TAIZ e ZEIGER, 2004).

Os terpenos ou terpenóides podem ser classificados de acordo com o número de isoprenos que constituem: hemiterpenóides, monoterpenóides, sesquiterpenóides, diterpenóides, triterpenóides, tetraterpenóides e politerpenóides (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Os hemiterpenóides (C₅) são o menor grupo dos terpenos, sendo que o seu representante mais conhecido e estudado é o isopreno, um produto volátil liberado de tecidos fotossinteticamente ativos (CROTEAU *et al.*, 2000). Os monoterpenóides (C₁₀) são compostos por duas unidades de isopreno. Devido a

sua baixa massa molecular, estes costumam ser voláteis, sendo os constituintes das essências voláteis e óleos essenciais, atuando na atração de polinizadores. Os monoterpenos podem ser isolados através de destilação ou extração. O primeiro monoterpenóide a ser isolado foi a “turpentina” ($C_{10}H_{16}$) na década de 1850 na Alemanha. Atualmente são conhecidos mais de 1.000 monoterpenóides naturais e alguns têm sido empregados nas indústrias de perfumes e fragrâncias, produção de especiarias, culinária, indústria de alimentos e condimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Os monoterpenos podem ocorrer em pêlos glandulares, células parenquimáticas diferenciadas e em canais oleíferos. Eles podem estar estocados em flores, como as de laranjeira, folhas, como no capim-limão, nas cascas dos caules, como na canela, na madeira, como no sândalo ou no pau-rosa, e em frutos como nos de erva-doce (PERES, 2004).

Os sesquiterpenóides (C_{15}) são encontrados nos óleos essenciais e em hormônios vegetais, constituindo a maior classe de terpenóides (OLIVEIRA *et al.*, 2003).

Os diterpenóides (C_{20}) compreendem um grande grupo de compostos não voláteis, possuindo uma vasta gama de atividades diferentes que incluem os hormônios, ácidos resínicos e agentes anticancerígenos (ROBBERS *et al.*, 1997; CROTEAU *et al.*, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2003). PERES (2004) descreve que talvez o principal papel desempenhado por um diterpeno seja o das giberelinas, as quais são importantes hormônios vegetais responsáveis pela germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão dos frutos de muitas espécies vegetais.

Os triterpenóides (C_{30}) formam os componentes das resinas, látex, ceras e cutícula das plantas. Entre os triterpenos está uma importante classe de substâncias, os esteróides, os quais são componentes dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteróides em mamíferos, plantas e insetos. Uma outra classe importante de triterpenos são as saponinas. Como o próprio nome indica, as saponinas são prontamente reconhecidas pela formação de espuma em certos extratos vegetais. Essas substâncias são semelhantes ao sabão porque possuem

uma parte solúvel (glicose) e outra lipossolúvel (triterpeno). Nas plantas, as saponinas desempenham um importante papel na defesa contra insetos e microorganismos (PERES, 2004).

Os tetraterpenóides (C_{40}) são carotenóides, pigmentos responsáveis pela coloração amarela, laranja, vermelha e púrpura dos vegetais, apresentando função essencial na fotossíntese e, especialmente, na pigmentação de flores e frutos. Os politerpenóides são aqueles com mais de oito unidades de isopreno, ou seja, com mais de 40 carbonos na sua estrutura, como os longos polímeros encontrados na borracha (ROBBERS *et al.*, 1997; CROTEAU *et al.*, 2000 OLIVEIRA *et al.*, 2003).

2.2.3 Biossíntese de terpenos

Os terpenos são biossintetizados a partir de metabólitos primários por no mínimo duas rotas diferentes, conforme mostra a FIGURA 02 (TAIZ e ZEIGER, 2004).

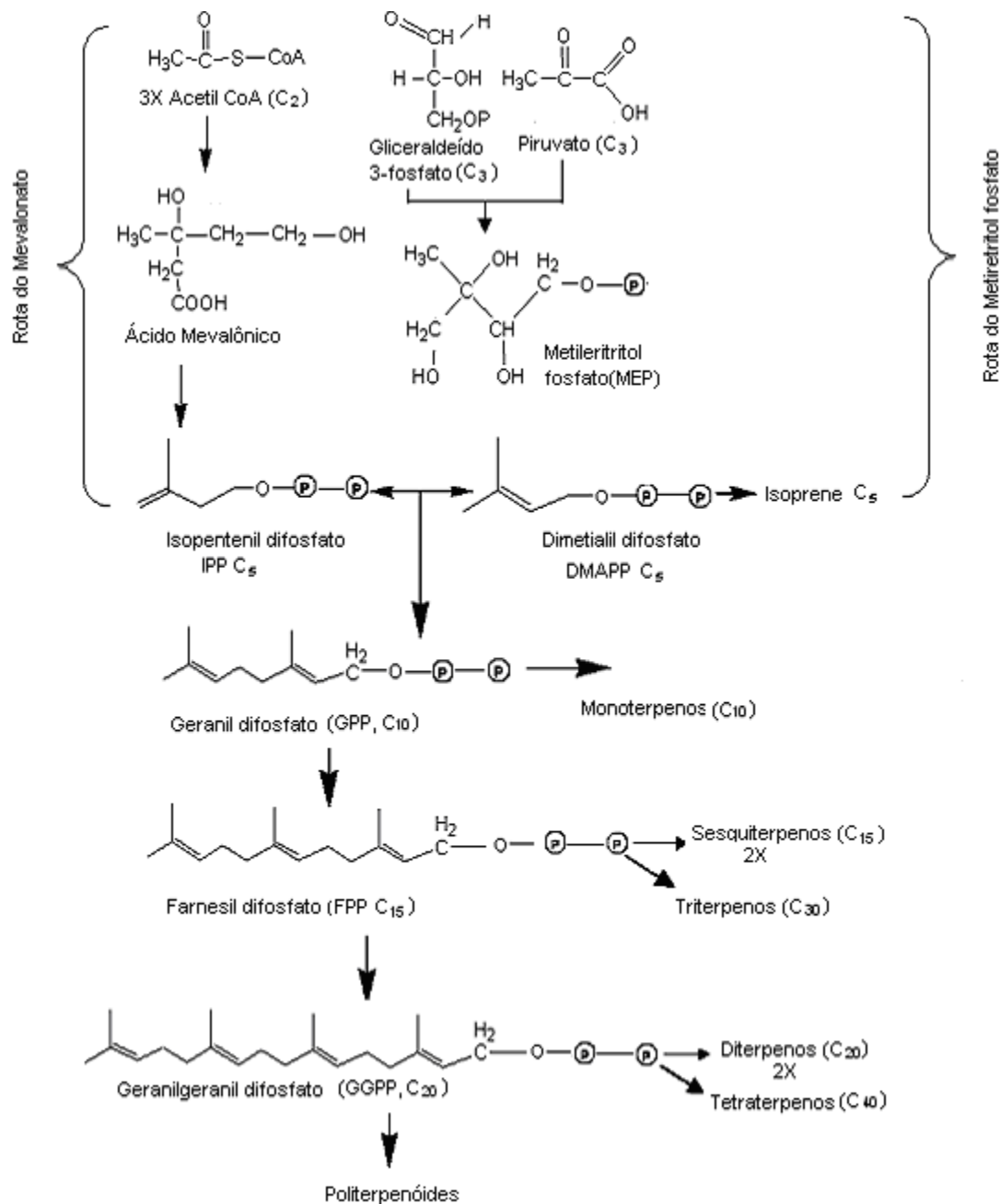


FIGURA 02 - BIOSÍNTESE DE TERPENOS

FONTE: TAIZ E ZEIGER, 2004

Na rota do ácido mevalônico, três moléculas de acetil CoA são ligadas, a partir de uma série de etapas da rota, para formar o ácido mevalônico. Esse importante intermediário de seis carbonos é então pirofosforilado, descarboxilado

e desidratado para produzir o isopentenil difosfato (IPP), que é a unidade básica na formação dos terpenos.

O IPP também pode ser formado a partir de intermediário da glicose ou do ciclo de redução fotossintética do carbono, através de um conjunto de reações denominado de rota do metileritritol fosfato (MEP), que ocorre nos cloroplastos e outros plastídeos. O gliceraldeído-3-fosfato e dois átomos de carbono derivados do piruvato se combinam para formar um intermediário que é convertido em IPP.

O isopentenil difosfato e seu isômero, o dimetilalil difosfato (DMAPP) são as unidades pentacarbonadas ativas na biossíntese dos terpenos que se unem para formar moléculas maiores. Inicialmente o IPP e o DMAPP reagem e formam o geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a partir da qual são formados os monoterpenos. O GPP pode, então, ligar-se a outra molécula de IPP, formando um composto de 15 carbonos, farnesil difosfato (FPP), precursor da maioria dos sesquiterpenos. A adição de outra molécula de IPP forma o geranylgeranyl difosfato (GGPP), composto de 20 carbonos precursor dos diterpenos. Finalmente, FPP e GGPP podem dimerizar para formar triterpenos (C₃₀) e tetraterpenos (C₄₀), respectivamente. No geral, os terpenóides são os constituintes predominantes dos óleos essenciais das plantas, mas muitos dos óleos essenciais também podem ser compostos de outros produtos químicos, os fenilpropanóides.

2.2.4 Os Fenilpropanóides

Os mecanismos bioquímicos específicos de óleos essenciais e síntese de fenilpropanóides, tais como o eugenol e a elemicina, são conhecidos somente a uma extensão limitada. Embora os fenilpropanóides não sejam constituintes comuns de óleos essenciais de plantas, os óleos essenciais de certas espécies contêm proporções abundantes ou significativas de tais compostos. Quando ocorrem, sua natureza e suas propriedades alteram significativamente as características sensoriais do óleo. Os principais fenilpropanóides conhecidos são

eugenol, metil eugenol, miristicina, elemicina, chavicol, metil chavicol, dilapiol, anetol, estragol, apiol (SANGWAN *et al.* 2001).

Os fenilpropanóides são substâncias naturais amplamente distribuídas nos vegetais e constituídas por um anel aromático unido a uma cadeia de três carbonos e derivadas biossinteticamente do ácido chiquímico (FIGURA 03).

O ácido chiquímico é formado por dois metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fostato. Através da junção do ácido chiquímico e de uma molécula de fosfoenolpiruvato ocorre a formação do ácido corísmico (PERES, 2004).

O ácido corísmico é responsável por gerar aminoácidos aromáticos, como a fenilalanina, a tirosina e o triptofano, que são precursores de vários alcalóides. Esses aminoácidos sofrem ação enzimática, dando origem ao ácido cinâmico ou ao ácido p-cumárico, também chamado de p-hidroxicinâmico (LORENZO *et al.*, 2002).

A partir do ácido cinâmico ou do ácido p-cumárico são formados compostos fenólicos simples denominados fenilpropanóides. Esses compostos costumam ser voláteis, sendo considerados, juntamente com os monoterpenos, óleos essenciais (PERES, 2004).

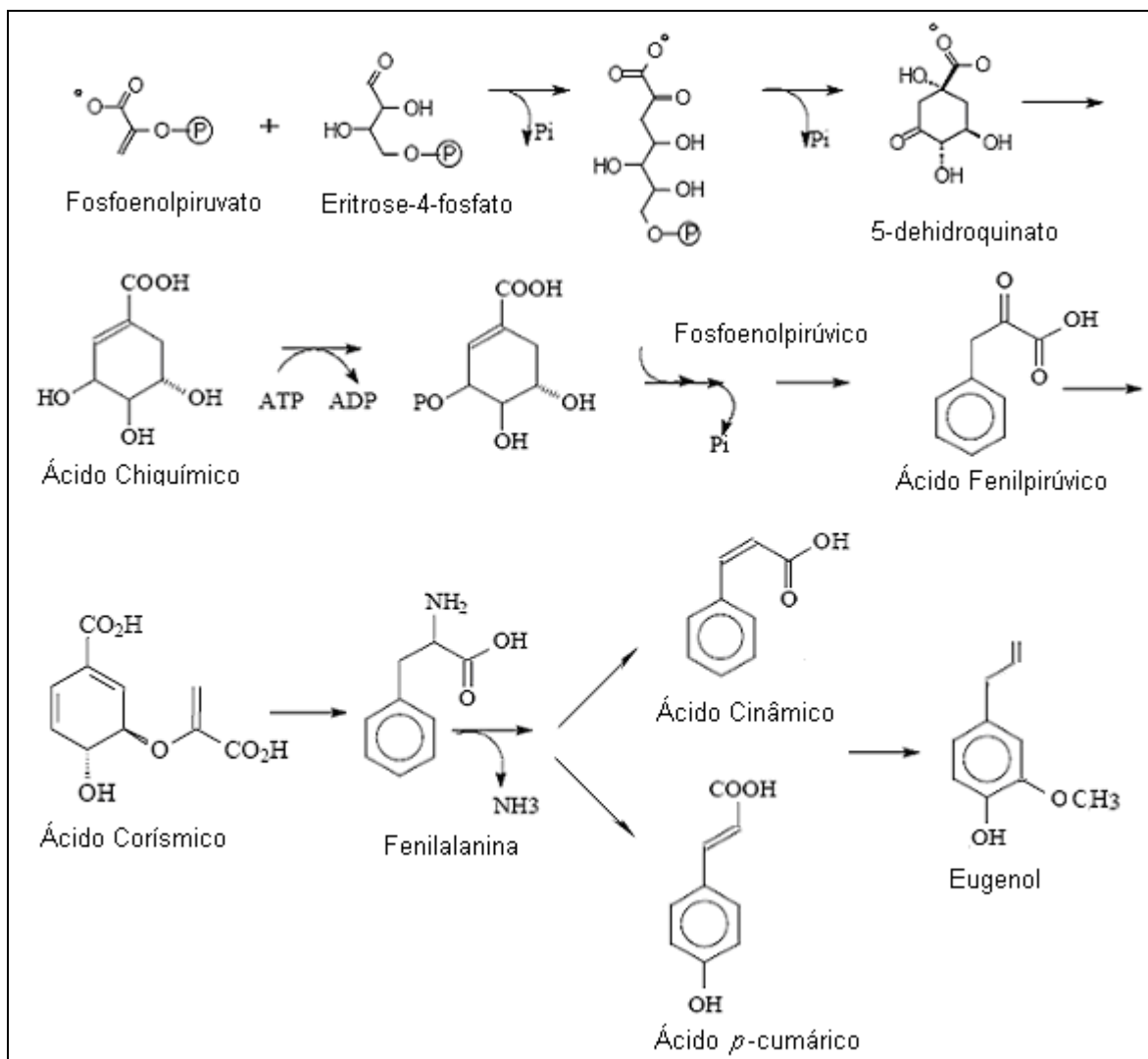


FIGURA 03 - BIOSÍNTESE DE FENILPROPANÓIDES

FONTE: LORENZO *et al.* 2002 e PERES, 2004.

2.2.5 Secagem de Plantas Aromáticas

Após a colheita, inicia-se um processo de degradação nas plantas, devido ao aumento da atividade enzimática, levando também à degradação dos princípios ativos presentes nas mesmas. Para minimizar esses efeitos, as plantas medicinais devem ser consumidas ou secas (REIS *et al.*, 2003).

O alto teor de água presente nas células e tecidos das plantas, em torno de 60% a 80%, faz com que a secagem tenha importância fundamental para evitar

a fermentação ou degradação dos princípios ativos. A secagem deve ser realizada corretamente para preservar as características de cor, aroma e sabor do material colhido e deve ser iniciada o mais rápido possível (BRASIL, 2006).

O excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, podendo acarretar a degradação de constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias (FARIAS, 2003). O maior problema na secagem e no armazenamento de plantas aromáticas é a alta sensibilidade do princípio biologicamente ativo e sua conservação no produto final (HERTWIG, 1986).

A secagem deve ser realizada até que a planta atinja 8% a 12% de água, conforme a espécie e a parte da planta. Com essa umidade, a maior parte das espécies pode ser armazenada por um bom período sem que ocorra deterioração e o desenvolvimento de microrganismos como fungos, bactérias e leveduras (BRASIL, 2006).

A secagem não deve ser um processo muito rápido nem muito lento. Quando o processo é rápido ocorre volatilização dos compostos presentes na planta podendo degradar os princípios ativos da mesma. Se o processo for lento pode propiciar o aparecimento de microrganismos indesejáveis, por isso é muito importante que seja considerada a velocidade com que a água é retirada da planta medicinal, durante a secagem. (SILVA e CASALI, 2000).

O tempo de secagem depende do fluxo de ar, da temperatura e da umidade relativa do ar. Quanto maior a temperatura e maior o fluxo de ar, tanto mais rápida é a secagem. A temperatura de secagem é determinada pela sensibilidade dos princípios ativos da planta; portanto, para cada espécie, há uma temperatura ideal de secagem (BRASIL, 2006). Com base nisso, alguns pesquisadores vêm estudando o efeito de secagem sobre a qualidade e a quantidade de óleo essencial extraído de determinadas plantas aromáticas.

Com o objetivo de avaliar a quantidade e a qualidade do óleo essencial, DEANS e SVOBODA (1992) empregaram temperaturas do ar de secagem entre 40 e 100 °C, durante 24 horas, para a secagem de manjerona (*Origanum majorana* L.), manjericão (*Ocimum basilicum*), artemísia (*Artemisia dracunculus*),

sálvia (*Salvia officinalis*), satureja (*Satureja hortensis*), tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*). A quantidade extraída de óleo essencial foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura do ar de secagem. A composição dos óleos essenciais de manjerona e manjeriço apresentou mudanças significativas quando a temperatura do ar de secagem atingiu 80 °C, e em artemísia, sálvia e satureja esta alteração foi percebida quando a temperatura atingiu 50 e 60°C, enquanto que no tomilho e no alecrim não foram observadas mudanças significativas na composição do óleo essencial.

BARITAUX *et al.* (1992) estudaram a composição química do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) seco com ar aquecido a 45 °C e da planta fresca. A composição do óleo essencial de manjeriço seco demonstrou uma concentração de componentes diferente do obtido da planta fresca. A porcentagem de metilchavicol e eugenol decresceu durante a secagem, porém a porcentagem de *trans*-bergamoteno, linalol e 1,8-cineol teve um aumento significativo.

Os efeitos da secagem em estufa, secagem com congelamento e secagem em microondas, sobre a composição do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) foram estudados por KOLLER e RAGHAVAN (1995). Houve diferença na concentração de componentes do óleo essencial para os três métodos utilizados principalmente em relação ao componente majoritário, o timol.

VENSKUTONIS *et al.* (1996) secaram tomilho (*Thymus vulgaris* L.), empregando dois métodos: ar aquecido a 30 °C, durante 25 horas, com velocidade média de 3,3 ms⁻¹ sob a massa de plantas; e secagem seguida de congelamento por 40 horas. A redução no conteúdo total de constituintes voláteis após a secagem foi de aproximadamente 1-3%, não sendo verificadas diferenças entre os dois métodos de secagem.

VENSKUTONIS (1997) estudou o efeito de secagem sobre os constituintes voláteis de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e sálvia (*Salvia officinalis*). Verificou-se uma redução de 43 e 31% na quantidade total de compostos isolados de tomilho e sálvia, respectivamente, quando submetidos à secagem em estufa a 60 °C, comparados à planta fresca. A redução dos compostos voláteis, durante a

secagem, depende da volatilidade e estrutura química dos constituintes da planta, segundo o autor. Um estudo com temperatura do ar de secagem a 60 °C, verificou a redução de 3,4; 3 e 2 vezes nas quantidades de mirceno, limoleno e β -pineno, respectivamente. Por outro lado, a concentração de óxido cariofileno permaneceu praticamente a mesma, e um componente não identificado apresentou um aumento de aproximadamente 38%.

BALLADIN e HEADLEY (1999) estudaram folhas frescas de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), com teor de água inicial de 75% base úmida, foram secas em estufa e em secador solar na mesma temperatura (50 °C), até atingirem o teor de água médio de 12% base úmida. Na análise realizada por cromatografia de camada delgada, a coloração da mancha obtida das plantas submetidas à secagem foi menos intensa que a da planta fresca, indicando perda de qualidade.

Com o objetivo de avaliar o rendimento de óleo essencial, RADÜNZ *et al.* (2002a) utilizaram 5 temperaturas (ar ambiente, ar aquecido a 40, 50, 60, 70 °C) para a secagem de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham), comparando com a planta fresca. Para a amostra seca com ar ambiente observaram uma redução de 8% no teor de óleo essencial. Os tratamentos de secagem a 40, 50, 60 e 70 °C não apresentaram diferenças significativas entre si e a planta fresca. Para os mesmos tratamentos acima descritos, na análise química não foi verificada variação qualitativa significativa no percentual de timol e nem para *p*-cimeno nos tratamentos estudados comparados à planta fresca. Entretanto, para os valores de cariofileno verificaram um aumento significativo nos tratamentos de secagem com ar aquecido a 50, 60 e 70 °C (RADÜNZ *et al.* 2002b).

2.2.6 Métodos de Extração e Análise do Óleo Essencial

Os processos de obtenção de óleos essenciais variam conforme a localização do óleo na planta. Os métodos mais comuns são: enfloração; arraste direto por vapor d'água; hidrodestilação; extração com solventes orgânicos; prensagem e extração com fluidos supercríticos (GUENTHER, 1977; ROBBERS *et al.*, 1997; SIMÕES *et al.*, 2000).

A composição dos óleos essenciais pode sofrer influência de acordo com o método de extração utilizado, pois suas propriedades bioativas podem ser comprometidas. As características físico-químicas podem ser alteradas pelas condições operacionais empregadas na extração, bem como seus efeitos terapêuticos (ROBBERS *et al.*, 1997). Graças ao avanço da tecnologia, hoje dispõe-se de métodos que permitem extrair óleos essenciais com um maior grau de pureza e concentração, como é o caso da extração com fluidos supercríticos, que na indústria alimentícia utiliza gás carbônico na extração, fazendo com que não haja resíduos tóxicos.

O método de enfloração é utilizado para extração de óleos essenciais de matérias-primas delicadas como pétalas de flores. As pétalas são depositadas, a temperatura ambiente, sobre uma camada de gordura, durante um determinado tempo. Em seguida as pétalas esgotadas são substituídas por novas até a saturação total, quando a gordura é tratada com álcool. O álcool então é destilado a baixa temperatura, obtendo-se assim o óleo essencial (SIMÕES *et al.*, 2000).

A prensagem é utilizada para extração de óleo essencial de frutas cítricas, que é encontrado nos tecidos periféricos, no caso nas cascas. Estas são prensadas e a camada que contém o óleo essencial separada por decantação, centrifugação ou destilação fracionada (SIMÕES *et al.*, 2000).

A extração com solventes orgânicos é usada no mundo todo para obter maior rendimento ou produtos que não podem ser obtidos por nenhum outro processo. Geralmente são utilizados solventes apolares como o diclorometano e éter, mas possuem o inconveniente de extrair composto lipofílicos além dos óleos voláteis (GUENTHER, 1948).

A extração por fluidos supercríticos é uma técnica que utiliza o poder do solvente em temperatura e pressão vizinhas ao ponto crítico. O solvente mais utilizado nesta técnica é o dióxido de carbono (CO₂), devido ao seu baixo custo, à temperatura crítica considerada baixa (31,1°C) e a pressão crítica facilmente alcançável (72,85 atm), além de ser um solvente inodoro, quimicamente inerte e sem risco ambiental. Esta técnica vem sendo considerada uma das mais

promissoras para a área da alimentação. A única desvantagem é que o processo demanda custos altos, dificultando a implantação da técnica (LUQUE, 1994).

Na extração por arraste de vapor o material vegetal é colocado em uma placa perfurada, a uma determinada distância do fundo do extrator, evitando o contato com a água em ebulição, submetido a uma corrente de vapor onde as misturas dos vapores de óleo e de água se condensam, sendo separadas pela diferença de densidade (GUENTHER, 1977).

A hidrodestilação é um método antigo e versátil, sendo o mais usado comercialmente no Brasil. O material vegetal permanece em contato com a água em ebulição, o vapor faz com que as paredes celulares se abram e o óleo que está entre as células evapore junto com a água que vai para o condensador, onde é resfriado e separado por diferença de densidade. No caso das produções em pequena escala, emprega-se o aparelho de Clevenger. O óleo essencial obtido, após separar-se da água, deve ser seco com sulfato de sódio (Na_2SO_4) anidro (SIMÕES *et al.*, 2000).

O método mais utilizado para análise do óleo essencial é a cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas, por ser mais preciso e eficiente (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2002).

A cromatografia é um método de separação que se baseia na migração diferencial das substâncias entre a fase móvel e a fase estacionária. A fase estacionária pode ser sólida ou líquida, e a fase móvel pode ser líquida ou gasosa. A identificação dos compostos é possível através da comparação do tempo de retenção relativo da amostra com seus padrões. A quantificação é realizada através do método de normalização ou método 100%, onde o valor total das áreas de cada pico é considerado 100%. A cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas irá indicar a massa molecular e o padrão de fragmentação (CIOLA, 1973).

Segundo SIMÕES e SPITZER (1999) o espectrômetro ioniza as moléculas, separa íons de acordo com a razão m/z (massa / carga) e fornece um histograma das abundâncias relativas de íons individuais com diferentes razões massas / carga geradas por um composto em condições especificadas, porém os

dados de retenção linear devem ser considerados para aumentar a segurança na identificação.

O índice de retenção linear é aplicável para condições com gradiente de eluição e pode ser calculado pela seguinte equação (CIOLA, 1973):

$$RIP = RI1 + (RI2 - RI1) \times (RTP - RT1) / (RT2 - RT1), \text{ onde:}$$

RI1= índice de retenção do pico de referência mais próximo eluindo antes de RTP.

RT1= tempo de retenção do pico de referência mais próximo eluindo antes de RTP.

RI2 = índice de retenção do pico de referência mais próximo eluindo depois de RTP.

RT2 = tempo de retenção do pico de referência mais próximo eluindo depois de RTP.

RTP = tempo de retenção do pico do qual se quer calcular o índice de retenção.

2.2.7 Toxicidade

O emprego dos óleos essenciais é bastante amplo. Contudo não se pode esquecer que algumas substâncias podem causar efeito tóxico, que varia desde uma simples alergia até mesmo convulsões, podendo agir como psicotrópicos (SIMÕES *et al.*, 2000).

Os óleos essenciais, por serem produtos de extração de uma espécie vegetal e, portanto, mais concentrados, apresentam toxicidade mais elevada que a da planta de origem. O grau da toxicidade dependerá da dose utilizada de óleo essencial, em alguns casos baixas dosagens acarretam intoxicações devido à sensibilidade individual (SIMÕES *et al.*, 1999).

Segundo NEWALL *et al.* (2002), para o óleo essencial de tomilho, não existem relatos de problemas causados durante a gestação ou lactação, desde que usado em doses moderadas. Tem reputação de afetar o ciclo menstrual, não devendo, portanto, ser ingerido em doses altas.

2.2.8 Tomilho

O tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é uma planta da família Lamiaceae que compreende 150 gêneros, com cerca de 2800 espécies distribuídas em todo o mundo, sendo o maior centro de dispersão a região do Mediterrâneo (FIGURA 04). Muitas das espécies introduzidas no Brasil são plantas medicinais e produtoras de óleos essenciais, sendo utilizadas como condimentos ou como flores ornamentais. Dentre os gêneros cultivados da família Lamiaceae destacam-se várias espécies usadas como condimentos, tais como: sálvia (*Salvia officinalis*), manjericão (*Ocimum basilicum*), orégano (*Origanum vulgare* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), entre outras (PORTE e GODOY, 2001).



FIGURA 04 – TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)
FONTE: A autora (2007)

O cultivo do tomilho não demanda muitas exigências, preferindo regiões secas, áridas, expostas ao sol e solos arenosos, mas leves e possivelmente

calcáricos; é planta de solos pobres, rústica, evitando umidade e terras compactadas (CASTRO e CHEMALE, 1995). Entretanto, a hibridização que ocorre facilmente entre as espécies de tomilho que tem proximidade geográfica e com período de floração coincidente, conduz a uma variabilidade grande que pode afetar a homogeneidade e o rendimento do óleo essencial, bem como a sua composição química. As populações naturais são geralmente heterogêneas, compostas de plantas de fenótipos diferentes (ECHEVERRIGARAY *et al.*, 2001).

Propriedades farmacológicas de diferentes extratos e dos óleos essenciais do tomilho foram estudadas detalhadamente e trouxeram contribuições significativas para as indústrias (principalmente como aditivo de alimento) e aplicações medicinais da planta. Além de seus usos tradicionais numerosos, a planta e seu óleo essencial encontraram diversas aplicações na farmácia e na medicina.

O óleo essencial de tomilho possui atividades antimicrobianas (bactérias e fungos) carminativa e expectorante, atividades estas atribuídas ao timol e ao carvacrol, componentes fenólicos do óleo, sendo o timol o mais potente. As atividades antifúngicas, pesticidas e antibacterianas do óleo essencial de tomilho foram demonstradas por diversos investigadores como HIGES e LLORENTE, (1996), DAFERERA *et al.* (2000), KALEMBA e KUNICKA (2003) e BAGAMBOULA *et al.* (2004). Atividades espasmolíticas bem como antioxidantes foram relatadas também para o extrato alcoólico da planta (HUDAIB *et al.*, 2002)

Vários estudos fotoquímicos investigaram a composição do óleo essencial do *Thymus vulgaris* L. (FIGURA 05), de fontes e de genótipos diferentes, bem como a sua variação em estações diferentes e durante o ciclo vegetativo da planta (ECHEVERRIGARAY *et al.*, 2001 e HUDAIB *et al.*, 2002). Avaliações da composição do óleo extraído de diferentes partes da planta ou ambientes variados, cultivo, e/ou condições de armazenamento também têm sido relatadas (VENSKUTONIS *et al.*, 1996).

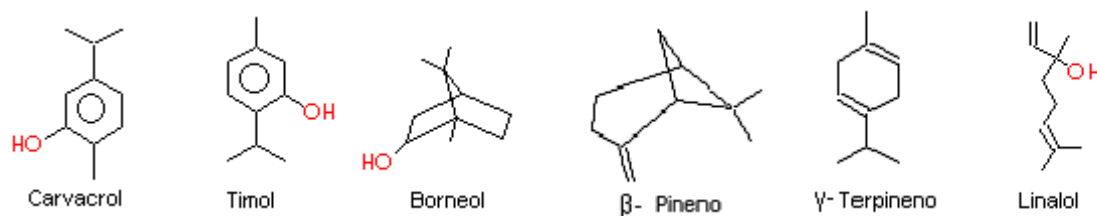


FIGURA 05 - FÓRMULA ESTRUTURAL DE ALGUMAS SUBSTÂNCIAS PRESENTES NO ÓLEO ESSENCIAL DO TOMILHO (*Thymus vulgaris L.*).

FONTE: JORDÁN *et al*, 2003 e HUDAIB *et al*, 2002.

VENSKUTONIS (1997) estudou o efeito de secagem sobre os constituintes do tomilho (*Thymus vulgaris L.*) e da sálvia (*Salvia officinalis L.*). Foram analisadas amostras frescas, secas a 30 °C, secas a 60°C e congeladas após a coleta. Dois métodos foram aplicados, “headspace” dinâmico, que utiliza vácuo para a extração, e extração por destilação em aparelho de Likens-Nickerson, que é um processo que utiliza ao mesmo tempo a hidrodestilação e a extração com solvente. O óleo essencial obtido foi analisado por cromatografia e espectrometria de massas. No total, 68 compostos foram identificados no tomilho, sendo os principais constituintes o timol, seguido do *p*-cimeno, do γ -terpineno, do linalol e do carvacrol, tanto para as amostras frescas quanto para as demais amostras (secas e congeladas) havendo apenas variação nas concentrações.

O rendimento e a composição dos extratos em diclorometano das folhas, das flores e das hastes do *Thymus vulgaris L.* que crescem no nordeste da Espanha foram estudados por GUILLÉN e MANZANOS (1998). O rendimento obtido das folhas e das flores é muito mais elevado do que aquele obtido das hastes, sendo encontrados 4,0%, 2,6% e 0,5%, respectivamente. Os extratos obtidos das folhas e das flores foram analisados por CG e CG/EM. Os principais componentes encontrados nas folhas foram: 1,8 cineol, linalol, β - pineno, canfeno, α -pineno. Nas flores, os constituintes principais foram: linalol, elemol, nonacosano, e trans-cariofileno. Nas hastes, os constituintes principais foram: linalol, elemol, nonacosano e trans-cariofileno. Nas hastes os componentes majoritários foram: hexacosanal, nonacosano, β -sitoesterol, sendo que nos três tipos de amostras do timol e do carvacrol foram encontrado apenas traços.

HUDAIB *et al.* (2002), na Itália, analisaram os óleos essenciais das plantas do tomilho (*Thymus vulgaris* L.) através de cromatografia a gás CG/EM, baseada em colunas polares e apolares. A metodologia adotada foi usada para monitorar variações sazonais na composição do óleo obtido das plantas do tomilho colhidas em períodos diferentes do ciclo vegetativo. As plantas cultivadas com dois anos foram consideradas novas e as com cinco anos foram consideradas velhas. Foram avaliados os óleos essenciais de quatro e duas coletas, respectivamente, efetuadas durante todo período do crescimento de maio/dezembro. O óleo encontrado era rico em monoterpenos (timol e carvacrol) e em seus precursores correspondentes, hidrocarbonetos monoterpênicos (*p*-cimeno e γ -terpineno). O óleo da planta velha coletado no período de maio/junho (0,15% volume/massa de rendimento) foi caracterizado por níveis significativamente mais baixos de monoterpenos (principalmente γ -terpineno) e pelos níveis mais elevados dos monoterpenos oxigenados (linalol e borneol), de fenóis do monoterpeno (principalmente timol) e de seus derivados (principalmente o metil éter carvacrol), de sesquiterpenos (principalmente - cariofileno) e de seus derivados oxigenados (por exemplo óxido de cariofileno) em comparação com todas as amostras restantes. Uma presença característica da cânfora e da timodihidroquinona foi observada também nos óleos das plantas velhas. Nas plantas novas, coletadas em junho/julho, foi obtido o melhor rendimento de óleo (1,2% volume / massa) com o mais elevado índice de fenóis do monoterpeno (timol: 51,2% e carvacrol: 4%). Este último período do crescimento pode representar a melhor época da colheita de plantas novas do tomilho a fim de se obter um óleo essencial com qualidade e quantidade melhores.

JORDÁN *et al.* (2006), estudaram clones de *Thymus hyemalis* e o *Thymus vulgaris*, na Espanha, onde foram monitoradas variações sazonais na composição do óleo essencial. Foram colhidas amostras em cinco estágios diferentes durante o ciclo vegetativo das plantas. O perfil temporário das amostras do óleo essencial foi determinado por análises de CG/EM. Esta técnica identificou 99 componentes para o *Thymus hyemalis* e 98 para o *Thymus vulgaris*. Para o óleo essencial do *Thymus vulgaris*, os principais componentes quantificados foram

o 1,8 cineol, seguido pelo acetato de terpenila, borneol, linalol, β -pineno, α -terpineol, e cânfora. Com respeito às concentrações dos componentes mais abundantes, o estágio vegetativo médio parece ser o momento de colheita mais apropriado para esta espécie, pois o cineol, o borneol, os hidrocarbonetos monoterpênicos e a cânfora exibiram suas concentrações relativas máximas neste estágio. No contraste, o acetato de terpenila, o α -terpineol e o linalol, provavelmente os componentes que são associados com o aroma fresco no óleo, foram concentrados na maior parte no estágio de floração completa. As correlações foram detectadas entre as concentrações dos componentes mais abundantes neste óleo essencial. As concentrações de acetato de terpenila, cineol, sabineno e linalol variaram durante o ciclo vegetativo inteiro.

Na Lituânia, LOZIENE *et al.* (2003) estudaram 25 amostras de partes aéreas de *Thymus pulegioides* L., coletadas de 11 localidades daquele país. A extração do óleo essencial foi efetuada por hidrodestilação e a composição do óleo essencial foi analisada por cromatografia gasosa capilar e espectrometria de massas. Os principais constituintes encontrados foram: timol (0,2-26%), geraniol (0-31%), carvacrol (1,5-25%), *p*-cimeno (0,1-16%), γ -terpineno (traços-21,4%), β -cariofileno (5-14%).

OZCAN e CHALCHAT (2004), na Turquia, extraíram por hidrodestilação o óleo essencial de partes aéreas de *Thymus vulgaris* L. e identificaram os componentes por cromatografia a gás e espectrometria de massas. Os componentes majoritários encontrados foram: timol (46,2%), γ -terpineno (14,1%), *p*-cimeno (9,9%), linalol (4,0%), mirceno (3,5%), α -pineno (3,0%) e α -tujona(2,8%), com um rendimento de 1,57% (v/m).

NICKAVAR *et al.* (2005), no Irã, estudaram duas espécies de tomilho. Os óleos essenciais obtidos das partes aéreas do *Thymus daenensis* e do *Thymus kotschyanus* foram analisados usando o CG e o CG/EM. As duas espécies foram consideradas ricas em fenóis e monoterpênicos, especialmente timol e carvacrol. Vinte e seis compostos que representam 99,7% do óleo essencial do *T. daenensis* foram identificados. Os principais compostos encontrados foram: timol (74,7%), *p*-cimeno (6,5%), β -cariofoleno (3,8%) e metil

carvacrol (3,6%). Trinta componentes num total de 98,7% do óleo essencial do *Thymus kotschyanus* foram identificados, sendo que os constituintes principais foram o timol (38,6%), o carvacrol (33,9%), o γ -terpineno (8,2%) e o *p*-cimeno (7,3%).

Em Portugal a composição dos óleos essenciais isolados de 24 populações de *Thymus caespitius* coletados em Corvo, Flores, São Miguel e Terceira (Açores) e em Madeira foram estudados por CG e CG-EM. Os principais constituintes dessas amostras foram: carvacrol (41-65%), timol (35 - 51%) e α -terpineol (33-37%) (SANTOS *et al.*, 2005).

Óleo essencial de *Thymus capitatus* foi analisado na Tunísia através de quatro técnicas: técnica de acoplamento pirólise / cromatografia a gás / espectrometria de massa (Pir/CG/EM), cromatografia a gás com detector de ionização de chama (CG/FID), cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa (CG/EM) com ionização de impacto de elétrons e cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massa de captura de elétrons (CG/EM/captura de elétrons). Nesse estudo, os autores concluíram que a melhor resposta obtida foi através do método de CG/EM, e os principais constituintes do óleo essencial de *Thymus capitatus* foram o carvacrol (53,7%), seguido do γ -terpineno (11,6%) e do *p*-cimeno (10%). Neste trabalho não há referência sobre o timol (HEDHILI *et al.*, 2005).

Na França, ROUATBI *et al.* (2007) usaram o vapor superaquecido para extrair compostos voláteis das folhas do tomilho e das frutas da pimenta preta. O vapor e os voláteis extraídos foram coletados em um condensador e os óleos essenciais foram separados da mistura coletada por solventes e analisados por CG. A temperatura ideal encontrada para manter a qualidade do óleo essencial foi de 175°C. Os constituintes majoritários foram: timol (36,69%), *p*-cimeno (25,25%) e carvacrol (8,77%).

O QUADRO 01 apresenta o resumo dos trabalhos citados, destacando os componentes majoritários e de maior relevância presentes nos óleos essenciais de tomilho, estudados por diferentes técnicas e tipos de planta, bem como o rendimento obtido.

AUTORES / PAÍS	RENDIMENTO	ESPÉCIE DE PLANTA	PARTES DA PLANTA	TÉCNICAS UTILIZADAS	% DE COMPOSTOS IDENTIFICADOS
JORDÁN <i>et al.</i> (2006), Espanha	-	<i>T. vulgaris</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG/EM	1,8 cineol (29-36%) acetato de terpenila (18-25%) borneol (4,3-4,6%) linalol (1,57-3,7%) β -pineno (2,3-3,6%) α -terpineol (2,4-3%) cânfora (1,7-2,1%)
JORDÁN <i>et al.</i> (2006), Espanha	-	<i>T. hyemalis</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG/EM	<i>p</i> -cimeno (30-41%) Timol (16-29%) γ -Terpineno (7-12%) Carvacrol (1-1,3%)
HUDAIB <i>et al.</i> (2002), Itália	Planta velha 0,15% (v/m) Planta nova 1,2% (v/m)	<i>T. vulgaris</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG/EM	Timol (19-54%) Carvacrol (1,4-2,6%) <i>p</i> -cimeno (11,6-21,5%) γ -terpineno (1,4-16,8%)
NICKAVAR <i>et al.</i> (2005), Irã	2,4% (v/m)	<i>T. daenensis</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG e CG/EM	Timol (74,7%) <i>p</i> -cimeno (6,5%) β -cariofoleno (3,8%) Metil carvacrol (3,6%).
NICKAVAR <i>et al.</i> (2005), Irã	1,2% (v/m)	<i>T. kotschyanus</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG e CG/EM	Timol (38,6%) Carvacrol (33,9%) γ -terpineno (8,2%) <i>p</i> -cimeno (7,3%).
SANTOS <i>et al.</i> (2005), Portugal	0,1 -1,2% (v/m)	<i>T. caespititius</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG e CG/EM	Carvacrol (41-65%) Timol (35 - 51%) α -terpineol (33-37%)
GUILLÉN e MANZANOS (1998), Espanha	4,0%	<i>T. vulgaris</i>	Folhas	Extração em diclorometano / CG e CG/EM	1,8 cineol Linalol β - pineno Canfeno α -pineno
	2,6%	<i>T. vulgaris</i>	Flores	Extração em diclorometano / CG e CG/EM	Linalol Elemol Nonacosano Trans-cariofileno
	0,5%	<i>T. vulgaris</i>	Hastes	Extração em diclorometano / CG e CG/EM	hexacosanal Nonacosano β -sisterol

Continua

Continuação

AUTORES / PAÍS	RENDIMENTO	ESPÉCIE DE PLANTA	PARTES DA PLANTA	TÉCNICAS UTILIZADAS	% DE COMPOSTOS IDENTIFICADOS
ROUATBI <i>et al.</i> (2007), França	1,7%(v/m)	Não consta	Folhas	Vapor superaquecido / CG	Timol (36,69%) <i>p</i> -cimeno (25,25%) Carvacrol (8,77%)
LOZIENE <i>et al.</i> (2003), Lituânia	-	<i>T. pulegioides</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG e CG-EM	Timol (0,2-26%) Geraniol (0-31%) Carvacrol (1,5-25%) <i>p</i> -cimeno (0,1-16%) γ -terpineno (traços-21,4%) β -cariofileno (5-14%).
OZCAN e CHALCHAT (2004), Turquia	1,57% (v/m).	<i>T. vulgaris</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG e CG-EM	Timol (46,2%) γ -terpineno (14,1%) <i>p</i> -cimeno (9,9%) Linalol (4,0%) Mirceno (3,5%) α -pineno (3,0%) α -tujona (2,8%)
VENSKUTONIS (1997), Lituânia	-	<i>T. vulgaris</i>	Partes aéreas	“headspace” dinâmico e destilação em aparelho de Likens-Nickerson / CG e CG-EM	Timol <i>p</i> -cimeno γ -terpineno Linalol Carvacrol
HEDHILI <i>et al.</i> (2005), Tunísia	-	<i>T. capitatus</i>	Partes aéreas	Hidrodestilação / CG e CG-EM	Carvacrol (53,7%) γ -terpineno (11,6%) <i>p</i> -cimeno (10%)

QUADRO 01 - RESUMO DE ARTIGOS DA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.2.9 Utilização dos Principais Compostos na Indústria

Os principais compostos presentes no óleo essencial de tomilho são o timol e o carvacrol. Os usos dessas substâncias geralmente estão associados à atividade antimicrobiana.

No ano de 1992, o timol foi avaliado pelo Comitê de Especialistas em Substâncias Aromatizantes do Conselho Europeu. Desde então é permitida sua adição em alimentos até um nível de 50 mg/kg e de 10 mg/kg em bebidas

(CARMONA, 2002). No Brasil não há referência na legislação quanto ao uso dessa substância em alimentos.

O timol está presente em óleos essenciais cítricos (0,03-0,1%) utilizados amplamente na indústria de bebidas refrescantes. Além disso, possui uma atividade antioxidante comparável à do BHA (2,6-Bis-(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol), e do BHT ((1,1-dimetiletil)-4-metoxifenol), antioxidantes de sínteses empregados na alimentação e cujo uso é cada vez mais discutido (CARMONA, 2002).

Na Europa, o timol vem sendo usado como aditivo alimentar de ovinos e bovinos, devido ao fato de ser um componente natural da dieta. Portanto, os possíveis resíduos que possam ficar em carnes e derivados, após um tratamento veterinário, não são considerados tóxicos para o homem, uma vez que é rapidamente metabolizado e eliminado quando ingerido. Por esse motivo o timol aparece classificado no Apêndice II da regulamentação europeia N° 2377/90 e não tem um limite máximo de resíduos estabelecido para sua presença em produtos derivados de produções pecuárias (CARMONA, 2002).

Os antioxidantes fenólicos de origem vegetal, categoria em que pode ser incluído o timol, têm sido relacionados recentemente com a baixa mortalidade por problemas cardíacos entre as pessoas que praticam dieta mediterrânea. O timol tem sido usado na medicina humana para o tratamento tópico de problemas dermatológicos, para realizar inalações em pessoas com problemas respiratórios e para o cuidado dos dentes (CARMONA, 2002).

O timol ainda é utilizado num produto chamado Apiguard®, patenteado pela empresa Vita (Europe) Limited (Reino Unido), que é utilizado nas colméias para combater o ácaro varoa. Esse produto apresenta-se na forma de gel, funciona como uma esponja e o tamanho da sua malha aumenta ou diminui em função da temperatura ambiente. Quando a temperatura sobe, a volatilidade do timol aumenta e a malha do gel diminui, controlando assim a libertação do timol.

O timol também está presente na formulação das pastilhas Angino-Rub®, do Laboratório Eurofarma, indicada para processos inflamatórios e dolorosos da boca e garganta. O anti-séptico bucal Listerine, marca da empresa Warner-

Lambert, é uma mistura de componentes de óleos essenciais como timol, mentol, eucaliptol (TORRES, 2000).

Em 2003 na Espanha, foi patenteado um produto à base de timol para ser diluído em água potável, para aliviar, curar ou prevenir doenças causadas pelo *Clostridium sp*, em particular o *Clostridium perfringes*, no trato intestinal de animais como aves e mamíferos. Esse produto leva ainda em sua formulação guaiacol, eugenol e capsaicina.

A Fundação Eroski, também espanhola, sugere que o timol e o carvacrol, presentes em óleos essenciais de algumas plantas de uso medicinal e aromático, poderiam ser empregadas na indústria alimentícia como antibacterianos.

O carvacrol vem sendo estudado como antimicrobiano para a redução da contagem de microorganismos viáveis em kiwi e extensão da fase de latência da flora microbiana natural em melão fresco cortado (SERRANO *et al.*, 2005).

Uma mistura de carvacrol, timol e eugenol (25µL de cada um), foi adicionada em uma gordura estéril e aplicada em embalagens termoseladas com dois tipos de filmes de permeabilidade diferentes contendo uva da variedade Aledo. Os resultados mostraram que as uvas com óleos essenciais sofrem retardos significativos no processo de maturação e com menores perdas de firmeza, acidez e menor perda de cor. A contagem de aeróbios mesófilos foram inferiores nas uvas tratadas, demonstrando que essa mistura de componentes garantiu a segurança do produto sem alterar a qualidade sensorial (VALVERDE *et al.*, 2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAL BOTÂNICO

Foram adquiridos no comércio da cidade de Curitiba – PR, dois quilos de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) seco, sendo um lote de 1Kg em março e outro em outubro de 2007 em estabelecimentos diferentes. Estes dois lotes eram constituídos somente de folhas.

As amostras de planta fresca foram doadas pela CHAMEL Indústria e Comércio de Produtos Naturais Ltda, localizada na cidade de Campo Largo - PR. Imediatamente após a colheita as plantas foram divididas em dois grupos. No primeiro grupo, foram mantidas as hastes, o caule e as folhas, e no segundo trabalhou-se somente com as folhas. Em ambos os grupos as amostras foram homogeneizadas, pesadas e, em seguida, foi efetuada a extração.

A identificação botânica das plantas seca e fresca foi realizada através de comparação com exsicata depositada no Museu Botânico Municipal de Curitiba sob registro N° 218653, efetuada pelo botânico responsável Gerdt Gunther Hatschbach.

3.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO APLICADOS NO TOMILHO

Foram utilizados, neste trabalho, dois métodos de extração; a hidrodestilação e extração em solvente orgânico que serão descritos a seguir.

3.2.1 Extração por hidrodestilação

Foram pesados em triplicata aproximadamente 100g de amostra de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e transferidos para um balão volumétrico ao qual adicionou-se 1 L de água destilada. Acoplou-se ao balão o aparelho de Clevenger, (FIGURA 06) iniciando-se a hidrodestilação. A extração foi efetuada nos tempos de uma, duas e três horas e as amostras de óleo essencial obtidas nos diferentes

tempos de extração foram transferidas para tubos ependorf, levadas ao freezer por no máximo uma semana e posteriormente analisadas pela técnica de cromatografia a gás para a quantificação e cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas, para a identificação dos constituintes.

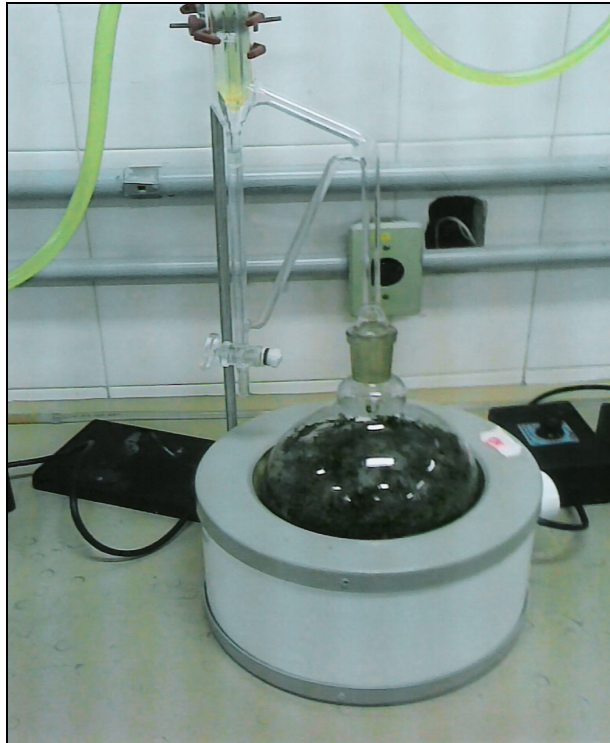


FIGURA 06 – SISTEMA DE HIDRODESTILAÇÃO

FONTE: Autora (2007)

3.2.2 Extração com solvente orgânico

A extração foi realizada em equipamento portátil para operações com gases liquefeitos (FIGURA 07). O solvente utilizado no extrator foi o GLP, composto basicamente por propano, n-butano e isobutano (gás para isqueiro). Amostras de 10,0 gramas de material botânico foram utilizadas para cada extração.



FIGURA 07 - EXTRATOR A GÁS
FONTE: Autora (2008)

O equipamento portátil é constituído de duas partes: corpo A e corpo B (FIGURA 08). O corpo A, construído em aço inoxidável, possui em uma das extremidades uma válvula (1) de alimentação do solvente (gás liqüefeito), 2 conjuntos de telas (2 e 3), para evitar o entupimento da válvula de alimentação do solvente e problemas de bloqueio e/ou entupimento das válvulas posteriores contidas no corpo B (válvulas 6 e 9): a válvula entre os compartimentos de separação (6) e também a válvula (9), que permite a transferência do extrato para o frasco coletor. O corpo B é constituído de duas câmaras (C e D) com partes tubulares de vidro para visualização da operação de separação das fases (aquosa e orgânica). O conjunto formado pelas câmaras C e D comunica-se com o exterior pela válvula 9, possibilitando a transferência do extrato para um frasco coletor (Fc), por uma agulha, sem contato do mesmo com o meio ambiente. A montagem do conjunto é feita momentos antes do processo de extração (aproximadamente 5

min). A estanqueidade do conjunto é assegurada pelo uso de anéis de elastômero de borracha nitrílica (4, 5, 7 e 8), colocados entre cada componente do extrator (tubos de vidro e válvulas). As válvulas, confeccionadas em teflon e aço inoxidável, que em condição de repouso permanecem normalmente fechadas, são operadas pela compressão de um pequeno pino voltado para a parte externa da referida válvula (P' e P'') (OLIVEIRA, 1997 e CUNICO, 2003).

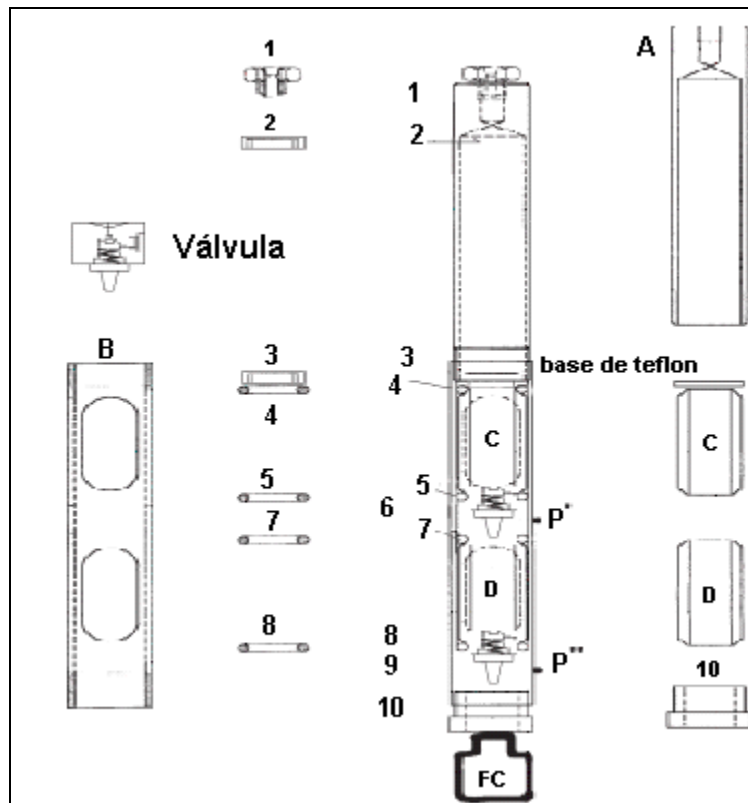


FIGURA 08 – EQUIPAMENTO PORTÁTIL EXTRATOR PARA OPERAÇÕES COM GASES LIQÜEFEITOS

FONTE: CUNICO *et al.*, 2003

A obtenção dos extratos vegetais ocorreu alimentando-se o corpo A do extrator com 10,00g de tomilho (*Thymus Vulgaris* L.). Em seguida, acoplou-se o corpo A ao corpo B, que já havia sido montado previamente. Colocou-se então o extrator na posição vertical e através da válvula superior (1) fez-se a alimentação com o Solvente (GLP), deixando o conjunto extrator permanecer na posição vertical agora, com a base que possui a válvula de alimentação voltada para

baixo, por aproximadamente 30 minutos. Após o tempo de contato entre o solvente e a amostra, deslocou-se o conjunto extrator, deixando-se a parte que contém a válvula de alimentação (1) novamente voltada para cima, para que o extrato percolasse, passando aos compartimentos de vidro, pela simples compressão da válvula (P'). A transferência do extrato no compartimento inferior para um frasco coletor deu-se por meio de uma agulha conectada à base da válvula (9) que, por compressão manual, permitiu a abertura e conseqüente passagem do extrato.

As amostras do extrato obtidas foram posteriormente analisadas para quantificação e identificação dos constituintes.

3.3 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL

O rendimento do óleo essencial foi expresso em % volume/massa, ou seja, volume (mL) de óleo essencial por massa (g) de material vegetal seco (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988; FABROWSKI, 2002). A secagem das amostras de 20g de massa verde foi feita em triplicata em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 65°C até massa constante (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2000).

Após o tempo de extração pré-estabelecido, as amostras foram retiradas do aparelho de Clevenger, separando o óleo essencial da fase aquosa, utilizando-se para tal micropipeta de precisão (100 – 1000 µL) e medindo-se o volume.

3.4 CROMATOGRAFIA A GÁS

O equipamento e as condições operacionais utilizadas para a quantificação dos componentes do óleo essencial de tomilho foram as seguintes: Cromatógrafo gasoso Varian, modelo CP 3800 com detector FID (CG-FID) (FIGURA 09). Utilizou-se coluna capilar Chrompack de sílica fundida CP-SIL 8 CB, 0,25mm de diâmetro interno, 30m de comprimento e 0,25µm de filme líquido. A

temperatura do injetor foi de 250°C, “*split*” 1:200. A quantidade de amostra injetada foi igual a 1,0 µL. O gás de arraste utilizado foi o gás Hélio com a pressão da coluna de 30psi e gás de “*make up*” ar sintético, nitrogênio e hidrogênio. A temperatura do detector FID foi de 300°C com programação de temperatura do forno a temperatura inicial de 60°C e elevação de temperatura a 90°C na razão de 3°C por minuto, permanecendo por 5 minutos; elevação de temperatura a 140°C na razão de 3°C por minuto; elevação de temperatura a 240°C na razão de 30°C por minuto, permanecendo por 5 minutos.



FIGURA 09 – CROMATÓGRAFO A GÁS VARIAN, MODELO CP 3800 COM DETECTOR FID
FONTE: LACAUT- ets (2008)

3.5 ESPECTROMETRIA DE MASSAS

As condições operacionais para aquisição do espectro de massas para a identificação dos constituintes do óleo essencial de tomilho foram as seguintes: Cromatógrafo a gás acoplado a um detector de massas (CG-EM) Varian com íon trap, modelo CP 3.800/Saturn 2000 (FIGURA 10). Utilizou-se coluna capilar Chrompack de sílica fundida CP-SIL 8 CB, 0,25 cm de diâmetro interno, 30m de comprimento e 0,25µm de filme líquido. A temperatura do injetor foi de 250°C, “*split*” 1:300. A quantidade de amostra injetada foi de 0,2 a 0,5µL. O gás de arraste utilizado foi o gás Hélio, 1mL/min constante. A temperatura do “*transfer*

line” foi de 250°C, a temperatura do “*manifold*” foi de 80°C e a temperatura do íon “*trap*” de 150°C. A modulação axial de 4V. A intensidade da ionização foi de 70 eV e o modo de ionização utilizado foi por impacto de elétrons. A programação de temperatura do forno foi com temperatura inicial de 60°C, elevação de temperatura a 90°C na razão de 3°C por minuto permanecendo por 5 minutos; elevação de temperatura a 140°C na razão de 3°C por minuto; elevação de temperatura a 240°C na razão de 30°C por minuto permanecendo por 5 minutos. Tempo total de corrida 40 minutos.

O espectro de massas de cada um dos componentes do óleo essencial de tomilho foi analisado e comparado aos espectros contidos no acervo das bibliotecas Saturn (CG-EM versão 5.51), NIST (98 MS, versão 1.7) e ADAMS, 1995.



FIGURA 10 – CROMATÓGRAFO A GÁS ACOPLADO A UM DETECTOR DE MASSAS

FONTE: LACAUT-ets (2008)

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados obtidos foi efetuada através do Software R Development Core Team (2007), onde foi efetuada análise de variância ANOVA, para a comparação de médias foi utilizado o Teste de Tukey a 5% de probabilidade, sem transformação de dados, utilizando o delineamento

inteiramente casualizado com três repetições quatro diferentes amostras e com três variações de tempo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 UMIDADE

Para facilitar as discussões as plantas serão nomeadas ao decorrer do trabalho da seguinte maneira: a planta fresca com as hastes, o caule e as folhas será chamada de Fresca Haste e a planta fresca somente as folhas será chamada de Fresca Folhas.

A umidade das plantas secas 01 e 02 teve uma pequena variação, em torno de 1,64%, e a umidade das plantas frescas apresentou uma variação de 3,04%, conforme pode ser visto na TABELA 01.

TABELA 01 – PERCENTUAL DE UMIDADE MÉDIA POR TIPO DE AMOSTRA

	AMOSTRAS			
	SECA 01	SECA 02	FRESCA HASTE	FRESCA FOLHAS
UMIDADE (%)	6,99	8,63	55,33	52,29
DESVIO PADRÃO	0,77	0,34	0,46	0,25
CV (%)	0,11	0,04	0,01	0,01

FONTE: Autora (2008)

4.2 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DE ÓLEO ESSENCIAL

O rendimento do óleo essencial de tomilho apresentado na TABELA 02 variou entre 1,04% (mL/100g, base seca) para 1 hora a 1,86% (mL/100g, base seca) para 3 horas na planta fresca haste. Este rendimento está de acordo com a ISO 6754:1996, que especifica a porcentagem mínima de óleos voláteis para o *Thymus vulgaris L.* em 1% (mL/100g, base seca). Usando as partes aéreas das plantas frescas de *Thymus vulgaris L.*, HUDAIB *et al.* (2002) obtiveram um rendimento de 0,15% (v/m) para plantas velhas (5 anos), porém para plantas

novas (2 anos) foi de 1,2% (v/m). OZCAN e CHALCHAT (2004) obtiveram rendimento de 1,57% (v/m) sem mencionar a idade das plantas e nas mesmas condições de ensaio usadas neste trabalho.

Na literatura ainda são citados alguns rendimentos, utilizando vapor superaquecido (ROUATBI *et al.*, 2007), e extração com diclorometano como solvente (GUILLÉN e MANZANOS, 1998), em folhas de tomilho, sendo obtidos rendimentos de 1,7% e 4%, respectivamente. Observa-se com esses resultados a importância da indicação do tipo de extração, da idade da planta e da quantidade de umidade, na obtenção de maior teor de óleo essencial do tomilho.

Observou-se neste estudo que, no final do período de três horas, a taxa de extração do óleo era muito pequena. Sendo assim, não foram testados tempos superiores, apesar do teste de Tukey revelar que o rendimento por horas difere estatisticamente ao nível de 95% de significância para as plantas secas e plantas frescas, conforme apresentado na TABELA 02. Este tempo máximo foi utilizado na literatura (OZCAN e CHALCHAT, 2004) e também levou-se em consideração a significativa redução de custos, pois, ultrapassando este limite de horas, o gasto de água e energia torna a extração mais onerosa.

Quanto ao rendimento por tipo de amostra, o teste de Tukey revelou que para uma hora de extração, as plantas secas 01 e 02 não diferiram estatisticamente ao nível de 95% de significância. Para três horas, não houve diferença significativa entre a planta fresca haste e planta fresca folhas. Observa-se, ainda, que há diferença significativa entre as amostras secas 01 e 02 e as amostras fresca haste e fresca folhas, conforme revela o teste de Tukey com 95% de significância. Avaliando estes dados, pode-se dizer que há indicação da influência do processo de secagem sobre o rendimento do óleo essencial, porém não foi objeto deste estudo conhecer e monitorar as condições de secagem (tempo, temperatura e umidade relativa) empregadas no processamento das amostras.

TABELA 02 - RENDIMENTO MÉDIO POR TIPO DE AMOSTRA EM PORCENTAGEM VOLUME/MASSA

TIPO DE AMOSTRA	TEMPO		
	1 HORA	2 HORAS	3 HORAS
Seca 01	1,35 ^{CB}	1,68 ^{BA}	1,82 ^{AB}

Seca 02	1,38 ^{bB}	1,42 ^{bB}	1,58 ^{aC}
Planta fresca haste	1,04 ^{cC}	1,32 ^{bC}	1,86 ^{aA}
Planta fresca folhas	1,52 ^{cA}	1,68 ^{bA}	1,78 ^{aB}

* Letras minúsculas iguais na horizontal não diferem significativamente quanto ao rendimento por hora pelo teste de Tukey, com 95% de significância.

* Letras maiúsculas iguais na vertical não diferem significativamente quanto ao rendimento por planta pelo teste de Tukey, com 95% de significância.

FONTE: Autora (2008)

4.3 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

4.3.1 Extração por hidrodestilação

Na extração por hidrodestilação tanto para a planta seca quanto para a planta fresca, foram identificados trinta e três compostos, sendo em sua maioria terpenos, álcoois e cetonas, como mostrado nas TABELAS 03 e 04 e detalhado no APÊNDICE 01. Dentre eles, dez compostos apresentaram somente traços: sabineno, éter metil carvacrol, carvotanacetona, eugenol, orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool, γ -cadineno, δ -cadineno, miristicina, espatulenol, α -Muurolol, α -cadinol.

4.3.1.1 Planta seca

Os compostos majoritários identificados para a planta seca foram o borneol (32,12 a 35,14%), seguido do carvacrol (15,24 a 20,62%) e do α -terpineol (10,51 a 12,33%). Percebe-se que o borneol, apesar de apresentar maior concentração na planta seca 01 e 02 quando a extração foi de uma hora (35,14% e 33,74%), não diferiu estatisticamente ao nível de 95% de significância com 2 e 3 horas de extração, conforme revelou o teste de Tukey. A tabela mostra ainda a comparação entre o índice de retenção calculado e o índice de retenção encontrado na literatura, o que permite uma maior confiança nos resultados, a diferença entre os índices de retenção pode ser atribuída a vários fatores, como a

diferença entre equipamentos e a coluna utilizada. Devido a esses fatores, aceita-se a proximidade entre os valores obtidos experimentalmente e da literatura.

TABELA 03 - IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO EXTRAÍDOS POR HIDRODESTILAÇÃO PLANTA SECA

IR	IRL	COMPOSTO	TIPO DE AMOSTRA/ TEMPO DE EXTRAÇÃO / % DE COMPOSTOS						
			Planta Seca 01			Planta Seca 02			
			1 hora	2 horas	3 horas	1 hora	2 horas	3 horas	
1	918	926	Triciclono	0,36	0,12	0,15	0,14	0,15	0,11
2	928	939	α -pineno	1,36	1,56	1,98	3,06	3,35	2,27
3	944	953	Canfeno	2,69	3,10	3,74	5,49	5,93	4,08
4	967	976	Sabineno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
5	973	980	β -pineno	0,31	0,36	0,42	0,62	0,63	0,45
6	984	991	Mirceno	0,14	0,16	0,19	0,25	0,25	0,19
7	1014	1018	α -Terpineno	0,21	0,25	0,29	0,36	0,34	0,27
8	1021	1026	<i>p</i> -Cimeno	0,97	1,15	1,28	2,13	2,30	2,08
9	1025	1031	Limoneno	0,28	0,33	0,38	0,47	0,47	0,36
10	1027	1031	β -felandreno	0,05	0,05	0,06	0,07	0,08	0,06
11	1029	1033	Eucaliptol	0,05	0,06	0,07	0,07	0,07	0,08
12	1054	1062	γ -Terpineno	0,89	1,04	0,17	1,42	1,39	1,07
13	1083	1088	Terpinoleno	0,11	0,13	0,15	0,12	0,17	0,09
14	1099	1098	Linalol	1,97	2,10	1,98	2,21	2,01	1,88
15	1141	1143	Cânfora	0,52	0,51	0,52	0,58	0,54	0,51
16	1167	1165	Borneol	35,14	35,01	33,05	33,74	32,62	32,12
17	1175	1177	Terpin-4-ol	1,47	1,47	1,39	1,51	1,44	1,32
18	1194	1189	α -Terpineol	12,33	12,17	11,90	10,51	11,18	11,53
19	1227	1233	Formato de Isobornila	0,20	0,19	0,19	0,06	0,01	0,01
20	1239	1244	Eter Metil Carvacrol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
21	1245	1246	Carvotanacetona	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
22	1283	1285	Acetato de Bornila	1,59	1,53	1,42	1,46	0,55	0,84
23	1293	1290	Timol	8,37	7,81	7,88	6,88	7,35	8,45
24	1301	1298	Carvacrol	20,62	19,59	18,99	15,24	16,39	18,62
25	1354	1356	Eugenol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
26	1413	1404	Cariofileno	1,87	2,14	2,49	3,30	2,45	2,14
27	1441	*	Orto-metoxi-alfa- alfa-dimetil-benzil- alcool	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
28	1512	1513	γ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
29	1517	1524	δ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr

30	1521	1520	Miristicina	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
31	1578	1576	Espatuleno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
32	1644	1645	α -Muurolo	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
33	1657	1653	α -Cadinol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr

** O teste de Tukey não apresentou diferença significativa ao nível de 95% de significância na concentração dos compostos entre 1, 2 e 3 horas.

NOTA: IR – Índice de retenção; IRL – Índice de Retenção de Literatura Tr – Traços, concentração < 0,001; * - Índice de retenção não encontrado na literatura pesquisada.

FONTE: Autora (2008)

A quantidade de borneol nas amostras de plantas seca 01 e 02 variou de 32,0 a 35,0%. Estudo com plantas secas foi realizado por VENKUSTONIS (1997), utilizando para secagem uma temperatura de 60°C e foi encontrada porcentagem de borneol de 1,2%. Esta diferença pode ser atribuída ao quimiotipo da plantas, bem como as condições de cultivo utilizadas.

A concentração de carvacrol (15,24 a 20,62%) encontrada neste trabalho foi superior em relação ao estudo do VENSKUTONIS (1997), que encontrou 3% deste composto.

A concentração encontrada de α -terpineol (11,18 a 12,33 %) nas plantas seca 01 e seca 02 não foi mencionada em outros trabalhos pesquisados. O timol apresentou uma concentração de 6,88 a 8,45%, estando abaixo da encontrada por VENSKUTONIS (1997), que foi de 48%.

Observou-se que a concentração de cada constituinte se manteve estável durante as três horas de extração, isso significa que o critério de composição química não influencia na decisão técnica de escolha da duração da extração. O mesmo não se pode dizer com relação ao rendimento, pois com o passar do tempo, ocorreu um aumento significativo na quantidade de óleo essencial extraído.

Variações de concentração podem ser consideradas normais devido a condições diferenciadas de cultivo, local de armazenamento e processamento das plantas. No entanto, as amostras de tomilho, apesar de obtidas em diferentes épocas do ano e de diferentes procedências, tiveram um comportamento similar em relação à concentração dos componentes.

4.3.1.2 Planta fresca

Nas plantas frescas (haste e folhas) os compostos majoritários foram o timol, com 54 a 57,5% de concentração para fresca haste, e 50 a 55% de concentração para fresca folhas, seguido pelo *p*-cimeno com 12 a 15%, para fresca haste e 17 a 21% para fresca folhas. O γ -terpineno teve uma concentração de 6 a 7% para a planta fresca haste, e de 5 a 7% para planta fresca folhas, como demonstrado na TABELA 04.

TABELA 04 - IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO EXTRAÍDOS POR HIDRODESTILAÇÃO DA PLANTA FRESCA

IR	IRL	COMPOSTO	TIPO DE AMOSTRA / TEMPO DE EXTRAÇÃO / % DE COMPOSTOS						
			Fresca haste			Fresca Folhas			
			1 hora	2 horas	3 horas	1 hora	2 horas	3 horas	
1	918	926	Triciclono	0,93	0,85	0,39	0,69	0,83	0,43
2	928	939	α -pineno	0,64	0,49	0,25	0,53	0,51	0,27
3	944	953	Canfeno	0,63	0,43	0,28	0,65	0,76	0,58
4	967	976	Sabineno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
5	973	980	β -pineno	0,80	0,88	1,00	1,00	1,48	0,92
6	984	991	Mirceno	1,23	1,09	0,79	1,00	1,45	0,54
7	1014	1018	α -Terpineno	0,45	0,51	0,46	5,64	6,78	5,77
8	1021	1026	<i>p</i> -Cimeno	15,49	12,86	13,92	18,60	21,17	17,92
9	1025	1031	Limoneno	0,31	0,28	0,16	0,29	0,37	0,22
10	1027	1031	β -felandreno	0,10	0,13	0,14	0,08	0,36	0,21
11	1029	1033	Eucaliptol	0,50	0,42	0,34	0,60	0,81	0,49
12	1054	1062	γ -Terpineno	6,90	7,20	6,20	5,64	7,17	5,71
13	1083	1088	Terpinoleno	0,01	0,02	0,03	0,03	0,09	0,05
14	1099	1098	Linalol	1,80	1,74	2,06	2,96	4,10	2,42
15	1141	1143	Cânfora	0,66	0,46	0,55	0,57	0,69	0,35
16	1167	1165	Borneol	1,74	1,59	1,97	2,86	3,40	2,17
17	1175	1177	Terpin-4-ol	0,55	0,60	0,64	0,56	0,56	0,32
18	1194	1189	α -Terpineol	0,27	0,20	0,23	0,32	0,42	0,17
19	1227	1233	Formato de Isobornila	0,15	0,58	1,22	0,18	0,35	0,26
20	1239	1244	Eter Metil Carvacrol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
21	1245	1246	Carvotanacetona	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
22	1283	1285	Acetato de Bornila	0,37	0,44	0,41	0,47	0,51	0,29
23	1293	1290	Timol	54,89	57,58	55,33	50,43	55,25	52,67
24	1301	1298	Carvacrol	3,18	3,43	3,41	3,54	4,01	2,35
25	1354	1356	Eugenol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
26	1413	1404	Cariofileno	1,05	1,46	1,90	0,89	0,88	0,36
27	1441	*	Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
28	1512	1513	γ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
29	1517	1524	δ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
30	1521	1520	Miristicina	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
31	1578	1576	Espatuleno	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr

32	1644	1645	α -Muurolol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
33	1657	1653	α -Cadinol	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr

** O teste de Tukey não apresentou diferença significativa ao nível de 95% de significância na concentração dos compostos entre 1, 2 e 3 horas.

NOTA: IR – Índice de retenção; IRL – Índice de Retenção de Literatura; Tr – Traços, concentração < 0,001; * - Índice de retenção não encontrado na literatura pesquisada.

FONTE: Autora (2008)

O teste de Tukey revelou que não há diferença significativa ao nível de 95% de significância na concentração dos componentes do óleo essencial de tomilho extraído por hidrodestilação em plantas frescas quando se extraiu somente das folhas ou quando foi extraído da planta toda.

A TABELA 04 mostra ainda que a maior concentração de timol obtida foi de 57,5% para duas horas de extração para planta fresca haste. Portanto, a melhor qualidade é obtida da planta fresca haste, não havendo a necessidade de separação das folhas.

O timol é considerado o principal componente do tomilho. Para a indústria, quanto maior a concentração deste composto, maior será a qualidade e o valor do óleo essencial. Na literatura, utilizando as mesmas condições de extração e análise, existem relatos de concentrações máximas de timol entre 31,5% a 54% (HUDAIB *et al.*, 2002 e ATTI-SANTOS *et al.* 2004). A concentração de timol (57%) encontrada está de acordo com a literatura citada e pode-se dizer que o óleo essencial extraído foi de boa qualidade.

O componente *p*-cimeno esteve presente na maioria das amostras pesquisadas citadas na literatura como, por exemplo, no *Thymus vulgaris L.* estudado por HUDAIB *et al.* (2002) foi encontrado 11,6 a 21,5% e ATTI-SANTOS *et al.* (2004), de 17,1 a 34,4%. As concentrações encontradas neste trabalho ficaram entre 12 a 21% estando de acordo com os autores citados. A maior concentração (15,49%) para planta fresca haste foi obtida na extração de 1 hora. Para planta fresca folhas a maior concentração (21,17%) de *p*-cimeno foi obtida em 2 horas.

O QUADRO 02, a seguir, mostra um resumo das concentrações dos componentes majoritários do tomilho encontradas neste trabalho, em amostras de plantas frescas, em relação aos trabalhos encontrados na literatura.

COMPONENTE	CONCENTRAÇÃO		REFERÊNCIA
	(%) PLANTA FRESCA	CONCENTRAÇÃO (%) LITERATURA	
Timol	43,04 a 57,58	46,2 a 54	HUDAIB <i>et al.</i> (2002)
<i>p</i> -cimeno	13,92 a 21,17	11,6 a 21,5	HUDAIB <i>et al.</i> (2002)
γ -terpineno	5,64 a 7,20	1,4 a 16,8	HUDAIB <i>et al.</i> (2002)
Carvacrol	2,35 a 4,01	1,4 a 2,6 e 8,77	HUDAIB <i>et al.</i> (2002), ROUATBI <i>et al.</i> (2007)

QUADRO 02– RESUMO DAS CONCENTRAÇÕES DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DO TOMILHO COMPARADAS COM A LITERATURA
 FONTE: Autora, 2008

4.3.1.3 Comparação entre planta seca e planta fresca

Sendo o timol o componente majoritário do óleo essencial de tomilho extraído das plantas frescas e indicador de qualidade do óleo, percebe-se que há uma perda grande deste composto, aproximadamente 85%. Essa diferença pode ser atribuída não somente ao processo de secagem, mas também às condições de cultivo e ao quimiotipo das plantas utilizadas. A concentração do carvacrol aumentou significativamente nas plantas secas, passando de 4% na planta fresca para 20,6%.

O *p*-cimeno e o γ -terpineno apresentaram o mesmo comportamento observado no timol, diminuindo muito suas concentrações de 21,7% para 0,97% do *p*-cimeno e de 7,2% para 0,89% do γ -terpineno, quando a planta é submetida à secagem. Não houve diferença significativa entre as concentrações extraídas em 1, 2 e 3 horas para ambos os componentes. O γ -terpineno teve sua maior concentração (7,2 e 7,1%) nas plantas frescas com extração de 2 horas.

KOLLER e RAGHAVAN (1995) observaram diferença na concentração de componentes do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris L.*) submetidos à secagem, principalmente em relação ao componente majoritário, o timol. VENSKUTONIS *et al.* (1996) notaram uma redução de 1-3% no conteúdo total de constituintes voláteis após a secagem. A redução destes compostos voláteis, durante a secagem, depende da volatilidade e da estrutura química dos constituintes da planta, segundo o autor. BALLADIN e HEADLEY (1999) perceberam na análise realizada por cromatografia de camada delgada, que a coloração da mancha obtida das plantas submetidas à secagem foi menos intensa que a da planta fresca, indicando perda de qualidade.

Embora para muitas plantas seja necessária a secagem, para o tomilho (*Thymus vulgaris L.*) percebe-se que a qualidade do óleo essencial é melhor quando a extração é feita com a planta fresca. Há um indicativo de que existe influência do processo de secagem sobre a composição do óleo essencial de tomilho e este deverá ser objeto dos próximos trabalhos.

4.3.2 Extração com Solvente

Na extração com solvente foram identificados e quantificados trinta e oito compostos, detalhados no APÊNDICE 01, que variaram a concentração conforme o tipo de amostra, sendo que dezessete deles apresentaram somente traços, ou seja, suas concentrações estiveram abaixo de 0,01%, como descrito na TABELA 05. A tabela mostra ainda a comparação entre o índice de retenção calculado e o índice de retenção encontrado na literatura, permitindo uma maior confiança nos resultados. Para alguns compostos, como o Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool, o 3-Tert BHA e o Lonal 2 não foram encontrados os respectivos índices de retenção na literatura. No material pesquisado não houve relato da presença desses compostos como constituintes do óleo essencial ou do extrato de tomilho. Houve também a presença de um composto desconhecido que apresentou uma concentração de 8%.

Nas plantas frescas os compostos majoritários do extrato de tomilho foram o β -pineno (50,6 e 58%) e o mirceno (20 e 13,7%), para as amostras de plantas, respectivamente, fresca haste e fresca folhas. O teste de Tukey revelou que houve diferença significativa ao nível de 95% de significância entre as plantas fresca haste e fresca folhas para os compostos β -pineno e mirceno. Para as plantas secas 01 e 02, os compostos majoritários foram o carvacrol (29 e 24%), seguido do timol (15%) e do borneol (10 e 8%), conforme descrito na TABELA 05.

TABELA 05 - IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS DO EXTRATO DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.) OBTIDO POR EXTRAÇÃO COM SOLVENTE

IR	IRL	COMPOSTO	TIPO DE AMOSTRA / % COMPOSTOS				
			Fresca Haste	Fresca Folhas	Seca 01	Seca 02	
1	934	939	α -pineno	0,34 ^a	0,61 ^a	0,04 ^b	0,05 ^b
2	951	953	Canfeno	0,63 ^a	0,48 ^a	0,07 ^b	0,04 ^b
3	980	980	β -Pineno	50,61 ^b	58,56 ^a	0,08 ^d	0,15 ^c
4	989	991	Mirceno	20,74 ^a	13,73 ^b	0,05 ^d	0,62 ^c
5	1018	1018	α -Terpineno	0,31 ^a	0,34 ^a	1,41 ^c	3,75 ^c
6	1025	1022	<i>p</i> -Cimeno	4,24 ^a	3,33 ^a	0,16 ^d	0,30 ^c
7	1030	1031	Limoneno	Tr	Tr	Tr	Tr
8	1058	1040	γ -Terpineno	0,21 ^b	0,62 ^a	0,31 ^c	0,31 ^c
9	1101	1098	Linalol	0,31 ^a	0,25 ^a	0,26 ^b	0,32 ^b
10	1174	1165	Borneol	0,14 ^d	0,39 ^c	10,09 ^a	7,93 ^b
11	1183	1177	Terpin-4-ol	0,02 ^c	0,17 ^b	0,23 ^a	0,16 ^b
12	1198	1189	α -Terpineol	0,58 ^a	0,72 ^a	3,42 ^c	4,72 ^c
13	1230	1233	Formato de Isobornila	Tr	Tr	Tr	Tr
14	1286	1285	Acetato de isobornila	Tr	Tr	Tr	Tr
15	1293	1290	Timol	4,98 ^b	3,39 ^b	14,82 ^a	15,33 ^a
16	1301	1298	Carvacrol	2,51 ^c	2,20 ^c	28,95 ^a	24,08 ^b
17	1317	*	Desconhecido 01	0,10 ^c	0,07 ^d	8,15 ^a	7,79 ^a
18	1354	1356	Eugenol	6,56 ^a	5,68 ^a	3,07 ^b	5,19 ^a
19	1399	1399	Tetradecano	0,41 ^b	0,55 ^b	2,74 ^a	3,27 ^a
20	1402	1401	Metil Eugenol	Tr	Tr	Tr	Tr
21	1420	1418	β -Cariofileno	0,54 ^c	0,70 ^a	0,52 ^c	0,61 ^b
22	1441	*	Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool	0,45 ^c	0,30 ^c	5,97 ^a	4,07 ^b
23	1497	1500	Pentadecano	0,24 ^b	0,25 ^b	3,60 ^a	2,88 ^a
24	1500	1512	Hidroxi Tolueno				
			Butilado	Tr	Tr	Tr	Tr
25	1504	*	3-Tert BHA	Tr	Tr	Tr	Tr
26	1512	1513	γ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
27	1517	1524	δ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
28	1521	1520	Miristicina	0,60 ^b	0,66 ^a	0,70 ^a	0,40 ^c
29	1548	1554	Elemicina	Tr	Tr	Tr	Tr
30	1551	*	Lonal-2	Tr	Tr	Tr	Tr
31	1578	1576	Espatuleno	Tr	Tr	Tr	Tr
32	1583	1581	Óxido de Cariofileno	0,23 ^c	0,57 ^b	1,27 ^a	1,05 ^a
33	1599	1600	Hexadecano	Tr	Tr	Tr	Tr
34	1605	1606	β -Oplopenona	Tr	Tr	Tr	Tr

35	1644	1645	α -Muurolol	0,10 ^c	0,26 ^b	1,45 ^a	1,23 ^a
36	1657	1653	α -Cadinol	Tr	Tr	Tr	Tr
37	1699	1700	Heptadecano	Tr	Tr	Tr	Tr
38	1800	1800	Octadecano	Tr	Tr	Tr	Tr

** Letras iguais na horizontal não diferem significativamente pelo teste de Tukey ao nível de 95% de significância.

NOTA: IR – Índice de retenção; URL – Índice de Retenção de Literatura; Tr – Traços < 0,001; * - Índice de retenção não encontrado na literatura pesquisada.

FONTE: Autora (2008)

A alta concentração de β -pineno para plantas frescas pode ter ocorrido devido a diversos fatores ainda não totalmente esclarecidos. Pode ser pelo fato de que este composto é mais volátil e estas amostras não foram submetidas a secagem. O mesmo aconteceu com o mirceno, que apresenta uma concentração superior nas plantas frescas (20,7%) e nas plantas secas sofre uma diminuição considerável para 0,6%. O carvacrol por sua vez apresentou concentração mais alta nas plantas secas (29%). A secagem da planta é, sem dúvida, um fator a ser considerado não somente no óleo essencial, mas também no extrato de tomilho.

Outros fatores a serem considerados são a temperatura de extração e a solubilidade do composto que podem favorecer a formação de compostos que não ocorrem quando a temperatura não é elevada, ou podem não ser extraídos devido às características dos processos e dos solventes.

4.4 CONSTITUINTES OBTIDOS ATRAVÉS DOS DOIS DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

A partir dos componentes extraídos pode-se fazer algumas considerações entre os métodos de extração. Observa-se na TABELA 06 que, para plantas secas, o método de extração com solvente foi favorável à extração dos dois principais componentes de interesse comercial (timol e carvacol). O aumento de concentração foi bastante significativo, chegando a quase dobrar a quantidade do composto, como é o caso do timol. Isto sugere que ocorreu uma melhora na qualidade final do extrato quando comparado ao óleo essencial obtido por hidrodestilação. Porém apareceram diversos outros compostos que não são usuais no óleo essencial, o que pode prejudicar a qualidade final do extrato.

Levando em consideração a quantidade de timol presente nas amostras, pode-se dizer que a qualidade tanto do extrato quanto do óleo essencial

extraído da planta seca é baixa, pois sua concentração não passou de 8,3% no óleo essencial e de 15% no extrato.

A concentração de borneol e de α -Terpineol encontrada na hidrodestilação foi superior à encontrada na extração com solvente, isso pode estar relacionado às condições de extração e características dos solventes usados.

TABELA 06 - CONSTITUINTES DO EXTRATO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO EXTRAÍDOS DA PLANTA SECA

COMPOSTO	MÉTODO DE EXTRAÇÃO / % COMPOSTOS			
	Hidrodestilação		Extração com Solvente	
	Seca 01	Seca 02	Seca 01	Seca 02
Triciclono	0,36	0,14	**	**
α -pineno	1,36	3,06	0,04	0,05
Canfeno	2,69	5,49	0,07	0,04
Sabineno	Tr	Tr	**	**
β -Pineno	0,31	0,62	0,08	0,15
Mirceno	0,14	0,25	0,05	0,62
α -Terpineno	0,21	0,36	1,41	3,75
p -Cimeno	0,97	2,13	0,16	0,30
Limoneno	0,28	0,47	Tr	Tr
β -felandreno	0,05	0,07	**	**
Eucaliptol	0,05	0,07	**	**
γ -Terpineno	0,89	1,42	0,31	0,31
Terpinoleno	0,11	0,12	**	**
Linalol	1,97	2,21	0,26	0,32
Cânfora	0,52	0,58	**	**
Borneol	35,14	33,74	10,09	7,93
Terpin-4-ol	1,47	1,51	0,23	0,16
α -Terpineol	12,33	10,51	3,42	4,72
Formato de Isobornila	0,20	0,06	Tr	Tr
Éter Metil Carvacrol	Tr	Tr	**	**
Carvotanacetona	Tr	Tr	**	**
Acetato de Bornila	1,59	1,46	**	**
Acetato de Isobornila	**	**	Tr	Tr
Timol	8,37	6,88	14,82	15,33
Carvacrol	20,62	15,24	28,95	24,08
Desconhecido 01	**	**	8,15	4,79
Eugenol	Tr	Tr	3,07	5,19
Tetradecano	**	**	2,74	3,27
Metil Eugenol	**	**	Tr	Tr
β -Cariofileno	1,87	3,30	0,52	0,61

Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil- benzil-alcool	Tr	Tr	5,97	4,07
Pentadecano	**	**	3,60	2,88
Hidroxi Tolueno Butilado	**	**	Tr	Tr
3-Tert BHA	**	**	Tr	Tr

Continua
Continuação

COMPOSTO	MÉTODO DE EXTRAÇÃO / % COMPOSTOS			
	Hidrodestilação		Extração com Solvente	
	Seca 01	Seca 02	Seca 01	Seca 02
γ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
δ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
Miristicina	Tr	Tr	0,70	0,40
Elemicina	**	**	Tr	Tr
Lonal-2	**	**	Tr	Tr
Espatulenol	Tr	Tr	Tr	Tr
Óxido de Cariofileno	**	**	1,27	1,05
Hexadecano	**	**	Tr	Tr
β -Oplopenona	**	**	Tr	Tr
α -Muurolol	Tr	Tr	1,45	1,23
α -Cadinol	Tr	Tr	Tr	Tr
Heptadecano	**	**	Tr	Tr
Octadecano	**	**	Tr	Tr
Eugenol	Tr	Tr	3,07	5,19
Tetradecano	**	**	2,74	3,27
Metil Eugenol	**	**	Tr	Tr
β -Cariofileno	1,87	3,30	0,52	0,61
Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil- benzil-alcool	Tr	Tr	5,97	4,07
Pentadecano	**	**	3,60	2,88

NOTA: Tr – Traços < 0,001; ** compostos não encontrados no método de extração.

FONTE: Autora (2008)

Nas plantas frescas, observa-se que o método de hidrodestilação foi mais efetivo na extração do componente de interesse comercial, o timol. A concentração extraída foi bem superior à extração com solvente, conforme mostra a TABELA 07. O carvacrol manteve praticamente a mesma concentração nos dois métodos.

A quantidade de β -Pineno foi maior na extração com solvente que na hidrodestilação. Essa substância, como citado anteriormente, é mais volátil, e

como não houve em momento algum o aumento de temperatura, pois se trata da planta fresca e a extração é feita à temperatura ambiente, preservou-se a presença do β -pineno no extrato. Mas se levarmos em conta a qualidade desse extrato, em termos comerciais, é baixa, já que a quantidade de timol é pequena.

TABELA 07 - COMPOSTOS DO EXTRATO E DO ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO DA PLANTA FRESCA

COMPOSTO	MÉTODO DE EXTRAÇÃO / % COMPOSTOS			
	Hidrodestilação		Extração com Solvente	
	Fresca haste	Fresca Folhas	Fresca haste	Fresca Folhas
Triciclano	0,93	0,69	**	**
α -pineno	0,64	0,53	0,34	0,61
Canfeno	0,63	0,65	0,63	0,48
Sabineno	Tr	Tr	**	**
β -Pineno	0,80	1,00	50,61	58,56
Mirceno	1,23	1,00	20,74	13,73
α -Terpineno	0,45	5,64	0,31	0,34
<i>p</i> -Cimeno	15,49	18,60	4,24	3,33
Limoneno	0,31	0,29	Tr	Tr
β -felandreno	0,10	0,08	**	**
Eucaliptol	0,50	0,60	**	**
γ -Terpineno	6,90	5,64	0,21	0,62
Terpinoleno	0,01	0,03	**	**
Linalol	1,80	2,96	0,31	0,25
Cânfora	0,66	0,57	**	**
Borneol	1,74	2,86	0,14	0,39
Terpin-4-ol	0,55	0,56	0,02	0,17
α -Terpineol	0,27	0,32	0,58	0,72
Formato de Isobornila	0,15	0,18	Tr	Tr
Éter Metil Carvacrol	Tr	Tr	**	**
Carvotanacetona	Tr	Tr	**	**
Acetato de Bornila	0,37	0,47	**	**
Acetato de isobornila	**	**	Tr	Tr
Timol	54,89	50,43	4,98	3,39
Carvacrol	3,18	3,54	2,51	2,20
Desconhecido 01	**	**	0,10	0,07
Eugenol	Tr	Tr	6,56	5,68
Tetradecano	**	**	0,41	0,55
Metil Eugenol	**	**	Tr	Tr
β -Cariofileno	1,05	0,89	0,54	0,70
Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool	Tr	Tr	0,45	0,30
Pentadecano	**	**	0,24	0,25
Hidroxi Tolueno Butilado	**	**	Tr	Tr
3-Tert BHA	**	**	Tr	Tr
γ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
δ -Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr

Miristicina	Tr	Tr	0,60	0,66
Elemicina	**	**	Tr	Tr
Lonal-2	**	**	Tr	Tr
Espatuleno	Tr	Tr	Tr	Tr

Continua

Continuação

COMPOSTO	MÉTODO DE EXTRAÇÃO / % COMPOSTOS			
	Hidrodestilação		Extração com Solvente	
	Fresca haste	Fresca Folhas	Fresca haste	Fresca Folhas
Óxido de Cariofileno	**	**	0,23	0,57
Hexadecano	**	**	Tr	Tr
β-Oplopenona	**	**	Tr	Tr
α-Muurolo	Tr	Tr	0,10	0,26
α-Cadinol	Tr	Tr	Tr	Tr
Heptadecano	**	**	Tr	Tr
Octadecano	**	**	Tr	Tr
Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool	Tr	Tr	0,45	0,30
Pentadecano	**	**	0,24	0,25
Hidroxi Tolueno Butilado	**	**	Tr	Tr
3-Tert BHA	**	**	Tr	Tr
γ-Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
δ-Cadineno	Tr	Tr	Tr	Tr
Miristicina	Tr	Tr	0,60	0,66
Elemicina	**	**	Tr	Tr
Lonal-2	**	**	Tr	Tr
Espatuleno	Tr	Tr	Tr	Tr
Óxido de Cariofileno	**	**	0,23	0,57
Hexadecano	**	**	Tr	Tr
β-Oplopenona	**	**	Tr	Tr

NOTA: Tr – Traços < 0,001; ** compostos não encontrados no método de extração.

FONTE: Autora (2008)

5 CONCLUSÕES

O rendimento do óleo essencial de tomilho obtido por hidrodestilação variou entre 1,04% (mL/100g, base seca) para uma hora a 1,86% (mL/100g, base seca) para três horas na planta fresca haste.

O rendimento do óleo essencial de tomilho obtido por hidrodestilação variou entre 1,35% (mL/100g, base seca) para uma hora a 1,82% (mL/100g, base seca) para três horas na planta seca.

A maior concentração de timol obtida foi de 57,5% para duas horas de extração para planta fresca haste.

Na extração por hidrodestilação foram identificados trinta e três compostos nas plantas secas e frescas, variando somente a concentração. Para as plantas secas os compostos majoritários foram o borneol (32,12 a 35,14%), seguido do carvacrol (15,24 a 20,62%) e do α -terpineol (10,51 a 12,33%). Nas plantas frescas, haste e folhas, os compostos majoritários foram o timol, com 54 a 57,5% de concentração para fresca haste, e 43 a 55% de concentração para fresca folhas, seguido pelo *p*-cimeno com 12 a 15%, para fresca haste e 17 a 21% para fresca folhas. O γ -terpineno teve uma concentração de 6 a 7% para a planta fresca haste, e de 5 a 7% para planta fresca folhas. Portanto, a melhor qualidade é obtida da planta fresca haste, não havendo a necessidade de separação das folhas.

A concentração de cada constituinte na hidrodestilação se manteve estável durante as três horas de extração, isso significa que o critério de composição química não influencia na decisão técnica de escolha do melhor tempo.

Na extração com solvente foram identificados e quantificados trinta e oito compostos, que variaram a concentração conforme o teor de umidade da planta, sendo que dezessete deles apresentaram suas concentrações abaixo de 0,01%. Nas plantas frescas os compostos majoritários do extrato de tomilho foram o β -pineno (50,6 e 58%) e o mirceno (20 e 13,7%) para as amostras fresca haste e fresca folhas respectivamente. Para as plantas secas os compostos majoritários foram o carvacrol (29 e 24%), seguido do timol (15%) e do borneol (10 e 8%). Foram identificados compostos como o Orto-metoxi-alfa-alfa-dimetil-benzil-alcool, 3-Tert BHA e o Lonal 2, que ainda não havia sido relatado na literatura pesquisada.

Na extração com solvente houve a presença de um composto desconhecido que apresentou uma concentração de 5% a 8% para as amostras de plantas secas.

Considerando a concentração do timol como responsável pelo alto valor agregado do óleo de tomilho, as condições que resultaram na sua maior concentração (55%) foram: planta fresca haste com hidrodestilação.

A extração com solvente resultou uma quantidade maior de compostos que a hidrodestilação como, por exemplo, compostos de moléculas mais pesadas como o pentadecano, o heptadecano e o octadecano.

O método de extração com solvente foi mais efetivo na extração de beta-pineno nas plantas frescas.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

1. Caracterizar físico-quimicamente o óleo essencial de tomilho;
2. Analisar outras espécies de tomilho como as já citadas neste trabalho;
3. Estudar detalhadamente o efeito de secagem e qual sua influência na qualidade do óleo essencial;
4. Estudar o uso do óleo essencial de tomilho na indústria alimentícia como potencial aromatizante e antioxidante;
5. Usar outros tipos de solventes como pentano, etanol, diclorometano, hexano para a obtenção do extrato.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P.. **Identification of essential oil components by gás Chromatography Mass Spectroscopy**. Carol Stream, Illinois – USA: Allured Publishing Corporation, 1995.

ATTI-SANTOS, A. C., PANSERA, M. R., PAROUL, N., ATTI-SERAFINI, L., MOYNA, P. Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) from South Brazil. [Journal of Essential Oil Research. Jul/Aug 2004.](#)

BAGAMBOULA, C.F., UYTENDAELE, M., DEBEVERE, J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and *p*-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. **Food Microbiology**. V.21 (1), p.33–42, 2004.

BALLADIN, D. A.; HEADLEY, O. Evaluation of solar dried thyme (*Thymus vulgaris* L.)herbs. **Renewable Energy**. V. 17, p. 523-531, 1999.

BARATA, L. E.S., VILHA, A. M., CARVALHO, R. Mercado de Perfumes e cosmética no Brasil. In: **III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais**, 2005, Campinas: IAC, 2005.

BARITAU, O. *et al.* Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil. Part I. Basil, *Ocimum basilicum* L. **Flavour and Fragrance Journal**. V. 7, p. 267-271, 1992.

BIOMIST. **Breve história das fragrâncias**. Disponível em: <http://www.biomist.com.br>. Acesso em 21/08/2006.

BLANCO, M. C. S. G., SOUZA, M. M. S., BOVI, O., MAIA, N. B.. **O Óleo Essencial**. Disponível em: <http://www.cati.sp.gov.br>. Acesso em 18/09/2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas Agrícolas (BPA) de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Ed. preliminar Brasília: MAPA/SDC, 2006. 48 p.

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 20/06/2007.

BUSATTA, C. **Caracterização Química e Atividade Antimicrobiana *in vitro* e em Alimentos dos Extratos de Orégano e Manjerona**. Erechim, 2006, 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai das Missões.

CARMONA, M., VALERO, A., ZALACAÍN, I., ZALACAÍN, A., SALINAS, M. R. Influencia del Timol en la Puesta de Cría de la Abeja Melífera. **Vida Apícola**, nº 113 maio-junho. V. 299, p. 162, Barcelona, 2002.

CASTRO, L. O.; CHEMALE, V. M. **Plantas medicinais: condimentares e aromáticas**. Guairá: Agropecuária, 1995.194 p.

CIOLA, R. **Introdução à Cromatografia em Fase Gasosa**. São Paulo: Editora Edgard Bucher, 1973.

CROTEAU, R., KUTCHAN, T. M., LEWIS, N. Natural Products (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B., GRUISSEM, W., JONES, R. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. **American Society of Plant Physiologists**. p. 1250-1318, 2000.

CUNICO, M. M., MIGUEL O. G., MIGUEL M. D., CARVALHO J. L. S., MONTRUCCHIO, D. P., FERREIRA J. L. Extração de esteróides em frutos de *ottonia martiana* miq., piperaceae, com gás liquefeito. **Química Nova**. V. 26, Nº 6, p.803-806, 2003.

DAFERERA, D.J., ZIOGAS, B.N., POLISSIOU, M.G. CG/EM analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. **Journal Agriculturae Food Chemistry**. V. 48, p. 2576–2581, 2000.

DEANS, S. G; SVOBODA, K. P. Effects of drying regime on volatile oil and microflora of aromatic plants. **Acta Horticulturae**, n. 306, p. 450-452, 1992.

ECHEVERRIGARAY, G., AGOSTINI, G., TAI-SERFENI, L., PAROUL, N., PAULETTI, G.F., ATTI DOS SANTOS, A.C. Correlation between the chemical and genetic relationships among commercial thyme cultivars. **Journal Agriculturae Food Chemistry**. V. 49, p. 4220 - 4223, 2001.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 4 ed., Council of Europe: Strasbourg Cedex 2002., p. 2028,

FABROWSKI, F.J. *Eucaliptus smithii* R. T. BAKER (Myrtaceae) como espécie

produtora de óleo essencial no sul do Brasil. Curitiba, 2002, 225 f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C.M.O *et al.* Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 263-288.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. São Paulo: Atheneu, 1988.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. V .4.2.3. São Paulo: Atheneu, 2000.

FERNANDES, I. F. **O desempenho do Comércio Exterior Brasileiro de óleos Essenciais.** In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 3 , 2005, Campinas. Campinas: IAC, 2005.

FURLAN, M. R. **Ervas e temperos: cultivo e comercialização.** Cuiabá: SEBRAE/MT, 1998. V. 15, 128 p.

GUENTHER, E. Individual Essential Oils of the plant Family Myrtaceae. In: **The Essential Oils**, 4.ed.V.4. New York: Van Nostrand, 1977.

GUENTHER, E. **The Essential Oils.** New York: Van Nostrand, 1948. V.1.

GUILLÉN M. D.; MANZANOS M. J.. Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymes vulgaris* L. Plant. **Food Chemistry.** V. 63, Nº 3, p. 373-383, 1998.

HUDAIB, M., SPERONI, E., PIETRA, A.M.D., CAVRINI, V. CG/EM evaluation of thyme (*Thymus Vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** V. 29 p. 691–700, 2002.

HEDHILI, L., ROMDHANE M., PLANCHE, H., ABDERRABBA M. Towards gas chromatography–mass spectrometry coupling protocols for both identifying and quantification essential oils of *Thymus capitatus* Hoff et Link. **Journal of Chromatography.** V. 1064, p.129–134, 2005.

HERTWIG, L.F. Von. **Plantas aromáticas e medicinais.** São Paulo: Icone, 1986. p.254-265.

HIGES, M., LLORENTE, J. Ensayo de la eficacia del timol en el control de la varroasis de Apis mellifera en colmenas en produccion. In: **Agricultura Ecológica y Desarrollo Rural.** II Congreso de la Sociedad Espanola de Agricultura Ecológica. Pamplona-Iruna, Setembro, 1996.

ISO. International Standard Organization. **Dried Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Specification**. Número 6754:1996.

JORDAN, M.J., MARTINEZ, R.M., GOODNER, K.L., BALDWIN, E.A., SOTOMAYOR J.A.. Seasonal variation of *Thymus hyemalis* Lange and Spanish *Thymus vulgaris* L. essential oils composition. **Industrial Crops and Products**. V. 24 p.253-263, 2006.

JORDÁN, M.J., MARTÍNEZ, R.M., CASES, M.A., SOTOMAYOR, J.A. Watering level effect on *Thymus hyemalis* Lange essential oil yield and composition. **Journal Agriculture Food Chemistry**. V. 51, p.5420– 5427, 2003.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Curr. Med. Chem**. V. 10, p. 813–829, 2003.

KOLLER, W. D; RAGHAVAN, W. Problems with flavour of herbs and spices. **Frontiers of Flavor**, Amsterdam, p. 123-132, 1995.

LEUNG, A.Y.; FOSTER, S. **Encyclopaedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics**. New York: John Wiley & Sons, 1996, p. 492.

LOZIENE, K., VAICIUNIENE, J., VENSKUTONIS. P. R. Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides*) growing wild in Lithuania. **Biochemical Systematics and Ecology**. V. 31, p. 249–259, 2003.

LORENZO, D., GONZALEZ, G., ROSSINI C. Farmacognosia y Productos Naturales. Contenido del curso teórico, Apostila 04: **Aceites Esenciales**. Universidad de la Republica do Uruguay. Montevideo, 2002, p. 14-18.

LEVIN, D.A. The role of trichomes in plants defense. *The Quarterly Review of Biology*, Baltimore, V. 1, p. 3-15, 1973.

LUQUE, C. M.D., VALCÁRCEL, M., TENA, M. T. **Analytical Supercritical Fluid Extraction**. Springer-Verland: Berlin Heidelberg, 1994.

MARTINS, E.R., CASTRO, D.M., CASTELLANI, D.C., DIAS, J.E. **Plantas Mediciniais**. Viçosa: UFV, 1998. p. 220.

MATTOSO, E. **O Mercado Interno de óleos Essenciais: Desafios e Oportunidades**. In: SIMPOSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, IV , 2007, Fortaleza- CE.

NEWALL, C. A., ANDERSON, L. A., PHILLIPSON, J. D., **Plantas Mediciniais - Guia para profissional de saúde**. Ribeirão Preto-SP: Premier, 2002. 308p.

NICKAVAR, B., MOJAB, F., DOLAT-ABADI R.. Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran. **Food Chemistry**. V. 90, p.609–611, 2005.

NIST 98, Library. Search v. 1.7. Ink: **Database in Saturn and Nist Format**. Curitiba, 2001.

OLIVEIRA, R. B., GODOY, S. A. P., COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto – SP: Editora Holos, 2003. 64p.

OLIVEIRA, J. S. **Avaliação do Emprego de gases liquefeitos no estado subcrítico como solvente para extração de produtos naturais**. Curitiba, 1997, 162 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

OKA, C. ROPERTO A. **Tomilho**. Herbário Aquiléa, Cotia, São Paulo. Disponível em: <http://www.cotianet.com.br/eco/HERB/tomilh.htm>. Acesso em: 29/07/2007.

OZCAN, M., CHALCHAT, J. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. Bulg. **Journal Plant Physiology**. V. 30, p.68-73, 2004.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/USP, 2004. p. 1-10.

PORTE, A., GODOY, R.L.O. Alecrim (*Rosmarinus Officinalis* L.): Propriedades Antimicrobiana e Química do Óleo Essencial. **Boletim CEPPA**. V. 19, n. 2, p. 193-210, jul./dez. 2001.

REIS, M. S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 43-74.

ROBBERS, J.E., SPEEDIE, M.K., TYLER, V.E. **Farmacognosia e farmacobiotechnology**. São Paulo: Premier, 1997. 327p.

ROUATBI, M., DUQUENOY, A., GIAMPAOLI, P. Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam. **Journal of Food Engineering**. V. 78, p.708–714, 2007.

RADÜNZ, L. L., **Efeito da temperatura do ar de secagem no teor e na composição dos óleos essenciais de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) e hortelã-comum (*Mentha x villosa* Huds)**. Viçosa, 2004.90 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Departamento de Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; MARTINS, P. M.; SANTOS, R. H. S.; MACHADO, M. C. Secagem de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) em secador de leito fixo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. V. 5, n. 1, p. 79-82, 2002a.

RADÜNZ, L. L.; MELO, E. C.; BERBERT, P. A.; BARBOSA, L. C. A.; ROCHA, R. P.; GRANDI, A. M. Efeitos da temperatura do ar secagem sobre a qualidade do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). **Revista Brasileira de Armazenamento**. V. 27, n. 2, p. 9-13, 2002b.

SANTOS, P. A. G., BARROSO, J. G., FIGUEIREDO, A. C., PEDRO, L. G., SALGUEIRO, L. R., FONTINHA, S. S., DEANS S. G., SCHEFFER J. J. C.. Chemical polymorphism of populations of *Thymus caespititius* grown on the islands Corvo, Flores, São Miguel and Terceira (Azores) and on Madeira, assessed by analysis of their essential oils. **Plant Science**. V. 169, p.1112–1117, 2005.

SANGWAN N.S., FAROOQI A.H.A., SHABIH F. SANGWAN R.S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**. V. 34, p. 3–21, 2001.

SERRANO M, MARTÍNEZ R., S CASTILLO, F GUILLEN, D VALERO. The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. **Innovative Food Science & Emerging Technology**. V. 6, p.115-123, 2005.

SILVA, F.; CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: Pós-colheita e óleos essenciais**. Viçosa, MG: UFV, 2000.135p.

SIMÕES, CM.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENCKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P. **Farmacognosia: Da planta ao medicamento**. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 1999. p. 387-415.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2003. p. 467-495.

SIMÕES, C.M.O., SCHENCKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A.A., PETROVICK, P.R.. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Florianópolis/Porto Alegre: Editora UFRGS/ Editora UFSC, 2000.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; trad. SANTAREM *et al.* **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TORRES, C.R.G., KUBO, H.C., ANIDO, A.A., RODRIGUES, R. J. Antimicrobial agents and your potential of use in odontology. **Revista da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos**. V.3, n.2, jul./dez., p. 43-52, 2000.

YOU DIM, K.A., DEANS, S.G., FINLAYSON, H.J. The antioxidant properties of thyme (*Thymus zygis* L.) essential oil: an inhibitor of lipid peroxidation and a free radical scavenger. **Journal Essential Oil Research**. V.14 (3), p. 210–215, 2002.

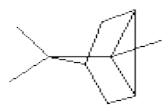
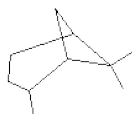
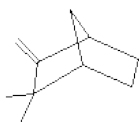
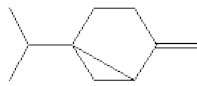
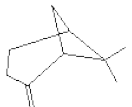
VALVERDE, J.M., GUILLÉN, F., BAILÉN, G., ZAPATA P., CASTILLO, S., SERRANO M., MARTÍNEZ-ROMERO D., VALERO D. Diseño de un envase activo para mantener la calidad y seguridad de uva de mesa. In: **VIII Simposio Nacional y V Ibérico de Maduración y Post-recolección**, Orihuela (Alicante) España, Setembro , 2006.

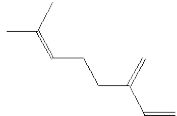
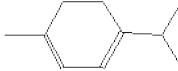

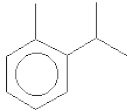
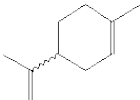
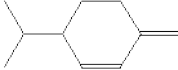
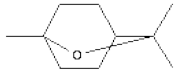
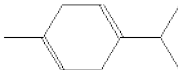
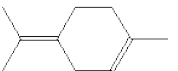
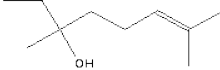
VENSKUTONIS,R.; POLL, L.; LARSEN, M. Influence of Drying and Irradiation on the Composition of Volatile Compounds of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Flavour and Fragrance Journal**. V.11. p. 123 – 128. 1996.

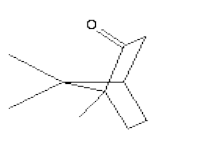
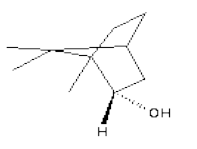
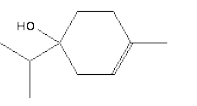
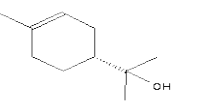
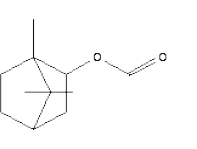
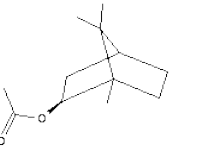
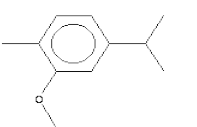
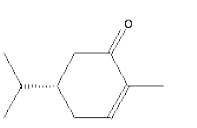
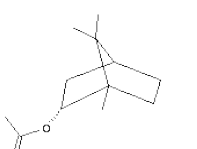
VENSKUTONIS, P.R. Effect of drying on the volatile constituents of thyme (*Thymus vulgaris* L.) And sage (*Salvia officinalis* L.). **Food Chemistry**. V.59, n.2, p.219-277, 1997.

APÊNDICES

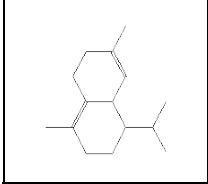
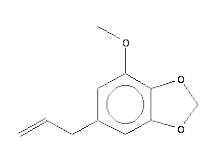
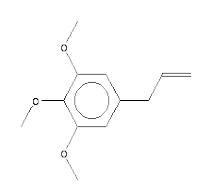
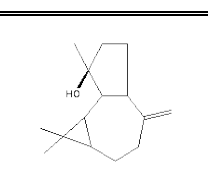
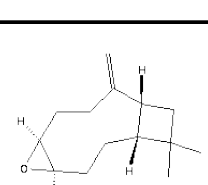
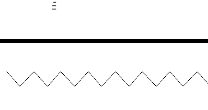
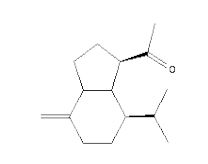
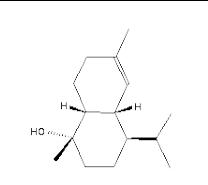
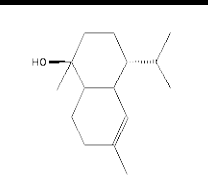
APÊNDICE 01 – COMPOSTOS ENCONTRADOS NAS AMOSTRAS DE TOMILHO (*Thymus vulgaris* L.)



NOME	NOME IUPAC	NÚMERO DE REGISTRO CAS	FÓRMULA	MASSA MOLAR	ESTRUTURA QUÍMICA
Triciclano	Tricyclo[2.2.1.0 ^{2,6}]heptane, 1,7,7-trimethyl	508-32-7	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
α- pineno	Bicyclo[3.1.1]heptane, 2,6,6-trimethyl	473-55-2	C ₁₀ H ₁₈	138.25	
Canfeno	Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene	79-92-5	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
Sabineno	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)	3387-41-5	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
β-pineno	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene	127-91-3	C ₁₀ H ₁₆	136.23	

Mirceno	1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene	123-35-3	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
α- Terpineno	1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	99-86-5	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
p-Cimeno	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	99-87-6	C ₁₀ H ₁₄	134.22	
σ-Cimeno	1-Methyl-2-isopropylbenzene	527-84-4	C ₁₀ H ₁₄	134.22	
Limoneno	1-methyl-4-(1-methylethenyl)	138-86-3	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
β-felandreno	Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)	555-10-2	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
Eucaliptol	2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl	470-82-6	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	
γ-Terpineno	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
Terpinoleno	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)	586-62-9	C ₁₀ H ₁₆	136.23	
Linalol	2,6-Dimethylocta-2,7-dien-6-ol	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	

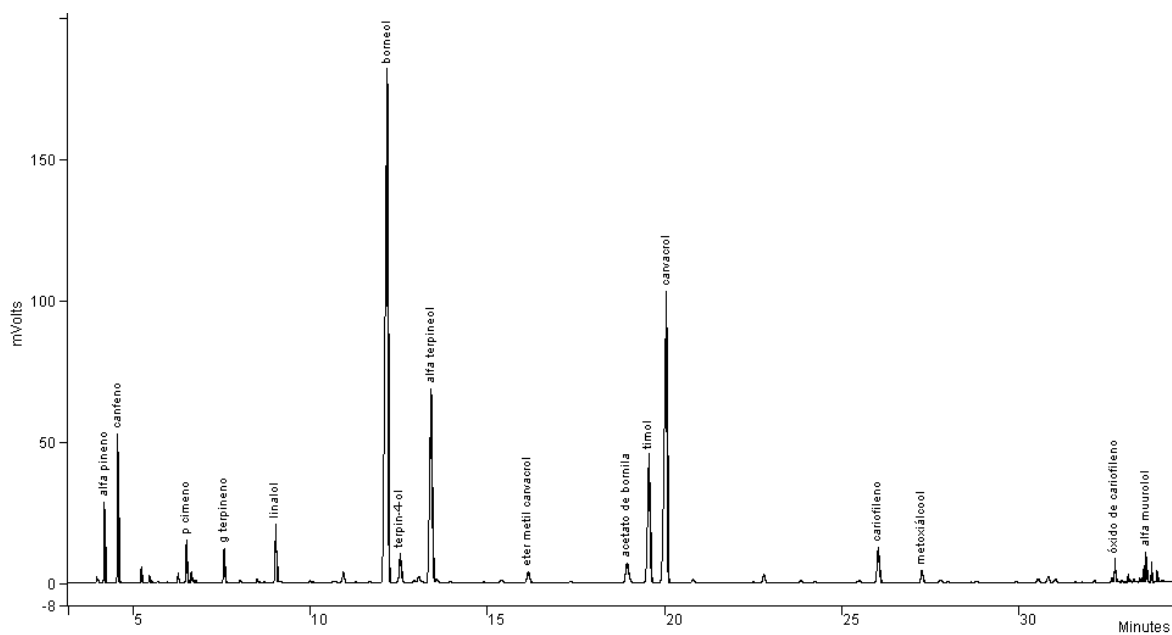
Cânfora	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl	76-22-2	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	
Borneol	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-	507-70-0	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	
Terpin-4-ol	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)	562-74-3	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	
α- Terpeneol	3-Cyclohexene-1-methanol, α,α4-trimethyl	98-55-5	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	
Formato de Isobornila	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, formate, exo	1200-67-5	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182.26	
Acetato de isobornila	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, exo	125-12-2	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.29	
Eter Metil Carvacrol	Carvacrol methyl ether	6379-73-3	C ₁₁ H ₁₆ O	164.24	
Carvotanacetona	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (S)	499-71-8	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	
Acetato de Bornila	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, endo	76-49-3	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.29	

Timol	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)	89-83-8	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	
Carvacrol	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)	499-75-2	C ₁₀ H ₁₄ O	150.22	
Eugenol	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-; Phenol, 4-allyl-2-methoxy	97-53-0	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.20	
Tetradecano	n-Tetradecane	629-59-4	C ₁₄ H ₃₀	198.39	
Metil Eugenol	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)	93-15-2	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178.23	
Cariofileno	4,11,11-Trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	118-65-0	C ₁₅ H ₂₄	204.35	
β-Cariofileno	Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene	87-44-5	C ₁₅ H ₂₄	204.35	
Pentadecano	n-Pentadecane	629-62-9	C ₁₅ H ₃₂	212.41	
Hidroxi Tolueno Butilado	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl	128-37-0	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	
γ-Cadineno	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1α,4aβ,8aα)	39029-41-9	C ₁₅ H ₂₄	204.35	

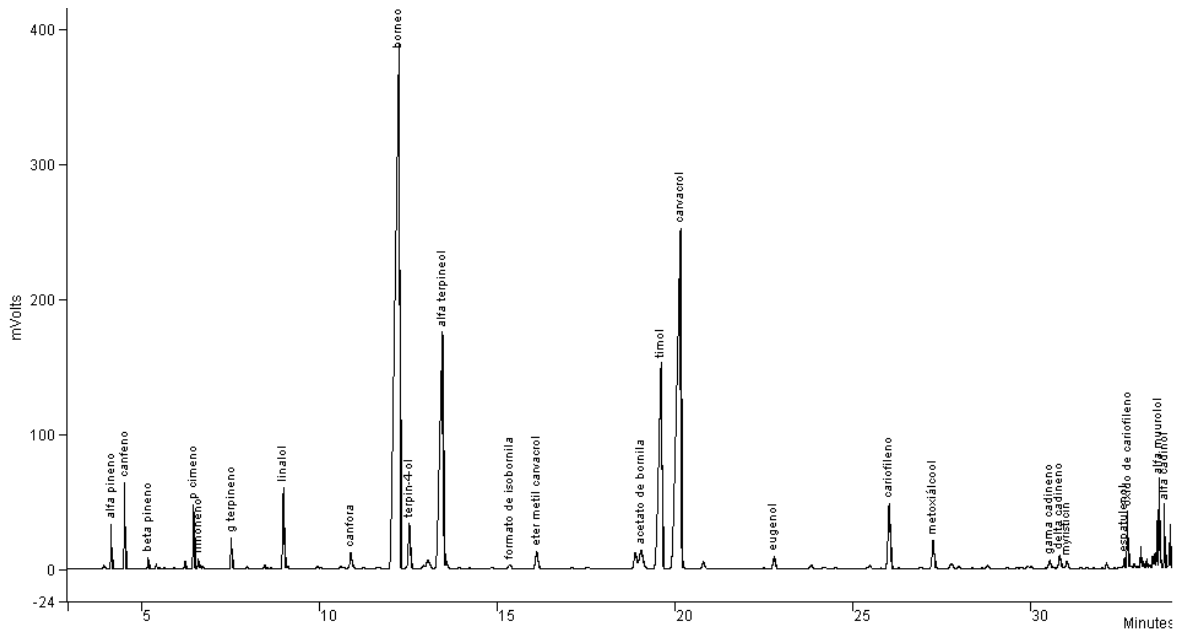
δ -Cadineno	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)	483-76-1	C ₁₅ H ₂₄	204.35	
Miristicina	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-	607-91-0	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	192.21	
Elemicina	1,2,3-Trimethoxy-5-[2-propenyl]-benzene	487-11-6	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208.25	
Spatulenol	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1a α ,4a α ,7 β ,7a β ,7b α]	6750-60-3	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	
Óxido de Cariofileno	5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane, 4,12,12-trimethyl-9-methylene-	1139-30-6	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	
Hexadecano	n-Hexadecane	544-76-3	C ₁₆ H ₃₄	226.44	
β -Oplopenona	β -Oplopenone	28305-60-4	C ₁₅ H ₂₄ O	220.35	
α -Muurolol	1-Naphthalenol, 1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	19435-97-3	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	
α -Cadinol	4-Isopropyl-1,6-dimethyl-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-1-naphthalenol	481-34-5	C ₁₅ H ₂₆ O	222.37	

Heptadecano	n-Heptadecane	629-78-7	C ₁₇ H ₃₆	240.47	
Octadecano	Octadecane	593-45-3	C ₁₈ H ₃₈	254.49	

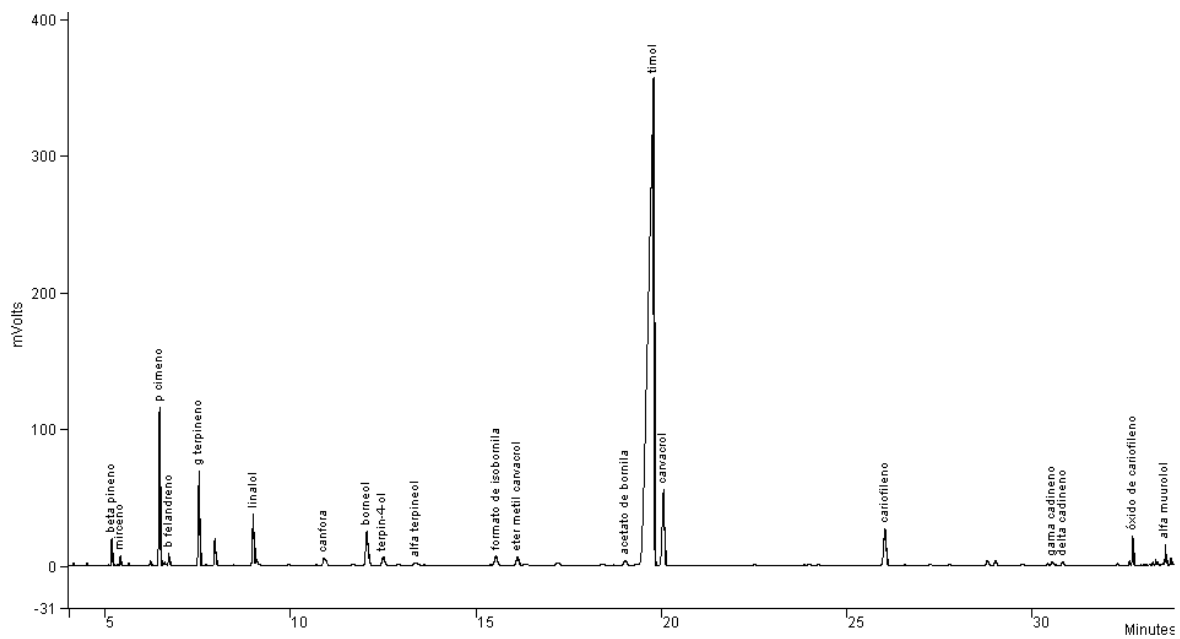
APÊNDICE 02 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DA PLANTA SECA 01 POR
HIDRODESTILAÇÃO



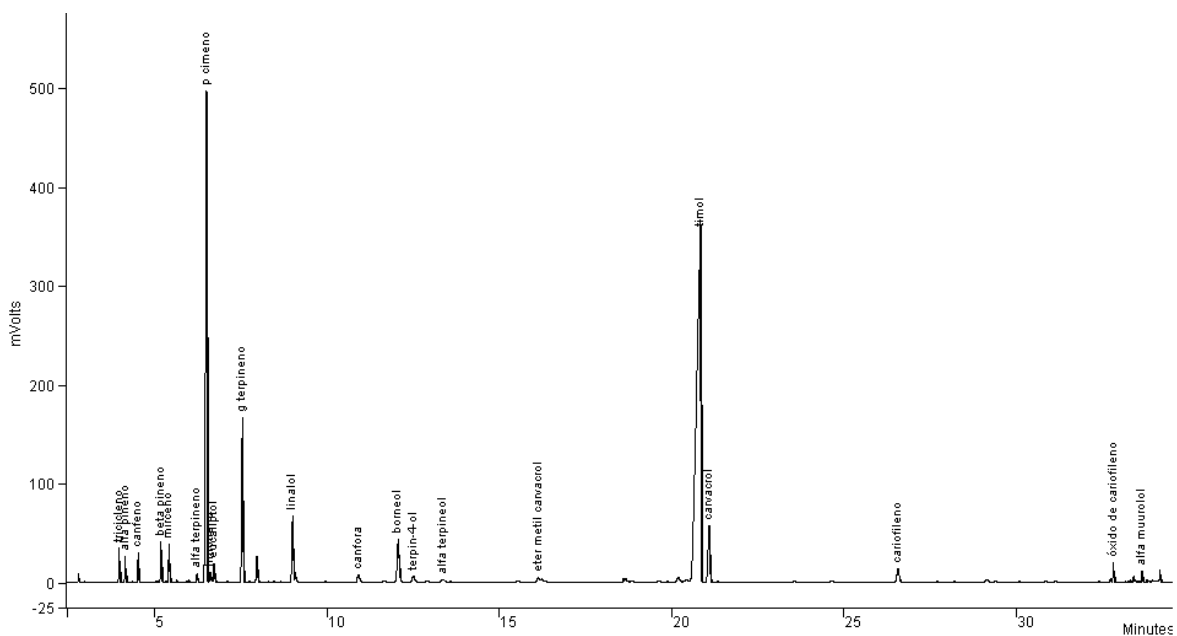
APÊNDICE 03 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DA PLANTA SECA 02 POR
HIDRODESTILAÇÃO



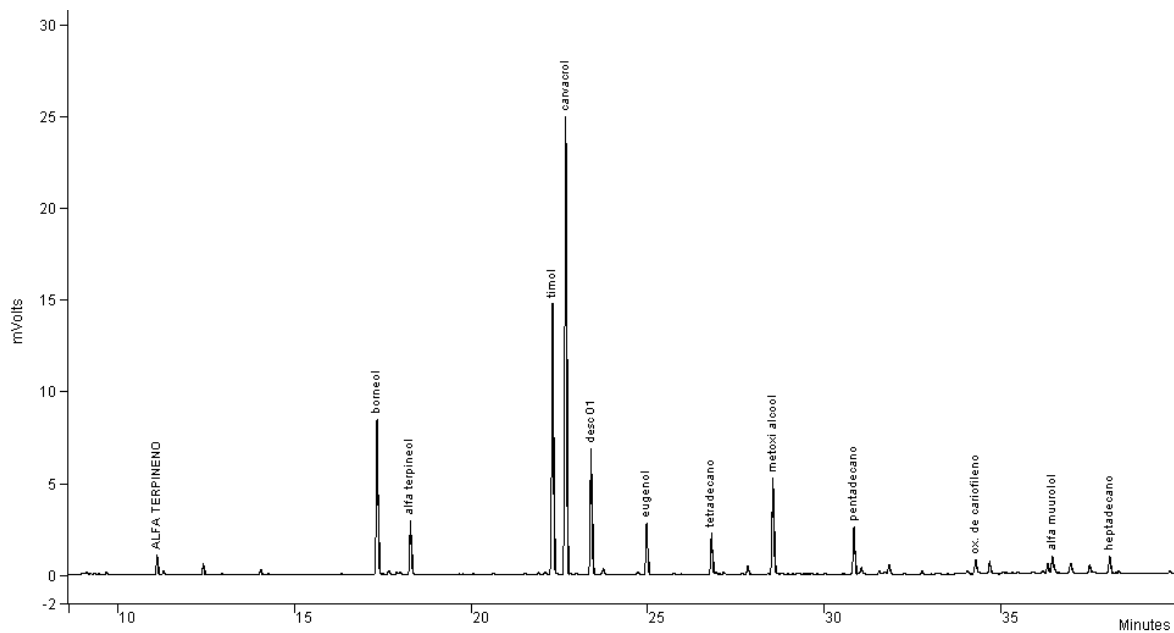
APÊNDICE 04 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DA PLANTA FRESCA HASTE POR HIDRODESTILAÇÃO



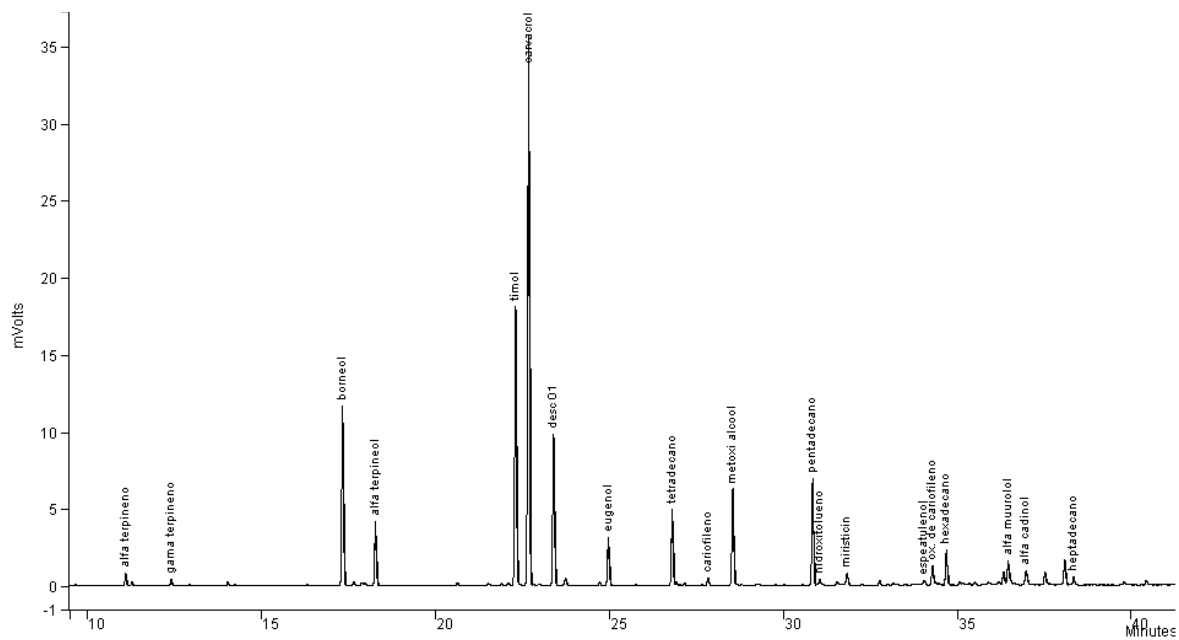
APÊNDICE 05 – CROMATOGRAMA DA AMOSTRA DA PLANTA FRESCA FOLHAS POR HIDRODESTILAÇÃO



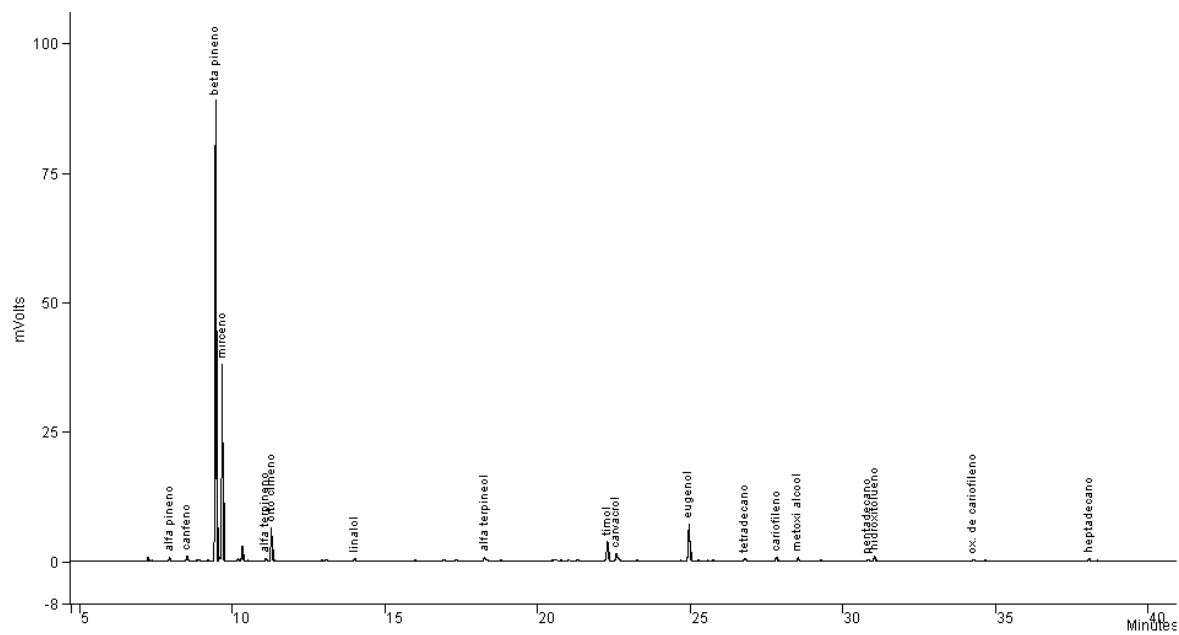
APÊNDICE 06 - CROMATOGRAMA DA PLANTA SECA 01 EXTRAÇÃO A GÁS



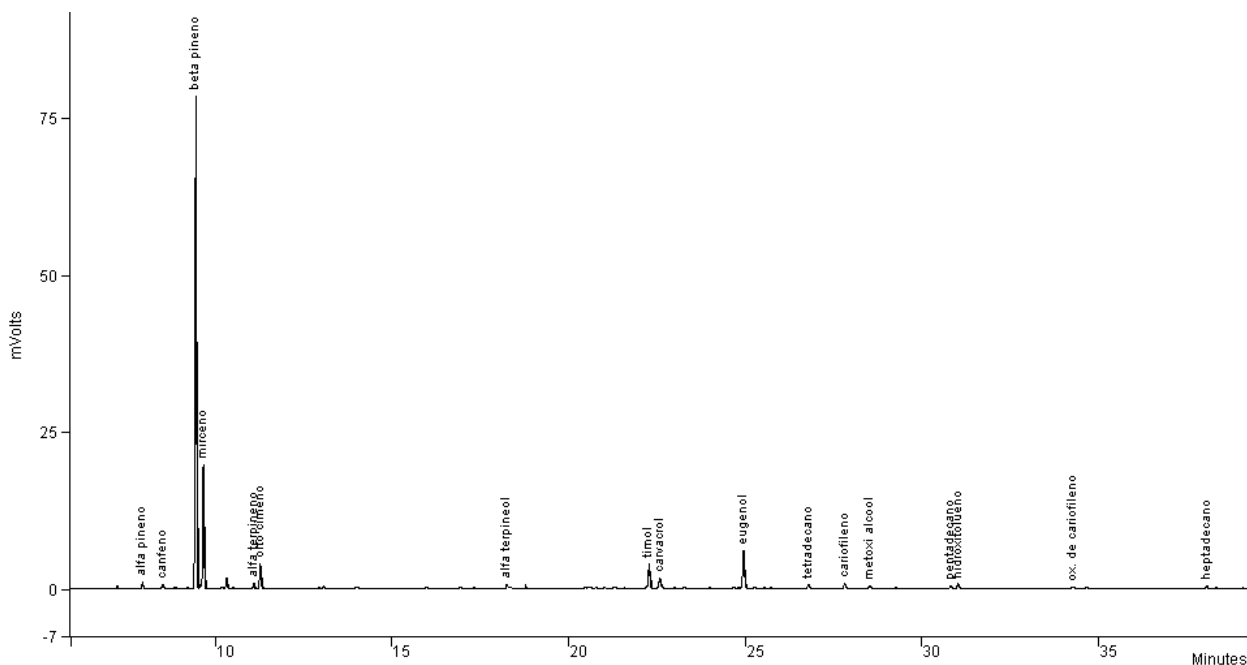
APÊNDICE 07 - CROMATOGRAMA DA PLANTA SECA 02 EXTRAÇÃO A GÁS



APÊNDICE 08 - CROMATOGRAMA DA PLANTA FRESCA HASTE EXTRAÇÃO A GÁS



APÊNDICE 09 - CROMATOGRAMA DA PLANTA FRESCA FOLHAS EXTRAÇÃO A GÁS



APÊNDICE 10 – CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO TOMILHO

NOME	DENSIDADE g/cm ³	PONTO DE EBULIÇÃO	PONTO DE FUSÃO	ÍNDICE DE REFRAÇÃO	SOLUBILIDADE
Timol	0.96	232 °C	50 °C	-	Solúvel em etanol a 80°C
Carvacrol	0,98	237 °C	0°C	1,5260	Insolúvel em água
Borneol	1.011		208 °C		Insolúvel em água
α-pineno	0,86	156 °C	-55 °C	1,4670	Insolúvel em água
Mirceno	0.794	165 °C		1,4720	Solúvel em etanol 90%
α-terpineol	0.9338	219 °C	39 °C	1,4850	Insolúvel em água
α-terpineno	0.8375	174 °C	61°C	1,4790	Insolúvel em água
p-Cimeno	0.857	177 °C	-68 °C	1,4920	Solúvel em álcool 90%