

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

Xavier Maia Mariano

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
AMOSTRAS COMERCIAIS DE BOLDO-DO-CHILE (*Peumus boldus* Molina)**

Rio de Janeiro
2015

Xavier Maia Mariano

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
AMOSTRAS COMERCIAIS DE BOLDO-DO-CHILE (*Peumus boldus* Molina)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Alimentos e Nutrição, da
Universidade Federal do Estado do Rio de
Janeiro, como requisito para obtenção do título
de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira

Rio de Janeiro
2015

M333 Mariano, Xavier Maia.
Avaliação da composição química do óleo essencial de amostras comerciais de boldo-do-chile (*Peumus boldus Molina*) / Xavier Maia Mariano, 2015.
53 f. ; 30 cm

Orientador: Ricardo Felipe Alves Moreira.
Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

1. Boldo – Composição. 2. Óleos Voláteis. 3. Ações Farmacológicas. I. Moreira, Ricardo Felipes Alves. II. Universidade Federal do Estado do Rio Janeiro. Centro de Ciências Biológicas e de Saúde. Curso de Mestrado em Alimentos e Nutrição. III. Título.

CDD – 615.321

Xavier Maia Mariano

**AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
AMOSTRAS COMERCIAIS DE BOLDO-DO-CHILE (*Peumus boldus* Molina)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Alimentos e
Nutrição da Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro.

Aprovado em: ____ / ____ / ____

Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – PPGAN – UNIRIO

Prof. Dr. Alexandre Porte
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – PPGAN – UNIRIO

Prof. Dr. Cristiane Barbosa Rocha
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – DCF – I.B. – UNIRIO

Dedico este trabalho à minha família e amigos, em especial a minha adorada filha, Priscila Mariano.

A CNPq pelo apoio financeiro que contribuiu para o desenvolvimento deste projeto.

A minha família por todo amor, força e paciência dedicados a mim ao longo da vida.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Felipe Alves Moreira, grande orientador, excelente metodólogo e paciente amigo, que suportou minhas crises e indefinições e apostou em mim.

A coordenadora do programa, Prof. Dra. Édira castello Branco de Andrade Gonçalves.

As minhas colegas do curso, em especial a Iara e Laise.

Aos amigos, Francis, Gudo, Brazão por me acompanharem neste percurso.

A Maria Geny, pelo carinho, amor e companherismo.

A todos os profissionais da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro que de alguma forma contribuíram para minha formação acadêmica, para que hoje eu esteja concluindo mais esta etapa.

RESUMO

O boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) é uma planta nativa das regiões central e sul do Chile, pertencente à família Monimiaceae. Essa erva é amplamente consumida no Brasil e em diversos outros países do mundo em função do seu amplo espectro de efeitos farmacológicos: ações colagoga, antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana, antifúngica, anti-helmíntica e diurética. Essas propriedades farmacológicas e alguns de seus efeitos tóxicos estão, obviamente, associados à composição química de suas folhas. Nesse aspecto, os componentes do óleo essencial dessas folhas figuram entre os principais princípios ativos dessa erva. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a composição química dos óleos essenciais de amostras de boldo-do-chile comercializadas na cidade do Rio de Janeiro sob a forma de sachês (grupo 1) ou de sacos plásticos (grupo 2), usando a hidrodestilação e técnicas cromatográficas. Cinquenta e cinco (55) compostos foram identificados como componentes desses óleos essenciais. Os compostos *cis*- β -ocimeno, δ -cadineno, palustrol, epóxido de isoaromadendreno, santalol e isolongifolol foram indicados pela primeira vez como constituintes desse tipo de matriz. O perfil químico dos óleos essenciais provenientes do grupo 1 mostrou-se qualitativamente e quantitativamente muito semelhante ao dos óleos essenciais oriundos das amostras do grupo 2. Essa semelhança de perfil químico entre esses óleos essenciais pode indicar uma única origem para as plantas utilizadas na produção dessas amostras comerciais. A presença (em concentrações elevadas) de três importantes marcadores químicos de óleos essenciais de boldo-do-chile (ascaridol, 1,8-cineol e *p*-cimeno) sugere que as amostras analisadas não são fraudadas. O 1,8-cineol, *p*-cimeno e o terpinen-4-ol possuem potencial para serem caracterizados como compostos de odor ativo nessas amostras.

Palavras-chave: boldo-do-chile, óleos essenciais, frações volátil e semi-volátil, propriedades farmacológicas.

ABSTRACT

The “boldo-do-chile” (*Peumus boldus* Molina) is a native plant of the central and southern regions of the Chile. This plant belongs to the Monimiaceae family. This herb is widely consumed in Brazil and in several other countries of the world due to its broad spectrum of pharmacological effects: colagogue, antioxidant, anti-inflammatory, hepatoprotective, antimicrobial, antifungal, anthelmintic and diuretic actions. These pharmacological properties and some of its toxic effects are obviously associated with the chemical composition of its leaves. In this respect, the essential oil components of these leaves are among the main active ingredients of this herb. Thus, the aim of this study was to evaluate the chemical composition of the essential oils of “boldo-do-chile” samples that were sold in the Rio de Janeiro city packed on sachets (group 1) or plastic bags (group 2), using hydrodistillation and chromatographic techniques. Fifty-five (55) compounds have been identified as components of these essential oils. The *cis*- β -ocimene, δ -cadinene, palustrol, isoaromadendrene epoxide, santalol and isolongifolol were identified by the first time as boldo-do-chile components. The chemical profile of the essential oils obtained from the samples of group 1 was qualitatively and quantitatively very similar to the profile of the essential oils coming from the samples of group 2. This similarity between their chemical profiles may indicate a single source for the plants used to produce such commercial samples. The presence (in high concentrations) of three important chemical markers of the “boldo-do-chile” essential oils (ascaridole, 1,8-cineole and *p*-cymene) suggests that the samples are genuine. 1,8-Cineole, *p*-cymene and terpinen-4-ol could be characterized as odor active compounds in these samples.

Keywords: boldo-do-chile, essential oils, volatile and semi-volatile fractions, pharmacological properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Distribuição percentual dos compostos pertencentes às frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile entre os grupos terpênico e não-terpênico.	_____	20
Figura 2- Distribuição percentual dos compostos terpênicos presentes nas frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile em 4 subclasses: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados.	_____	21
Figura 3- Constituintes majoritários do óleo essencial das folhas de boldo-do-chile.	_____	21
Figura 4- Distribuição percentual dos compostos identificados nos óleos essenciais das amostras comerciais de boldo-do-chile da cidade do Rio de Janeiro.	_____	32
Figura 5- Distribuição percentual dos compostos terpênicos identificados nos óleos essenciais das amostras comerciais de boldo-do-chile da cidade do Rio de Janeiro em 5 subclasses: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados e diterpeno oxigenado.	_____	33

Tabela 1 - Composição química das frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile.	_____	18
Tabela 2 - Características dos principais compostos terpênicos pertencentes às frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile.	_____	27
Tabela 3 - Compostos voláteis e semi-voláteis identificados nos óleos essenciais provenientes das amostras de <i>Peumus boldus</i> Molina vendidas na cidade do Rio de Janeiro sob a forma de caixas contendo sachês (grupo 1).	_____	36
Tabela 4 - Compostos voláteis e semi-voláteis identificados nos óleos essenciais provenientes das amostras de <i>Peumus boldus</i> Molina vendidas na cidade do Rio de Janeiro em sacos plásticos (grupo 2).	_____	38
Tabela 5 - Comparação entre os grupos 1 (caixas com sachês) e 2 (sacos plásticos).	_____	40

LISTA DE ABREVIATURAS

ADEA	Análise da Diluição do Extrato e Aroma
CG/DIC	Cromatografia gasosa com Detector de Ionização em Chamas
CG/EM	Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas
DL₅₀	Dose letal mediana
DPOC	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
eV	Elétron- volts
IK	Índice de Kovatz
IL-1β	Interleucina-1 β
OIS	Odor Impact Spectrum
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
SUS	Sistema Único de Saúde
TNF-α	Tumor Necrosis Factor α / Fator de Necrose Tumoral α
Tr	Traço
VOA	Valor de Odor Ativo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	14
2.1- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. REVISÃO DA LITERATURA	15
3.1- FRAÇÕES VOLÁTIL E SEMI-VOLÁTIL DO BOLDO-DO-CHILE	15
3.1.1- Estado da Arte	15
3.1.2- Composição Global	17
3.1.3- Compostos Terpênicos	20
3.1.4- Compostos Não-terpênicos	28
3.2 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A REVISÃO DA LITERATURA	28
4. METODOLOGIA	29
4.1-AMOSTRAS	29
4.2-MATERIAIS	30
4.3- ISOLAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS AMOSTRAS DE BOLDO-DO-CHILE	30
4.4-CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO EM CHAMA (CG/DIC)	30
4.5-CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG/EM)	31
4.6- ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

O boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) é nativo das regiões central e sul do Chile. É uma planta arbustiva dióica que atinge na maioria das vezes de 2 a 3 metros de altura. Foi descrita botanicamente pela primeira vez por Abbe Molina há dois séculos atrás (SPEISKY & CASSELS, 1994). Suas folhas, parte mais utilizada pelos seres humanos, possuem cor verde acinzentada com presença de glândulas ricas em um óleo essencial que apresenta um odor marcante que lembra cânfora. Possui flores de cor branca ou amarela e fruto carnoso (com apenas uma semente) pouco consumido no Brasil. Essa planta se adapta preferencialmente em solos pedregosos, com pouca umidade e altitude podendo chegar a 1.500 metros, por esta razão seu cultivo é mais difundido em países como o próprio Chile, Itália e Marrocos (RUIZ et al., 2008). O boldo-do-chile está incluído entre as espécies de ervas medicinais mais utilizadas pela população mundial. O Chile é o maior exportador mundial de folhas secas dessa espécie de boldo (*Peumus boldus* Molina), com cerca de 2.000 toneladas desse produto sendo enviadas anualmente para outros países (VOGEL et al., 2011), dentre os quais podemos destacar: Argentina, Brasil, Itália, França e Alemanha (SPEISKY & CASSELS, 1994; VOGEL et al., 2011). Além disso, há mais de 60 produtos farmacêuticos registrados em diferentes países que contêm pequenas quantidades de constituintes do boldo (SPEISKY & CASSELS, 1994). O nome "boldo" ou "boldu" é presumivelmente derivado da palavra indígena Mapuche "weltum" (a brotar de novo) ou "volitum" (para colocar novas raízes), devido à sua grande capacidade de rebrotar (O'BRIEN et al., 2006). No Brasil são reconhecidas seis principais espécies vegetais com esse nome (boldo): boldo grande (*Plectranthus grandis*), falso boldo ou boldo brasileiro (*Plectranthus barbatus*), boldo gambá (*Plectranthus neochilus*), boldo miúdo (*Plectranthus amboinicus*), boldo baiano (*Vernonia condensata*) e boldo-do-chile (*Peumus boldus* molina). Os quatro primeiros pertencem ao gênero *Plectranthus* da família Lamiaceae (BANDEIRA et al., 2011), o quinto (boldo baiano) pertence à família Asteraceae e o último (boldo-do-chile) pertence à família Monimiaceae. O boldo-do-chile foi o primeiro boldo a constar na Farmacopéia Brasileira (primeira farmacopéia de 1929) (BRANDÃO et al., 2006). O amplo consumo desta espécie no Brasil acarretou sua inclusão na lista do RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS), que é constituída de espécies vegetais com potencial para o desenvolvimento da cadeia produtiva a fim de gerar produtos de interesse ao SUS (Sistema Único de Saúde). Esta inclusão deveu-se a pesquisas feitas anteriormente por técnicos da ANVISA e do Ministério da Saúde em diferentes regiões brasileiras que apontaram esta

espécie vegetal como uma das mais comumente consumidas pela população (BRASIL, 2008). De acordo com a ANVISA, até 2006 estavam registradas 12 preparações simples de *Peumus boldus molina* no mercado brasileiro (SCHWANZ, 2006). Essas preparações são comercializadas na forma de extratos fluidos, tinturas, cápsulas e material particulado embalado em sachês ou sacos plásticos para a confecção de chás (QUEZADA et al., 2004; RIVOLI, 2007). Na prática da medicina tradicional chilena, acredita-se que a mais antiga indicação farmacológica para o uso do boldo estaria associada ao tratamento do reumatismo pelo povo indígena que habitava aquela região anos antes da chegada dos espanhóis (SPEISKY & CASSELS, 1994). Atualmente, a essa erva são atribuídas um amplo espectro de efeitos farmacológicos, por exemplo: ações colagoga, antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana, antifúngica, anti-helmíntica e diurética. Por conta disso, essa erva é usada para o tratamento de litíase biliar, congestão hepática, insuficiência hepática, inflamações do trato urinário, manifestações reumáticas e para estimular a digestão, sendo que os distúrbios digestivo e hepatobiliar representam os principais alvos de sua ação (SPEISKY & CASSELS, 1994; MELO et al., 2004; QUEZADA et al., 2004; RUIZ et al., 2008; MORAIS et al., 2005). As supracitadas propriedades farmacológicas estão, obviamente, associadas à composição química das folhas do boldo. Os princípios ativos mais importantes contidos nas folhas do boldo-do-chile incluem os alcalóides e flavonóides (compostos não-voláteis) e, também, os componentes de seu óleo essencial (compostos voláteis e semi-voláteis). O teor de alcalóides totais nas folhas de boldo-do-chile pode variar consideravelmente em função do procedimento de extração, do método de análise empregado e de outros parâmetros como, por exemplo, período de colheita, condições climáticas, disponibilidade hídrica, etc. Dessa forma, o teor de alcalóides totais das folhas dessa planta é descrito na literatura dentro da faixa de concentração de 0,06% até 2,8% (PIETTA et al., 1988; SPEISKY & CASSELS, 1994; GOTTELAND et al., 1995; SCHMEDA-HIRSCHMANN et al., 2003; QUEZADA et al., 2004). Esses valores são expressos em referência à boldina que é considerada normalmente o principal componente da fração alcalóide das folhas de boldo, sendo responsável por 12-19 % do teor total de alcalóides dessa matriz. Um resultado diferente foi obtido por Pietta e colaboradores (1988), que indicaram a boldina como um componente minoritário presente em extratos comerciais de boldo (0,06%). O teor absoluto de boldina normalmente é bem superior a esse valor, sendo estimado, por exemplo, em 0,14% (QUEZADA et al., 2004) e 0,12 % (O'BRIEN et al., 2006). Esse alcalóide (boldina) é considerado o princípio ativo mais importante do boldo-do-chile. A capacidade dessa erva inibir *in vitro* a agregação plaquetária em amostras de sangue humano e de coelhos foi atribuída a esse alcalóide (boldina) e a um outro alcalóide conhecido como secoboldina (BASILA & YUAN,

2005). Outros grupos de pesquisa indicaram que a atividade anti-inflamatória dessa erva também estava relacionada à boldina (BACKHOUSE et al., 1994; BARBOSA-FILHO et al., 2006). Uma avaliação toxicológica do *Peumus boldus* mostrou que a boldina em grandes quantidades era capaz de induzir efeitos teratogênicos e abortivos em ratos (ALMEIDA et al., 2000). Também foi relatada à presença de esparteína nas folhas do boldo e, portanto, seu uso não é recomendado durante a gravidez, pois esse alcalóide tem propriedade de acelerar o parto (atividade oxitócica) (ALMEIDA et al., 2000). Além da boldina, outros alcalóides aporfínicos (isoboldina; isocoridina; norisocoridina; N-óxido de isocoridina, N-metillaurotetanina; laurotetanina e laurolitisina) e, também, alcalóides benzilisoquinoleínicos (coclaurina, laudanosina e laudanosolina) já foram identificados como componentes das folhas do boldo-do-chile (SPEISKY & CASSELS, 1994). Quantidades correspondentes a 41 e 43 constituintes fenólicos, principalmente proantocianidinas e flavonóides glicosídicos, já foram detectadas nas infusões de folhas fêmeas e machos do boldo, respectivamente (SIMIRGIOTIS & SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2010). A presença de flavonóides, como a catequina, o peumosídeo (ramnetina-3-arabinosídeo-3'-ramnosídeo), boldosídeo (isoramnetina-3-glicosídeo-7-ramnosídeo), fragrosídeo (isoramnetina-diramnosídeo), campferol-3-glicosídeo-7-ramnosídeo e isoramnetina-3-arabinosídeo-7-ramnosídeo, contribui muito para a atividade antioxidante dos extratos produzidos a partir das folhas de boldo (SPEISKY & CASSELS, 1994). Nas folhas dessa erva encontramos ainda taninos (1,2%), cumarinas (0,5%) e glicolipídeos (SPEISKY & CASSELS, 1994; Pietta et al., 1988; O'BRIEN et al., 2006; MENDES et al., 2006). No óleo essencial, que pode ser extraído das folhas dessa matriz, encontramos também uma mistura complexa de compostos voláteis e semi-voláteis que podem ser classificados principalmente como compostos terpênicos (JORGE-NETO et al., 1989; DEL VALLE et al., 2005; BLUMA & ETCHEVERRY, 2008; MAZUTTI et al., 2008; QUEZADA et al., 2008; RUIZ et al., 2008; BITTNER et al., 2009; URZÚA et al., 2010; VERDEGUER et al., 2011; PASSONE & ETCHEVERRY, 2014; PETIGNY et al., 2014). Normalmente, os principais componentes do óleo essencial do boldo-do-chile são ascaridol, 1,8-cineol (eucaliptol), *p*-cimeno, limoneno e 3-careno. Algumas das propriedades farmacológicas atribuídas ao boldo-do-chile estão associadas a esses componentes que estão presentes nas frações volátil e semi-volátil de suas folhas. Estudos mostram, por exemplo, que o óleo essencial de *Peumus boldus* apresenta atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Neisseria gonorrhoea*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Bacillus cereus*, *Fusarium oxysporium*, *Rizophus nigricans*, *Aspergillus niger* e *Trichophyton mentagrophytes* (GUERIN, 1984; JAIN et al., 1993; VILA et al., 1999; MAZUTTI et al., 2008) e ação anti-helmíntica no controle de

nematóides (MACDONALD et al., 2004; DEMBITSKY et al., 2008; ALMEIDA et al., 2007). Estas atividades foram relacionadas ao ascaridol (RUIZ et al, 2008). Um estudo indicou uma moderada atividade antitumoral também relacionada a esse monoterpénóide (ascaridol), provavelmente associada a efeitos imunomodulatórios (TORRES et al, 2007). Por outro lado, esse composto também pode ser prejudicial à saúde. Essa substância já foi associada a efeitos teratogênicos e abortivos e é capaz de provocar irritação na pele e mucosas, vômito, vertigem, dor de cabeça, lesões renais e hepáticas, colapso circulatório e eventualmente morte (MUCURY, 2008). Também são atribuídas ao óleo essencial das folhas de boldo-do-chile as propriedades inseticida e herbicida, que estão provavelmente associadas à presença de hidrocarbonetos terpênicos com atividade fumigante e de contato, ovicida, antialimentar e repelente. Dessa forma, esse óleo essencial pode representar no futuro uma alternativa eficaz para a substituição dos xenobióticos sintéticos, cujo uso inapropriado tem provocado problemas como a geração de resíduos perigosos, desequilíbrio biológico, intoxicações e desenvolvimento de resistência (AGUAYO, 2010).

Conhecer a composição química das ervas consumidas pela nossa população com objetivos medicinais é crucial para garantir um uso mais seguro, eficaz e consciente das mesmas. Nesse contexto, o boldo-do-chile deve receber atenção especial, visto que possui algumas propriedades farmacológicas importantes e já comprovadas cientificamente, sendo por conta disso uma das ervas mais consumidas pela população brasileira e mundial (SPEISKY & CASSELS, 1994; VOGEL et al, 2011). No Brasil, ela pode ser consumida como um medicamento fitoterapêutico propriamente dito (por exemplo: HEPATILON da Kley Hertz S.A. - Indústria e Comércio e o BOLDO HERBARIUM da Herbarium Laboratório Botânico Ltda). Nesse caso, é vendida acompanhada de uma bula simples, com indicação da boldina como único princípio ativo e informações sobre algumas contraindicações, com destaque para a presença da esparteína por conta do risco do consumo por mulheres grávidas. Também pode ser consumida como um chá preparado a partir de material seco e moído que é vendido em sacos plásticos ou caixas contendo sachês. Nessa situação, o produto é tratado como alimento. Dessa forma, não há a obrigatoriedade de informar as contraindicações e nem de estabelecer as concentrações dos princípios ativos e substâncias tóxicas, mesmo que de forma limitada como acontece com os fitoterápicos. As únicas informações que constam (sem o merecido destaque) em algumas das caixas nas quais os sachês comerciais de boldo-do-chile são vendidos são as seguintes: (1) “Portadores de enfermidades hepáticas ou renais devem consultar o médico antes de consumir o produto”; (2) “Não consumir de forma contínua por

mais de quatro semanas”. Nesse caso, ainda há o problema da grande facilidade de se fraudar esse tipo de produto, pois as folhas do boldo são desidratadas e moídas e, dessa forma, podem ser facilmente substituídas por produtos de aspecto similar pertencentes a outras plantas que não possuam as mesmas atividades fitoterapêuticas. De qualquer maneira, independente da forma na qual o boldo-do-chile é comercializado, os componentes voláteis e semivoláteis contidos em seu óleo essencial são sempre negligenciados, apesar de muitos possuírem ação farmacológica cientificamente comprovada e, também, potencial tóxico como discutido anteriormente. Um maior conhecimento sobre a composição desse tipo de matriz no que diz respeito as suas frações volátil e semivolátil pode ter grande relevância, visto que pode contribuir para a detecção de fraudes, identificação inequívoca desse produto com o auxílio de marcadores químicos, estabelecimento de diferentes quimiotipos para melhor aproveitamento fitoterápico, monitoramento da qualidade do processamento e armazenamento e estabelecimento de novas formulações a base de boldo.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo é avaliar a composição química dos óleos essenciais de amostras de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) comercializadas na cidade do Rio de Janeiro sob a forma de sachês ou de sacos plásticos, usando a hidrodestilação e técnicas cromatográficas.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Isolar o óleo essencial de amostras comerciais de boldo-do-chile com o auxílio de técnica de hidrodestilação em aparelho de Clevenger.
- Identificar e quantificar os compostos voláteis e semi-voláteis constituintes desses óleos essenciais através das técnicas de cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG/DIC) e de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM).
- Realizar análise estatística de variância para verificar se o perfil químico dos óleos essenciais das amostras comercializadas sob a forma de sachês difere daquele apresentado pelas amostras comercializadas em sacos plásticos.
- Inferir quais devem ser os compostos de odor ativo presentes nesses óleos essenciais, com base em suas concentrações nessas matrizes e em seus limiares de odor (disponíveis na literatura).

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 FRAÇÕES VOLÁTIL E SEMI-VOLÁTIL DO BOLDO-DO-CHILE

A presente revisão tem como objetivo avaliar a literatura científica a fim de estabelecer as características das frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina), indicando os teores, propriedades sensoriais e farmacológicas de seus principais constituintes.

3.1.1 Estado da arte

Em todos os estudos desenvolvidos até o momento a respeito das frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile, a quantificação e identificação dos compostos voláteis têm sido realizadas com o auxílio das técnicas de cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (CG/DIC) e/ou cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) do tipo quadrupolo. Percebe-se, no entanto, que em vários trabalhos a identificação tem sido desenvolvida de modo pouco confiável (SARGENTI & LANÇAS, 1997; DEL VALLE et al., 2005; BLUMA & ETCHEVERRY, 2008; MAZUTTI et al., 2008; BITTNER et al., 2009; AGUAYO, 2010; PASSONE & ETCHEVERRY, 2014). Nesses trabalhos, a identificação foi baseada exclusivamente na avaliação dos espectros de massas desses compostos. A utilização de compostos padrões e de índices de retenção (por exemplo, índice de Kovats) não foi empregada a fim de respaldar os dados de espectrometria. Dessa forma, a identificação desses compostos nesses trabalhos não pode ser considerada definitiva, mas sim tentativa. No que diz respeito à quantificação, o conteúdo dos compostos voláteis e semi-voláteis nos extratos analisados (principalmente os óleos essenciais) tem sido expresso com base na área percentual relativa de seus picos cromatográficos em relação à área total do cromatograma.

O isolamento das frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile tem sido realizado até o momento através de quatro diferentes técnicas de extração: hidrodestilação, extração com solventes orgânicos, extração com fluido supercrítico e extração com auxílio de microondas. Dos dez trabalhos consultados sobre as frações volátil e semi-volátil dessa erva, sete (DEL VALLE et al., 2005, BLUMA & ETCHEVERRY, 2008; BITTNER et al., 2009; AGUAYO, 2010; URZÚA et al., 2010; VERDEGUER et al., 2011; PASSONE & ETCHEVERRY, 2014) utilizaram a técnica de hidrodestilação (associada ou não a processos de extração ou diluição com solventes orgânicos). Cerca de 83 compostos (Tabela 1) já foram

indicados até o momento como constituintes das supracitadas frações do boldo-do-chile. Desse total, 69 compostos (83,1%) foram extraídos através do método de hidrodestilação. A extração com auxílio de microondas (PETIGNY et al., 2014) permitiu a detecção de 10 compostos (12,0%) nunca antes identificados nessa matriz: α -tujeno, aldeído canfolênico, *trans-p-2-menteno-1-ol*, borneol, *cis-p-2-menteno-1-ol*, *cis-p-2,8-mentadieno-1-ol*, óxido de cariofileno, α -cadinol, viridiflorol e α -bisabolol. Esse novo método possibilitou o isolamento simultâneo do óleo essencial e, também, de alguns compostos orgânicos não-voláteis das folhas do boldo. Por sua vez, a extração com cloreto de metileno (AGUAYO, 2010) foi o único método de isolamento que permitiu a identificação dos compostos aloaromadendreno e 2-etil-2-hexenal. A extração com fluido supercrítico (CO₂) (MAZUTTI et al., 2008) também foi o único método responsável pela detecção dos compostos dióxido de limoneno e *n*-eicosano. Apesar da hidrodestilação ser responsável pelo isolamento de um maior número de compostos das frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile, os outros três métodos também desempenharam uma contribuição considerável na caracterização química dessa matriz (cerca de 16,9% de compostos diferentes identificados). Diferenças de composição importantes entre as amostras analisadas foram observadas nesses dez trabalhos. Essas diferenças podem ser explicadas pelos diferentes processos de isolamento empregados (MAZUTTI et al., 2008). Além disso, como os compostos voláteis e semi-voláteis das ervas são produzidos pelo metabolismo secundário da planta, essas diferenças em sua composição também podem estar associadas às variações genéticas, diferenciação sexual, ao período de colheita, ao tratamento de secagem utilizado, às condições de armazenamento, às condições climáticas, à disponibilidade hídrica, etc (RODRIGUEZ, 1983; MIRALDI et al., 1996; VOGEL et al., 1999; QUEZADA et al., 2004; DEL VALLE et al., 2005; SIMIRGIOTIS & SCHMEDA-HIRSCHMANN, 2010).

Outro ponto que chama atenção é a carência de estudos que busquem caracterizar a contribuição de cada composto volátil para o aroma global dessa erva. Ou seja, nos estudos sobre o boldo-do-chile disponíveis até o momento não observamos o emprego de técnicas e parâmetros associados à olfatométrica [por exemplo: análise de diluição do extrato de aroma (ADEA), análise CHARM, espectro de impacto de odor (OIS = odor impact spectrum), cálculo do valor de odor ativo (VOA), etc] que pudessem permitir uma associação entre a composição da fração volátil e o aroma dessa erva.

3.1.2 Composição global

Como mencionado anteriormente, estimamos que 83 compostos já tenham sido indicados até o momento como constituintes das frações volátil e semi-volátil das folhas do boldo-do-chile (vide Tabela 1). Esse montante foi estabelecido através de consulta a 10 trabalhos científicos (SARGENTI & LANÇAS, 1997; DEL VALLE et al., 2005; BLUMA & ETCHEVERRY, 2008; MAZUTTI et al., 2008; BITTNER et al., 2009; AGUAYO, 2010; URZÚA et al., 2010; VERDEGUER et al., 2011; PASSONE & ETCHEVERRY, 2014; PETIGNY et al., 2014) e 3 citações (MONTES & WILKOMIRSKY, 1952; VILLA et al., 1999; VOGEL et al., 2005). Separamos esses compostos voláteis e semi-voláteis do boldo-do-chile em dois grandes grupos: compostos terpênicos e não-terpênicos. O grupo dos compostos terpênicos se destaca por possuir o maior número de representantes (75 compostos). Isso significa que 90,4% dos compostos voláteis e semi-voláteis presentes nas folhas do boldo-do-chile podem ser classificados como pertencentes a esse grupo (Figura 1). Além disso, esse grupo possui os compostos de maior concentração nessa matriz (vide Tabela 1). Por outro lado, um percentual correspondente a apenas 9,6% dos compostos (8 compostos) pode ser classificado como pertencente ao grupo dos não-terpênicos.

Tabela1: Composição química das frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile.

Número	Composto	% no óleo essencial	Classificação
1	Acetato de bornila ^{a,b,c,j}	tr (<0,03) – 1,99	MO
2	Ácido palmítico ^d	0,91	AC
3	Aldeído canfolênico ^c	0,1	MO (CA)
4	Aloaromadendreno ^j	0,53	S
5	Ascaridol ^{a,b,c,e,f,g,j}	2,34 – 51,17	MO
6	α -Bisabolol ^c	0,2 – 0,4	SO
7	Borneol ^c	0,1	MO
8	α -Cadinol ^c	0,1	SO
9	Canfeno ^{a,b,c,d,j}	0,01 – 0,52	M
10	Cânfora ^{a,c}	0,1 – 0,2	MO
11	2-Careno ^j	11,68	M
12	3-Careno ^{a,b,c,f}	tr (<0,03) – 1,81	M
13	4-Careno ^{d,j}	0,31-18,14	M
14	<i>trans</i> -Cariofileno ^b	tr (< 0,03)	S
15	Carvacrol ^{a,c}	0,2 – 0,3	MO (CA)
16	2-Ciclo-hexeno-1,4-diona ^a	0,06	MO
17	<i>p</i> -Cimeno ^a	tr (< 0,03)	M (CA)
18	β -cimeno ^j	2,39	M (CA)
19	<i>p</i> -Cimeno ^{a,b,c,d,f,g,h}	0,56 – 29,79	M (CA)
20	<i>p</i> -Cimen-7-ol ^{a,j}	0,12	MO (CA)
21	<i>p</i> -Cimen-8-ol ^j	4,88	MO (CA)
22	1,8-Cineol (eucaliptol) ^{a,b,d,e,f,h,j}	0,34 – 36,62	MO
23	Copaeno ^j	0,36	SO
24	Criptona ^{a,c}	tr (< 0,03) – 0,3	MO
25	Cuminaldeído ^d	0,27	MO (CA)
26	Decaidro-tetrametil-4aH-cicloprop[e]azulen-4a-ol ^d	1,23	SO
27	Derivado de ascaridol (epóxido de ascaridol) ^{c,j}	0,3 – 4,21	MO
28	Desidro-1,8-cineol ^a	0,09	MO
29	Desidrosabina cetona ^a	0,83	MO
30	Dióxido de limoneno ^e	39,7 – 56,4	MO
31	<i>n</i> -Eicosano ^c	1,1 – 3,7	H
32	β -Elemeno ^b	tr (< 0,03)	S
33	Epóxido de (-)- β -cariofileno ^h	2,64	SO
34	Epóxido de <i>cis</i> -piperitona ^a	0,76	MO
35	Epóxido de <i>trans</i> -piperitona ^a	tr (< 0,03)	MO
36	Espatuleno ^{a,c,d,g,j}	0,12 – 4,67	SO
37	Éter metílico de 1,3,4-eugenol ^h	1,78	CA
38	Etil-dimetil-benzeno ^d	0,31	CA
39	2-Etil-2-hexenal ^j	0,69	A
40	α -Felandreno ^{a,c,f}	tr (<0,03) – 1,01	M
41	β -Felandreno ^{a,d,f}	0,31 – 5,43	M
42	<i>L</i> -Fencheno ^j	1,92	SO
43	Fenchol ^{b,c}	0,2 – 1,09	MO
44	Fenchona ^a	tr (<0,03)	MO
45	α -Gurjuneno ^g	0,80	S

46	Hidrato de <i>cis</i> -sabineno ^{a,e}	0,56 – 1,3	MO
47	Hidrato de <i>trans</i> -sabineno ^{a,h}	0,51 - 1,41	MO
48	Limoneno ^{b,c,d,f,h}	2,68 – 23,2	M
49	Linalol ^{a,b,c,f,j}	tr (<0,03) – 4,24	MO
50	<i>cis-p</i> -2,8-Mentadien-1-ol ^c	0,1	MO
51	1,3,8- <i>p</i> -Mentatrieno ^a	0,64	M
52	<i>cis-p</i> -Mente-2-en-1-ol ^c	0,3 – 0,4	MO
53	<i>trans-p</i> -Mente-2-en-1-ol ^c	0,1 – 0,2	MO
54	Metil-eugenol ^{a,b,c,d,h,j}	tr (< 0,03) – 2,1	CA
55	Mirceno ^{c,d,f,j}	0,2 – 0,69	M
56	Mirtenal ^{a,b,c}	tr (< 0,03) - 0,7	MO
57	Mirtenol ^a	1,11	MO
58	Nerolidol ^{c,f,j}	0,2 - 4,95	SO
59	2-Nonanona ^a	0,07	C
60	β -Oplopenona ^a	0,15	SO
61	Óxido de cariofileno ^c	0,1 - 9,76	SO
62	Óxido de α -pineno ^h	1,86	MO
63	Óxido de piperitona ^{e,h,j}	1,98 – 14,0	MO
64	α -Pineno ^{a,b,c,d,f,g,j}	0,167 – 4,16	M
65	β -Pineno ^{a,b,c,d,f,g,h}	0,18 – 1,74	M
66	Pinocarveol ^{a,c,e,j}	0,5 – 4,73	MO
67	Pinocarvona ^{a,c,e,j}	0,30 – 1,6	MO
68	Sabina cetona ^{a,c}	tr (<0,03) – 0,2	MO
69	Sabineno ^{a,b,c}	1,0 – 5,10	M
70	α -Terperpina ^g	15,30	M
71	α -Terpineno ^{a,c,d,h}	0,30 - 30,61	M
72	γ -Terpineno ^{a,c,h}	0,4 - 1,81	M
73	Terpinen-4-ol ^{a,b,c,d,e,g}	0,2 – 4,39	MO
74	α -Terpineol ^{a,b,c,f,j}	0,06 – 8,90	MO
75	<i>cis</i> - β -Terpineol ^j	0,78	MO
76	δ -Terpineol ^a	0,64	MO
77	Terpinoleno ^{c,g}	0,4 – 73,80	M
78	Timol ^{a,c,d,i}	0,06 – 5,47	MO (CA)
79	Tuje-3-en-10-al ^a	tr (< 0,03)	MO
80	α -Tujeno ^c	0,1 – 0,2	M
81	2-Undecanona ^a	0,24	C
82	Verbenol ^{d,i}	0,32	MO
83	Viridiflorol ^c	0,2	SO

A – Aldeído; AC – Ácido carboxílico; C – Cetona; CA – Composto aromático; H – Hidrocarboneto; M – Monoterpeno; MO – Monoterpeno oxigenado; S – Sesquiterpeno; SO – Sesquiterpeno oxigenado. Referências: a – VERDEGUER et al., 2011; b – URZÚA et al., 2010; c – PETIGNY et al., 2014; d – DEL VALLE et al., 2005; e – MAZUTTI et al., 2008; f – BITTNER et al., 2009; g – BLUMA & ETCHEVERRY, 2008; h – PASSONE & ETCHEVERRY, 2014; i – SARGENTI & LANÇAS, 1997; j – AGUAYO, 2010.

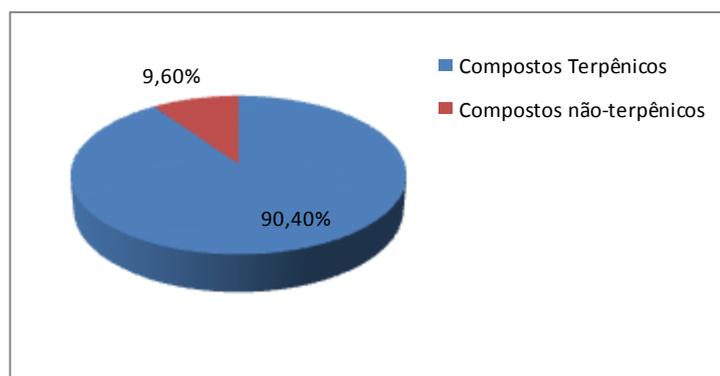


Figura 1: Distribuição percentual dos compostos pertencentes às frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile entre os grupos terpênico e não-terpênico.

A seguir, discutiremos mais detalhadamente cada um desses dois grupos nos quais classificamos os compostos voláteis e semi-voláteis identificados até o momento no boldo-do-chile.

3.1.3 Compostos Terpênicos

Como já mencionado anteriormente, o grupo dos compostos terpênicos é o dominante nas frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile. Esse grupo é constituído de um amplo e diversificado conjunto de metabólitos vegetais originários da condensação de unidades isoprênicas (isopreno ou isoprenóides). Os 75 compostos constituintes desse grupo podem adicionalmente ser divididos em 4 subclasses: monoterpenos (20 representantes), monoterpenos oxigenados (40), sesquiterpenos (4) e sesquiterpenos oxigenados (11). A distribuição percentual do grupo terpênico nessas 4 subclasses pode ser observada na Figura 2. Dos 20 monoterpenos indicados até o momento como pertencentes ao óleo essencial de boldo-do-chile, 3 são compostos aromáticos (*p*-cimeneno, β -cimeno e *p*-cimeno). Dos 40 monoterpenos oxigenados indicados na Tabela 1, 6 podem ser classificados como compostos aromáticos (aldeído canfolênico, carvacrol, *p*-cimen-7-ol, *p*-cimen-8-ol, cuminaldeído e timol).

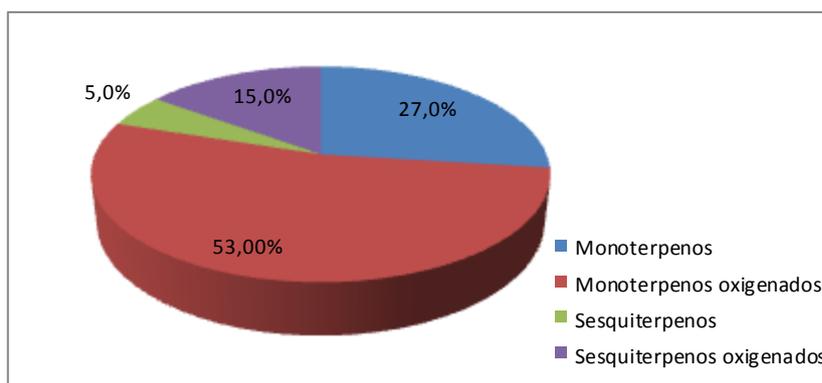


Figura 2: Distribuição percentual dos compostos terpênicos presentes nas frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile em 4 subclasses: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados.

No grupo dos compostos terpênicos, os mais citados na literatura (5 ou mais citações) como componentes do óleo essencial do boldo-do-chile são o ascaridol, *p*-cimeno, 1,8-cineol, α -pineno, β -pineno, terpinen-4-ol, limoneno, canfeno, espatulenol, linalol e α -terpineol. Destes compostos, o ascaridol, 1,8-cineol, *p*-cimeno e limoneno costumam se destacar mais frequentemente por sua abundância relativa (teores superiores a 10% no óleo essencial). A estrutura química desses quatro compostos é apresentada na Figura 3.

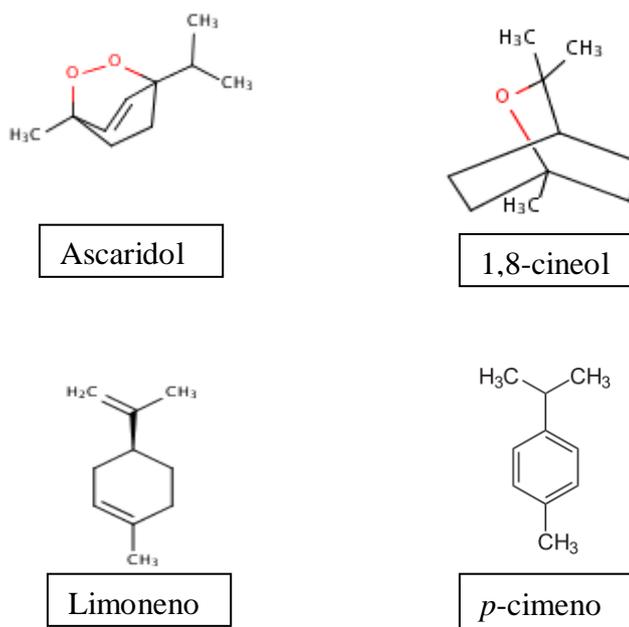


Figura 3: Constituintes majoritários do óleo essencial das folhas de boldo-do-chile.

Além desses quatro compostos terpênicos, o 2-careno, 4-careno, dióxido de limoneno, óxido de piperitona, α -terpineno, α -terperpina e terpinoleno também já foram indicados em altas concentrações (entre 11,68% e 73,80%) nas folhas de boldo-do-chile, apesar de sua baixa frequência de citação (vide Tabela 1).

Como pode ser observado na Tabela 1, dentre os compostos voláteis e semi-voláteis mais frequentes nas folhas do boldo-do-chile, o ascaridol é aquele indicado como presente em maior concentração (51,17%) nessa matriz (VERDEGUER et al., 2011). Esse composto foi isolado pela primeira vez em 1895 por um alemão farmacêutico que vivia no Brasil. O ascaridol possui odor aromático característico, pungente, canforáceo e levemente acre. Seu sabor é amargo e, também, um tanto acre (LEWIS, 2008; NELSON, 1913;). Não foi possível encontrar dados na literatura científica sobre o limiar de odor desse composto, o que dificulta definir sua importância para o aroma global das folhas de boldo-do-chile ou de seus produtos. O limiar de odor de um composto volátil ou semi-volátil é a concentração mínima necessária para que essa substância possa ser percebida pelo olfato humano. Quanto menor for o limiar de odor de uma substância, maior será seu potencial odorífero. Na medicina, o ascaridol tem sido usado há muitas décadas como vermífugo, no controle de nematóides, devido a sua capacidade de exercer efeito narcótico e inibitório nos parasitas intestinais, fazendo com que eles se desprendam do tecido ao qual estão aderidos (DEMBITSKY et al., 2008). No início da década de 1900, foi um dos principais anti-helmínticos utilizados para tratar ascarides e tênias em seres humanos, gatos, cães, cavalos e porcos (MACDONALD et al., 2004; DEMBITSKY et al., 2008). O nome desse composto deriva da palavra *Ascaris*, correspondente ao gênero do verme intestinal popularmente conhecido como lombriga. O ascaridol também possui efeito sedativo, atividades antibacteriana, antifúngica, antitumoral e anti-malária e é capaz de inibir o desenvolvimento do *Trypanosoma cruzi* and da *Leishmania amazonensis* (PARE et al., 1993; EFFERTH et al., 2002; DEMBITSKY et al., 2008; RUIZ et al., 2008). Por ser tóxico, esse composto e os óleos essenciais nos quais ele está contido devem ser utilizados com cautela. Acredita-se que a partir de 300 mg o ascaridol possa provocar vômitos, diarreias e causar irritação renal. Em doses mais elevadas ele pode produzir um efeito narcótico e convulsivante (GADANO et al., 2002). Nesse caso, ainda é capaz de provocar irritação na pele e mucosas, vômito, vertigem, dor de cabeça, lesões renais e hepáticas, colapso circulatório, paralisia dos nervos motores e sensoriais e, por fim, das fibras musculares, causando morte por parada respiratória (MUCURY, 2008). Seu uso prolongado induz

depressão do sistema nervoso central e delírio, com o desenvolvimento de convulsões e coma (RUIZ et al., 2008; ALMEIDA et al., 2000), edema pulmonar, hematúria, albuminúria e icterícia (PISCAGLIA et al., 2005; ALMEIDA et al., 2000; RUIZ et al. 2008). Sua utilização também já foi associada a efeitos teratogênicos, emenagogo e abortivo (ALMEIDA et al., 2000; RIMADA *et al.*, 2007; DEMBITSKY *et al.*, 2008; RUIZ et al., 2008;).

Em 1870, Cloez foi o primeiro pesquisador a identificar o 1,8-cineol. Como esse composto era dominante no óleo essencial de *Eucalyptus globulus*, ele recebeu então o nome de 1,8-cineol (BOLAND, 1991). Seu aroma é associado à cânfora e ao eucalipto (Safayhi et al., 1994) e seu limiar de odor em água é considerado baixo ($12 \mu\text{g L}^{-1}$) (FAZZALARI, 1978). Em função de seu aroma característico, baixo limiar de odor e elevado teor no óleo essencial de boldo-do-chile, o 1,8-cineol tem potencial para ser um dos mais importantes compostos de odor ativo responsáveis pelo aroma global desse produto natural. Esse monoterpene oxigenado é muito utilizado pelo ser humano, pois a ele são atribuídas diversas propriedades de extrema importância para a indústria alimentícia (confecção de doces e gomas de mascar) e de perfumaria (perfumes, cosméticos, higiene pessoal) (SCHIESTL & ROUBIK, 2004). O 1,8-cineol possui ação antimicrobiana e antifúngica (FRANCO et al., 2005). Estanislau e colaboradores (2001) concluíram que o 1,8-cineol era responsável pela atividade antisséptica dos óleos essenciais de *Eucalyptus myrcocorys* e *Eucalyptus globulus*. Esse composto também apresenta ação antiinflamatória associada à inibição do TNF- α (fator de necrose tumoral α) e da IL-1 β (interleucina-1 β), podendo auxiliar no tratamento da asma, sinusite e da doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (JUERGENS et al., 2004). Santos e Rao (2000) mostraram que o 1,8-cineol também produz efeitos anti-inflamatórios e antinociceptivos com ações inibitórias sobre o edema induzido por carragenina, aumenta a permeabilidade capilar e a formação de granulomas. Esse composto foi apontado como um agente gastroprotetor em ratos que ingeriram etanol (SANTOS et al., 2011). O 1,8-cineol também é utilizado como inseticida (OBENG-OFORI & REICHMUTH, 1997; BEKELE E ASSANALI, 2001; LEE et al. 2003; NEGAHBAN et al., 2007; BITTNER et al., 2008) e repelente de insetos (KLOCKE et al., 1986). Entretanto, em doses muito elevadas, a ingestão, contato com a pele ou inalação do 1,8-cineol pode ser perigosa. Ele pode ter efeitos agudos prejudiciais sobre o comportamento, o trato respiratório e o sistema nervoso. A dose letal mediana oral aguda (DL₅₀) do 1,8-cineol é de 2,480 mg/kg (rato) (MATERIAL SAFETY DATA SHEET, 2004).

O *p*-cimeno possui odor fresco, cítrico e apimentado (SAFAYHI et al., 1994) e um limiar de odor em água de $120 \mu\text{g L}^{-1}$ (BOONBUMRUNG et al., 2001). Em função de seu

alto teor no óleo essencial das folhas de boldo-do-chile e desse limiar de odor ainda considerado baixo, o *p*-cimeno também tem potencial para ser classificado como um dos compostos de odor ativo dessa erva. O *p*-cimeno é precursor do carvacrol, também indicado como um dos constituintes das frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile, porém em concentrações bem menores (vide Tabela 1). Ao carvacrol atribui-se atividade bactericida que é potencializada por meio do sinergismo existente com o *p*-cimeno. Apesar do *p*-cimeno ter baixa capacidade bactericida, ele age desestabilizando a membrana plasmática de alguns patógenos, deixando-os mais suscetíveis a ação do carvacrol (SILVA, 2010).

O espatulenol é um sesquiterpenóide oxigenado que é considerado um dos compostos majoritários de óleos essenciais de plantas da família Myrtaceae, como as espécies *M. gigantea* (28,9%) e *M. pubipetala* (32,0%) (LIMBERGER et al., 2004; APEL et al., 2006). Também é um composto abundante em plantas do gênero *Baccharis*, que abrange plantas como a carqueja, na qual o teor de espatulenol do óleo essencial pode chegar a 25,5% (AGOSTINI et al., 2005). Nos estudos sobre a composição do óleo essencial do boldo-do-chile, o valor máximo relatado para esse composto foi de 4,67% (DEL VALLE et al., 2005). Ao aroma do espatulenol pode-se atribuir as descrições odoríferas de erva, fruta, floral e mofado (CHOI et al., 2002; ZELLNER et al., 2009; FANARO et al., 2011). O limiar de odor desse composto não está disponível na literatura científica. A esse composto já foram atribuídas ações antibacteriana e citotóxica (LIMBERGER et al., 2004).

O limoneno possui um odor fresco de pinheiro e de laranja (SAFAYHI et al., 1994; Sun, 2007) e um limiar de odor em água baixo, correspondente a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (LEFFINGWELL & LEFFINGWELL, 1991). Baseado nessas informações e no fato de que o valor máximo relatado para esse composto no óleo essencial de boldo-do-chile foi de 23,2% (PETIGNY et al., 2014), também podemos incluir o limoneno no grupo de compostos de odor ativo dessa matriz. O nome limoneno está associado ao fato de que a casca do limão contém quantidades consideráveis desse composto dominando seu aroma (SUN, 2007). O limoneno é utilizado na fabricação de alimentos, por exemplo, como um aromatizante para mascarar o sabor amargo dos alcalóides. Ele também é usado como fragrância na perfumaria, em loções de barbear e produtos de banho (SUN, 2007). De acordo com a literatura, o limoneno apresenta um vasto espectro de atividades farmacológicas, sendo bastante conhecido por possuir considerável potencial acaricida e ansiolítico (CAMPÊLO et al., 2011a; CAMPÊLO et al., 2011b; SÁ et al., 2012), ação antimicrobiana de largo espectro (AGGARWAL, 2001), anti-inflamatória (SÁ et al., 2012) e antiviral (ASTANI et al., 2014). Também foi relatado atividade inseticida

significativa contra *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus zeamais* e *Sitophilus oryzae*, pragas que causam vultuosos prejuízos à agricultura por atacarem grãos armazenados (KARR E COATS, 1988; SANTOS et al., 1997; PRATES et al., 1998). Na medicina natural e alternativa, o limoneno é comercializado para aliviar a doença do refluxo gastroesofágico e azia (SUN, 2007). Ao limoneno já foi atribuída ação antiestresse e sedativa (PARK, 2011). Ademais, o limoneno tem mostrado um bom potencial para a prevenção e tratamento de certos tipos de câncer (de próstata, de estômago, de fígado, de intestinos, de pâncreas, de mama, de pulmão e leucemias) (JOMAA et al., 2012). No entanto, a exposição de longo prazo ao limoneno puro e aos seus produtos de oxidação pode causar irritação da pele e do sistema respiratório. Doses elevadas também podem causar cancro renal em ratos machos (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM, 1990; TSUDA et al., 2004), mas não há evidência de carcinogenicidade e genotoxicidade ou de efeitos teratogênicos ou embriotóxicos em seres humanos (SUN, 2007). Entretanto, é possível que o limoneno possua atividades citotóxicas, provavelmente devido às suas atividades anti-angiogênicas (JOMAA et al., 2012).

O α -pineno possui aroma agudo e penetrante de pinho (MOOKDASANIT et al., 2003). A esse composto também são atribuídos as seguintes descrições odoríferas: floral, erva e tipo madeira de cedro (TAMURA et al., 1999). Seu isômero *beta* (β -pineno) possui aroma floral ou associado à planta verde (KESEN et al., 2014). O α -pineno possui um baixo limiar de odor em água, igual a $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (BUTTERY et al., 1974), e já foi encontrado no óleo essencial das folhas de boldo-do-chile em concentrações de até 4,16% (URZÚA et al., 2010). Dessa forma, esse monoterpeneo tem potencial para figurar também entre os principais compostos de odor ativo dessa matriz. Já o β -pineno possui um limiar de odor bem superior ($140 \mu\text{g L}^{-1}$ em água) (FAZZALARI, 1978) e a concentração máxima na qual esse composto foi encontrado no óleo essencial de boldo-do-chile foi de apenas 1,74% (URZÚA et al., 2010). Dessa forma, diferente do isômero *alfa*, esse composto não deve ser considerado um composto de odor ativo para o boldo-do-chile. No que diz respeito à ação farmacológica, Dorman e Deans (2000) estabeleceram que o α -pineno era uma substância inativa como agente bactericida se comparada ao seu isômero β -pineno. Para chegarem a essa conclusão testaram esses compostos terpênicos *in vitro* contra 25 diferentes bactérias gram-positivas (nove) e gram-negativas (dezesseis). Entretanto, um estudo desenvolvido em 2007 mostrou que este composto (α -pineno) era capaz de inibir determinadas cepas de bactérias gram-positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*) causadoras de endocardite infecciosa (LEITE et al., 2007). Em outro estudo mais recente (STOJKOVIC et al., 2008), foi

demonstrado que o α -pineno também possui toxicidade altamente seletiva contra três cepas de *Actinomyces madurae*. Essas bactérias são responsáveis pelo micetoma actinomicótico (lesão inflamatória subcutânea granulomatosa crônica). Essa doença infecciosa ocorre principalmente em países tropicais e subtropicais (FAHAL, 2004). Por último, ao α -pineno atribui-se ação inseticida (CHAGAS et al., 2002).

O linalol possui um aroma que é associado à laranja, flores e a notas cítricas (SAFAYHI et al., 1994) e seu limiar de odor em água é bem baixo ($6 \mu\text{g L}^{-1}$) (LEFFINGWELL & LEFFINGWELL, 1991). A concentração máxima indicada para esse composto no óleo essencial das folhas de boldo-do-chile foi de 4,24% e, dessa forma, ele também pode figurar entre os compostos de odor ativo dessa matriz. O linalol já mostrou possuir efeitos antiinflamatório, anti-hiperalgésico e antinociceptivo em vários modelos animais (VILA et al., 2010). Além disso, esse composto possui ações acaricida, bactericida e fungicida (BLANK et al., 2007).

O terpinen-4-ol possui aroma picante, terroso e cítrico (SAFAYHI et al., 1994), enquanto o α -terpineol possui um odor frutal e agudo associado ao maracujá (JANZANTTI et al., 2012). As concentrações máximas nas quais esses compostos foram encontrados no óleo essencial das folhas do boldo-do-chile foram de 4,39% (terpinen-4-ol) e 8,90% (α -terpineol) (URZÚA et al., 2010; Aguayo, 2010). Apesar de presente em menor concentração, o terpinen-4-ol tem muito mais potencial para fazer parte do grupo de compostos de impacto para o aroma global do boldo-do-chile do que o α -terpineol. Isso ocorre porque o limiar de odor em água do terpinen-4-ol ($0,34 \mu\text{g L}^{-1}$) é cerca de 1000 vezes menor do que o limiar de odor em água do α -terpineol ($330-353 \mu\text{g L}^{-1}$) (LEFFINGWELL & LEFFINGWELL, 1991; BUTTERY & TAKEOKA, 2013). No que diz respeito às ações farmacológicas, o terpinen-4-ol já foi associado a ações anti-inflamatória, antibacteriana e de combate a protozoários (SIBANDA et al., 2004) e o α -terpineol a atividades antimicrobianas e antifúngica (COSENTINO et al., 1999; SIBANDA et al., 2004).

O canfeno possui odor adstringente, canforáceo e conífero (LI et al., 2011). Infelizmente, não foi possível encontrar dados na literatura científica sobre o limiar de odor desse composto, o que dificulta definir sua importância para o aroma global das folhas de boldo-do-chile. De qualquer forma, esse composto está presente em concentrações bem reduzidas nessa matriz (vide Tabela 1). O canfeno possui ação antinociceptiva e antioxidante (QUINTANS-JÚNIOR et al., 2013).

Tabela 2: Características dos principais compostos terpênicos pertencentes às frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile.

Composto	Limiar de odor	Descrição Sensorial	Propriedade Farmacológica
Ascaridol	Nd	Odor aromático característico, pungente, canforáceo e levemente acre ^{1,2}	Bactericida, vermífugo, atividades antifúngica, anti-helmíntica, antitumoral, anti-malária, efeitos sedativo, teratogênico, emenagogo e abortivo, inibidor do desenvolvimento de <i>Trypanosoma cruzi</i> e <i>Leishmania amazonensis</i> ^{3,4,5,6,7,8,9}
Canfeno	Nd	Adstringente, canforáceo, conífero ¹⁰	Ação antinociceptiva e antioxidante ¹¹
<i>p</i> -cimeno	(120 µg L ⁻¹ em água) ¹²	Fresco, cítrico, apimentado ¹³	Potencializador da ação bactericida do carvacrol ¹⁴
1,8-cineol	(12 µg L ⁻¹ em água) ¹⁵	Cânfora, eucalipto ¹³	Antimicrobiano, antifúngico; antiinflamatório, gastroprotetor; efeito antinociceptivo, aumento da permeabilidade capilar e formação de granulomas, ação inseticida e repelente de insetos ^{16,17,18,19,20,21,22,23,24,25}
Espatuleno	Nd	Erva, fruta e floral ^{26,27}	Bactericida, ação citotóxica ²⁸
Limoneno	(10 µg L ⁻¹ em água) ²⁹	Pinheiro, fresco ¹³	Antimicrobiano, acaricida, ansiolítico, anti-inflamatório, antiviral, inseticida; alivia a doença do refluxo gastroesofágico e azia, ação antiestresse, sedativa, anti-câncer e citotóxica ^{30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42}
Linalol	(6 µg L ⁻¹ em água) ²⁹	Laranja, cítrico, floral ¹³	Efeitos antiinflamatório, anti-hiperalgésico e antinociceptivo, ações acaricida, bactericida e fungicida ^{43,44}
α -pineno	(6 µg L ⁻¹ em água) ²⁹	Agudo e penetrante de pinho; floral, erva, madeira de cedro ^{45,46}	Bactericida ^{47,48}
β -pineno	(140 µg L ⁻¹ em água) ¹⁵	Planta verde, floral ⁴⁹	Bactericida ⁵⁰
Terpinen-4-ol	(0,34 µg L ⁻¹ em água) ⁵¹	Picante, terroso, cítrico ¹³	Antibacteriano, combate protozoários, antiinflamatório ⁵²
α -terpineol	(330-353 µg L ⁻¹ em água) ²⁹	Maracujá, frutal, agudo ⁵³	Antimicrobiano, antifúngico ^{52,54}

Nd - não disponível; Referências: 1 – LEWIS, 2008; 2 – NELSON, 1913; 3 – PARE et al., 1993; 4 – EFFERTH et al., 2002; 5 – MACDONALD et al., 2004; 6 – DEMBITSKY et al., 2008; 7 – ALMEIDA et al., 2000; 8 – RIMADA et al., 2007; 9 – RUIZ et al., 2008; 10 – LI et al., 2011; 11 – QUINTANS-JÚNIOR et al., 2013; 12 - BOONBUMRUNG et al., 2001; 13 - SAFAYHI et al., 1994; 14 – SILVA, 2010; 15 - FAZZALARI, 1978; 16 - FRANCO et al., 2005; 17 - JUERGENS et al., 2004; 18 - SANTOS & RAO, 2001; 19 – SANTOS & RAO, 2000; 20 – OBENG-OFORI & REICHMUTH, 1997; 21 – BEKELE & HASSANALI, 2001; 22 – LEE et al., 2003; 23 – NEGAHBAN et al., 2007; 24 – BITTNER et al., 2008; 25 – KLOCKE et al., 1986; 26 - CHOI et al., 2002; 27 - FANARO et al., 2011; 28 - LIMBERGER et al., 2004; 29 - LEFFINGWELL & LEFFINGWELL, 1991; 30 - JUNIOR & PASTORE, 2007; 31 – AGGARWAL, 2001; 32 – CAMPÊLO et al., 2011a; 33 – CAMPÊLO et al., 2011b; 34 – SÁ et al., 2012; 35 – ASTANI et al., 2014; 36 – KARR & COATS, 1988; 37 – SANTOS et al., 1997; 38 – PRATES et al., 1998; 39 – SUN, 2007; 40 – PARK, 2011; 41 – JOMAA et al., 2012; 42 – MILLER et al., 2010; 43 – BLANK et al., 2007; 44 – VILA et al., 2010; 45 - MOOKDASAMIT et al., 2003; 46 - TAMURA et al., 1999; 47 - LEITE et al., 2007; 48 - CHAGAS et al., 2002; 49 – KESEN et al., 2014; 50 – DORMAN & DEANS, 2000; 51 - BUTTERY & TAKEOKA, 2013; 52 - SIBANDA et al., 2004; 53 – JANZANTTI et al., 2012; 54 - COSENTINO et al., 1999.

3.1.4 Compostos Não-terpênicos

Como mencionado anteriormente, o grupo dos compostos não-terpênicos é o minoritário, sendo formado por apenas 8 representantes: 1 ácido carboxílico (ácido palmítico), 1 hidrocarboneto (*n*-eicosano), 1 aldeído (2-etil-2-hexenal), duas cetonas (2-nonanona e a 2-undecanona) e 3 compostos aromáticos (éter metílico de 1,3,4-eugenol, etil-dimetil-benzeno e metil-eugenol). Os teores desses compostos nas frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile são bem reduzidos (< 1,0%), com exceção do *n*-eicosano (1,1-3,7%), éter metílico de 1,3,4-eugenol (1,78%) e metil-eugenol (concentração máxima indicada como 2,1%). A frequência de citação desses compostos na literatura como constituintes do boldo também é muito baixa. A exceção é o metil-eugenol, que já foi citado como constituinte dessa erva seis vezes. Esse composto é usado como um aditivo flavorizante na indústria de alimentos para a produção de geléias, bebidas não alcoólicas, gomas de mascar e sorvetes. Também é usado como fragrância na indústria de cosméticos para a fabricação de sabões e xampus (COUNCIL OF EUROPA, 2001). O metil-eugenol tem seu aroma associado ao cravo-da-índia e à fumaça e possui um limiar de odor em água de 68 µg L⁻¹ (BUTTERY et al., 1974). Em função de seu teor no óleo essencial de boldo-do-chile, é provável que esse composto não tenha grande relevância para o aroma dessa erva, mesmo com esse limiar de odor ainda considerado baixo. O metil-eugenol é um fenilpropeno que quimicamente é um éter metilado do eugenol (MENDOÇA, 2006). A esse composto já foi atribuída atividade bactericida (MORAIS et al., 2006; PAULA et al., 2008; PAULA et al., 2011). O metil-eugenol também é capaz de induzir efeito de hipotermia, além de ser miorelaxante, antiespasmódico, anticonvulsivante e anestésico (SELL & CARLINI, 1976; MAGALHÃES et al., 1998; LIMA et al., 2000; SAYYAH et al., 2002; MENDOÇA, 2006). Observou-se que a ingestão oral crônica de metil-eugenol poderia ser associada com o aumento da incidência de hepatotoxicidade e de neoplasma no fígado e estômago de ratos (NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM, 2000).

3.2 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A REVISÃO DA LITERATURA

A presente revisão da literatura mostra as características das frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile. Com base nas informações disponibilizadas nessa revisão podemos inferir quais são alguns dos compostos voláteis mais importantes para o aroma global dessa matriz. Isso pode incentivar os pesquisadores da área a direcionarem seus

esforços para o desenvolvimento de estudos originais que se preocupem não só com a determinação da composição dessas frações do boldo-do-chile, mas também que visem estabelecer quais são realmente os compostos voláteis de odor ativo responsáveis pelo aroma dessa matriz, através do emprego de técnicas de olfatométrica. No futuro, isso pode gerar informações importantes, por exemplo, para a produção de novos produtos alimentícios a base de boldo-do-chile, com maior potencial sensorial para aceitação pelos consumidores. Além disso, pela leitura dessa revisão percebe-se que a maioria das atividades medicinais atribuídas ao boldo-do-chile (ações colagoga, antioxidante, anti-inflamatória, hepatoprotetora, antimicrobiana, antifúngica, anti-helmíntica e diurética) podem ser associadas a alguns dos compostos pertencentes às frações volátil e semi-volátil dessa erva. Isso não significa que os componentes da fração não-volátil (por exemplo, boldina) não sejam importantes para as características medicinais do boldo-do-chile. Entretanto, fica óbvio que não devemos negligenciar de forma alguma a contribuição crucial dos componentes das frações volátil e semi-volátil dessa erva para suas propriedades medicinais, visto que vários desses componentes apresentam atividades farmacológicas intimamente associadas às propriedades medicinais descritas para a mesma. Esses compostos também não devem ser negligenciados, porque alguns deles podem apresentar efeitos toxicológicos importantes (p. ex., ascaridol). Estudar as frações volátil e semi-volátil das folhas de boldo-do-chile e os fatores que interferem em sua composição é essencial para que possamos controlar e escolher melhor os produtos gerados a partir das mesmas, fazendo um uso mais agradável e consciente desses produtos para o tratamento eficiente de certas patologias que nos afligem.

4- METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAS

Para o presente estudo foram adquiridas sete amostras de boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina), de diferentes marcas comerciais, em diferentes pontos de comercialização (supermercados, lojas de produtos naturais, farmácias, bancas de jornal) na cidade do Rio de Janeiro, durante o ano de 2014. Quatro dessas amostras (Dr. Oetker, Chinezinho, Chá Leão e Chás Real Multiervas) se apresentavam na forma de caixas com dez a quinze sachês contendo cada um cerca de 1,0 g desse tipo de produto. Dentro desses sachês, o material se apresentava seco e finamente moído. As outras três amostras (Anequim, Aroma de Chá e Arma Zen) estavam sendo comercializadas dentro de sacos plásticos. Nesses sacos plásticos era possível

observar folhas cortadas e pequenos pedaços de talo. As amostras coletadas representam as principais marcas de boldo-do-chile comercializadas atualmente na cidade do Rio de Janeiro.

4.2 MATERIAIS

Os padrões externos dos compostos voláteis [ácido palmítico (99%), 1,8-cineol (99%), limoneno (97%), linalol (97%), metil-eugenol (98%), 2-nonanona (99%), α -terpineol (96%), 2-undecanona (99%)] foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Milwaukee, WI, EUA). A mistura de alcanos saturados de C9-C26, usada como marcadora de índice de retenção, foi adquirida da Supelco (Bellefonte, PA, EUA).

4.3 ISOLAMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS AMOSTRAS DE BOLDO-DO-CHILE

Antes da extração do óleo essencial, as amostras de boldo-do-chile comercializadas em sacos plásticos foram moídas com o auxílio de um moinho analítico de bancada (Quimis, modelo 0298A21, Brasil). O material contido nos sachês não precisou de moagem. Para coletar quantidade suficiente de amostra homogeneizada para o processo de extração do óleo essencial, aplicou-se o método do quarteamento em todas as mostras, provenientes dos sachês ou dos sacos plásticos (VIANA & AVELAR, 2010). Depois desses processos, uma quantidade correspondente a 50 g de cada amostra sofreu hidrodestilação por um período de três horas dentro de um aparelho tipo Clevenger, com 500 mL de água destilada em ebulição. Não houve diferença estatisticamente significativa nos rendimentos de extração entre as amostras pertencentes ao grupo dos sachês e ao grupo dos sacos plásticos ($p > 0,05$). Água residual foi eliminada dos óleos essenciais através de tratamento com sulfato de sódio anidro. Os óleos essenciais foram armazenados em temperatura de cerca de 4°C até a realização das análises cromatográficas.

4.4 CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE IONIZAÇÃO EM CHAMA (CG/DIC)

As análises de CG/DIC foram realizadas em um cromatógrafo Carlo Erba modelo FTV 4300 (Itália). Os cromatogramas foram obtidos com o auxílio de um integrador do tipo Shimadzu Chromopak C-R6A (Japão). Os compostos voláteis e semi-voláteis contidos nos óleos essenciais das amostras de boldo-do-chile analisadas foram separados em uma coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm d.i.) revestida de dimetil poli-siloxano (100%), com espessura de filme de 0,25 μ m (SPB-1, Supelco, EUA). A temperatura do forno cromatográfico

foi programada para subir de 50°C a 200°C em uma taxa constante de 2°C/minuto. A temperatura de 200°C foi mantida por um minuto. Depois disso, a temperatura voltou a subir em uma taxa de 10°C/minuto até a temperatura final de 230°C, onde permaneceu por mais um minuto. A temperatura do injetor foi fixada em 230°C, enquanto a temperatura do detector foi mantida em 240°C. O gás hélio foi usado como gás carreador em uma velocidade linear ótima de 28 cm s⁻¹ (50°C). As injeções dos óleos essenciais não diluídos (1 µL) foram realizadas em *split* de 1:100. Os índices de retenção dos compostos na coluna foram estimados pelo método de Kovats modificado (VAN DEN DOOL & KRATZ, 1963), com o auxílio da mistura de alcanos saturados mencionada anteriormente (1.000 µg mL⁻¹ de cada componente em hexano). As concentrações dos compostos voláteis e semi-voláteis dos óleos essenciais foram estimadas com base na área percentual relativa de seus picos cromatográficos em relação à área total do cromatograma

4.5 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG/EM)

As análises de espectrometria de massas por impacto de elétrons foram desenvolvidas em um sistema de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas do tipo GC-2010Plus/GCMS-QP2010 da Shimadzu (Japão). A coluna e as condições cromatográficas foram as mesmas descritas para as análises de CG/DIC. O espectrômetro de massas operou em uma voltagem de ionização de 70 eV, realizando varreduras nos fragmentos na faixa de 30 a 400 *m/z*, em ciclos de 3 décimos de segundo. As temperaturas da fonte de íons e da interface com o CG foram mantidas em 240°C. Não houve necessidade de estabelecer tempo de corte para solvente, pois o óleo foi injetado puro. A identificação dos espectros de massas dos compostos em análise baseou-se na comparação com os dados disponíveis nas bibliotecas NIST12.lib e NIST62.lib, disponíveis no software gerenciador desse sistema de CG/EM. A identificação foi complementada com a coeluição com padrões externos disponíveis e pela comparação dos índices de Kovats calculados com aqueles disponíveis na literatura.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para verificar diferenças estatísticas significativas ($p < 0,05$) entre os dois grupos de amostras de boldo-do-chile comercializadas na cidade do Rio de Janeiro: amostras contidas em sachês (grupo 1) e amostras contidas em sacos plásticos (grupo 2).

5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos voláteis e semi-voláteis dos óleos essenciais das amostras comerciais de boldo-do-chile caracterizadas nesse estudo estão listados nas Tabelas 3, 4 e 5. Os rendimentos de extração do óleo essencial no processo de hidrodestilação variaram de 1,2 – 1,5 mL de óleo por 100 g de amostra seca do boldo-do-chile. Dos 58 compostos listados nessas tabelas, apenas três não foram identificados. Os 55 compostos identificados podem ser separados em dois grandes grupos: compostos terpênicos e não-terpênicos (vide Figura 4)

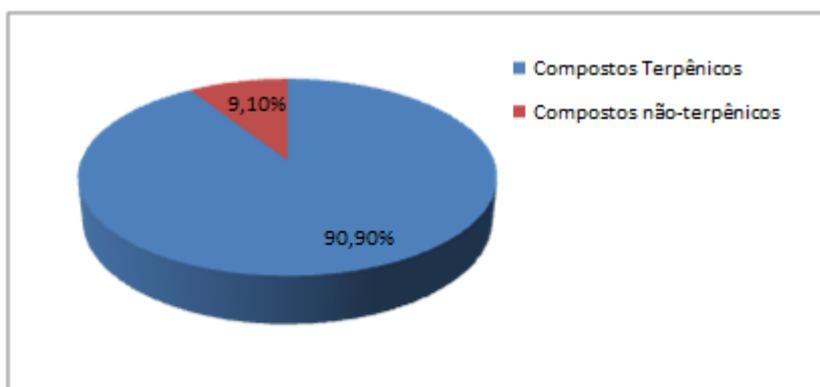


Figura 4: Distribuição percentual dos compostos identificados nos óleos essenciais das amostras comerciais de boldo-do-chile da cidade do Rio de Janeiro.

A distribuição percentual desses compostos nesses dois grandes grupos é muito semelhante à observada para os compostos listados até o momento na literatura como constituintes das frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile (vide item 3.1.2 – Composição global). No presente estudo, o grupo dos compostos terpênicos se destacou por possuir o maior número de representantes (50). De acordo com a Figura 4, 90,9% dos compostos presentes nos óleos essenciais analisados podem ser classificados como compostos terpênicos. Além disso, avaliando todas as amostras comerciais analisadas em nosso estudo, percebe-se que esse grupo responde por um valor médio de 86,65% do teor desses óleos essenciais, ou seja, possui os compostos de maior concentração. Nesse aspecto devemos destacar os compostos ascaridol, 1,8-cineol (eucaliptol), *p*-cimeno e terpinen-4-ol. Juntos, eles respondem por um valor médio de 50,82% do teor de todos os óleos essenciais analisados no presente estudo. Em função de suas concentrações e de seus limiares de odor (vide item 3.1.3 – Compostos terpênicos), o 1,8-cineol, o *p*-cimeno e o terpinen-4-ol devem ser considerados compostos de impacto para o aroma dessas amostras comerciais. Nesse estudo, seis novos

compostos terpênicos foram identificados como componentes das frações volátil e semi-volátil do boldo-do-chile: *cis*- β -ocimeno, δ -cadineno, palustrol, epóxido de isoaromadendreno, santalol e isolongifolol. O palustrol merece destaque adicional por ser o primeiro diterpeno oxigenado identificado em amostras de boldo-do-chile. Os 50 compostos terpênicos indicados nesse trabalho podem ser divididos em cinco subclasses: monoterpenos (13 representantes), monoterpenos oxigenados (26), sesquiterpenos (3), sesquiterpenos oxigenados (7) e diterpeno oxigenado (1). A distribuição percentual do grupo terpênico nessas 5 subclasses pode ser observada na Figura 5. Dos 13 monoterpenos constituintes dessas amostras, 1 pode ser classificado também como composto aromático (*p*-cimeno). Dos 26 monoterpenos oxigenados indicados na Tabela 5, quatro (4) podem ser classificados como compostos aromáticos (carvacrol, *p*-cimen-7-ol, *p*-cimen-8-ol e timol).

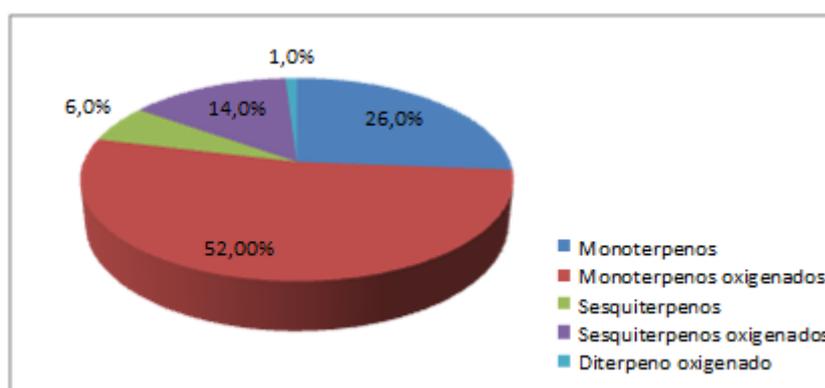


Figura 5: Distribuição percentual dos compostos terpênicos identificados nos óleos essenciais das amostras comerciais de boldo-do-chile da cidade do Rio de Janeiro em 5 subclasses: monoterpenos, monoterpenos oxigenados, sesquiterpenos, sesquiterpenos oxigenados e diterpeno oxigenado.

Como mencionado na parte de metodologia, as amostras analisadas estavam sendo distribuídas em dois tipos diferentes de embalagem. Quatro delas eram comercializadas em caixas contendo sachês (grupo 1) e as outras três em sacos plásticos (grupo 2). O principal destino dado a essas amostras por parte de seus consumidores é a confecção do chá de boldo-do-chile. O perfil de compostos voláteis e semi-voláteis observado em ambos os grupos é qualitativamente e quantitativamente muito semelhante (vide Tabelas 3, 4 e 5). As diferenças quantitativas estatisticamente significativas ($p < 0,05$) são poucas e, em sua maioria, estão relacionadas a compostos presentes em concentrações muito baixas ($< 1,0\%$ do teor do óleo essencial). Essa análise estatística indicou que em média os compostos 2-metil-1-propenilbenzeno, fenchol, timol, nerolidol e epóxido de isoaromadendreno estavam presentes nos

óleos essenciais do grupo 1 em concentrações um pouco mais elevadas do que nos óleos essenciais do grupo 2. De forma contrária, os compostos β -pineno, α -felandreno, pinocarvona, cariofileno e δ -cadineno apresentavam-se com teores mais elevados nos óleos essenciais do grupo 2. A semelhança de composição química entre todos os óleos analisados indica que as amostras comerciais foram produzidas a partir de plantas muito semelhantes e que estavam submetidas a condições ambientais também muito semelhantes, o que evitou que o metabolismo secundário de tais plantas produzisse perfis químicos muito variados. Como o boldo-do-chile não é plantado em escala comercial no Brasil, é muito provável que a matéria-prima usada na confecção dessas amostras comerciais tenha vindo de uma única origem, provavelmente o próprio Chile. Nas caixas do boldo-do-chile da marca “Chá Leão”, por exemplo, há informação de que o produto é importado. Essas informações são reforçadas pela presença, em grandes quantidades, dos três principais marcadores químicos dos óleos essenciais de boldo-do-chile (ascaridol, 1,8-cineol e *p*-cimeno). Em um futuro próximo, seria interessante analisar também a presença do principal marcador químico não-volátil dessa erva (o alcalóide boldina). Sua presença em nossas amostras poderia confirmar de forma inequívoca que as mesmas são realmente produzidas a partir do boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina).

Analisando os dados obtidos em nosso trabalho e os dados disponíveis na literatura, tivemos a idéia de sugerir o estabelecimento de diferentes quimiotipos para o boldo-do-chile com base em quatro compostos: ascaridol, *p*-cimeno, 1,8-cineol e limoneno. O quimiotipo A teria o ascaridol como componente majoritário e o *p*-cimeno e 1,8-cineol se alternariam na segunda e terceira posições (VERDEGUER et al., 2011). O quimiotipo B teria esses mesmos três compostos, porém o 1,8-cineol seria o majoritário, enquanto o *p*-cimeno e o ascaridol se alternariam na segunda e terceira posições (URZÚA et al., 2010). O quimiotipo C seria caracterizado pela presença de limoneno ao invés de 1,8-cineol, com a seguinte ordem de concentração: (1^o) ascaridol, (2^o) limoneno e (3^o) *p*-cimeno (PETIGNY et al., 2014). Por último, no quimiotipo D teríamos o limoneno substituindo o *p*-cimeno e a seguinte ordem de concentração: (1^o) ascaridol, (2^o) limoneno e (3^o) 1,8-cineol (BITTNER et al., 2009). É óbvio que vários outros estudos precisam ser desenvolvidos, com um número muito maior de amostras, para que se possa verificar se essa sugestão de classificação de amostras de boldo em diferentes quimiotipos é factível. Isso já é feito com amostras de camomila alemã (RUBIOLO et al., 2006). Esse tipo de classificação permitiria escolher um produto mais rico em determinados componentes bioativos que, dessa forma, teria mais valor e eficiência para o

tratamento de patologias específicas. Além disso, viabilizaria a seleção de amostras com conteúdos menores de compostos tóxicos. As amostras comerciais de boldo-do-chile analisadas no presente estudo seriam classificadas como pertencentes ao quimiotipo A.

O grupo dos compostos não-terpênicos é formado por apenas 5 representantes: dois compostos aromáticos, duas cetonas e um ácido carboxílico. Isso significa que apenas 9,10% dos compostos presentes nos óleos essenciais analisados podem ser classificados como não-terpênicos. Esse grupo responde por um valor médio de apenas 3,13% do teor desses óleos essenciais, com a maioria de seus membros apresentando teores inferiores a 1% nessas matrizes (vide Tabela 5). Por conta disso, dificilmente esses compostos serão importantes para o aroma global dessas amostras.

Table 3. Compostos voláteis e semi-voláteis identificados nos óleos essenciais provenientes das amostras de *Peumus boldus* Molina vendidas na cidade do Rio de Janeiro sob a forma de caixas contendo sachês (grupo 1).

Composto	IK	IK literatura	Leão (%)	Oetker (%)	Real (%)	Chinezinho (%)	M ± DP (%)
α -Tujeno ^{b,c}	919	920 (δ)	0,12	0,11	0,13	0,16	0,13 ± 0,02
α -Pinenos ^{b,c}	925	926 (θ)	1,02	1,02	0,95	1,11	1,03 ± 0,07
Canfeno ^{b,c}	935	943 (δ)	0,16	0,13	0,15	0,18	0,16 ± 0,02
Sabineno ^{b,c}	959	969 (δ)	1,06	0,95	1,03	1,10	1,04 ± 0,06
β -Pinenos ^{b,c}	962	964 (θ)	0,56	0,54	0,52	0,58	0,55 ± 0,03
β -Mirceno ^{b,c}	980	986 (δ)	0,15	0,13	0,20	0,22	0,18 ± 0,04
α -Felandreno ^{b,c}	992	999 (δ)	0,23	0,12	0,30	0,24	0,22 ± 0,08
δ -3-Careno ^{b,c}	1000	1004 (θ)	0,40	0,37	0,44	0,63	0,46 ± 0,12
p -Cimeno ^{b,c}	1015	1016 (θ)	13,43	12,46	9,06	10,47	11,36 ± 1,96
1,8-cineol (Eucaliptol) ^{a,b,c}	1020	1022 (δ)	15,95	12,50	11,74	12,56	13,19 ± 1,88
D-Limoneno ^{a,b,c}	1021	1024 (δ)	0,78	1,06	1,01	0,93	0,95 ± 0,12
<i>cis</i> - β -Ocimeno ^{b,c}	1036	1040 (θ)	0,08	0,06	0,15	0,15	0,11 ± 0,05
γ -Terpineno ^{b,c}	1045	1050 (δ)	0,94	0,96	1,06	0,86	0,96 ± 0,08
Fenchona ^{b,c}	1060	1071 (θ)	0,35	0,19	0,42	0,29	0,31 ± 0,10
2-Metil-1-propenil-benzeno ^{b,c}	1067	1071 (θ)	0,22	0,25	0,25	0,22	0,24 ± 0,02
2-Nonanona ^{a,b,c}	1070	1075 (θ)	0,13	0,08	0,09	0,11	0,10 ± 0,02
Terpinoleno ^{b,c}	1073	1080 (δ)	0,25	0,21	0,29	0,25	0,25 ± 0,03
Linalol ^{a,b,c}	1084	1085 (θ)	1,46	1,75	2,52	1,80	1,88 ± 0,45
Fenchol ^{b,c}	1091	1112 (θ)	0,67	0,47	0,63	0,62	0,60 ± 0,09
NI	1099	----	0,32	0,16	0,39	0,31	0,30 ± 0,10
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol ^{b,c}	1101	1112 (λ)	0,25	0,20	0,39	0,24	0,27 ± 0,08
Cânfora ^{b,c}	1110	1120 (θ)	0,12	0,08	0,22	0,11	0,13 ± 0,06
<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol ^{b,c}	1112	1122 (ι)	0,15	0,14	0,21	0,17	0,17 ± 0,03
<i>L-trans</i> -pinocarveol ^{b,c}	1115	1133 (ξ)	1,30	1,48	1,70	1,26	1,44 ± 0,20
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol ^{b,c}	1118	1140 (μ)	0,18	0,21	0,29	0,21	0,22 ± 0,05
Sabina cetona ^{b,c}	1119	1156 (θ)	0,26	0,13	0,31	0,29	0,25 ± 0,08
<i>cis</i> -Verbenol ^{b,c}	1122	1165 (θ)	0,14	0,15	0,18	0,17	0,16 ± 0,02
Pinocarvona ^{b,c}	1129	1168 (θ)	0,89	0,73	0,95	0,77	0,84 ± 0,10
NI	1139	----	1,06	0,83	0,95	0,91	0,94 ± 0,10
Terpinen-4-ol ^{b,c}	1157	1177 (β)	3,97	3,60	5,14	3,77	4,12 ± 0,70
Mirtenal ^{b,c}	1160	1193 (θ)	0,44	0,23	0,76	0,40	0,46 ± 0,22
p -Cimen-8-ol ^{b,c}	1164	1196 (θ)	0,51	0,34	nd	0,63	0,37 ± 0,27
α -Terpineol ^{a,b,c}	1172	1198 (θ)	0,68	1,13	1,18	0,76	0,94 ± 0,25
Mirtenol ^{b,c}	1179	1202 (θ)	0,34	0,89	1,08	0,25	0,64 ± 0,41
Ascaridol ^{b,c}	1217	1241 (θ)	23,88	17,26	12,29	26,75	20,05 ± 6,52
Óxido de piperitona ^{b,c}	1222	1251 (θ)	0,54	0,32	0,66	0,53	0,51 ± 0,14
NI	1223	----	0,26	0,20	0,57	nd	0,26 ± 0,24
Derivado de ascaridol ^{b,c}	1226	1273 (κ)	0,93	0,65	1,21	0,57	0,84 ± 0,29
p -Cimen-7-ol ^{b,c}	1262	1288 (μ)	0,75	0,31	0,34	0,71	0,53 ± 0,23
Acetate de bornila ^{b,c}	1265	1285 (θ)	Nd	0,47	0,45	nd	0,23 ± 0,27
Timol ^{b,c}	1266	1290 (α)	0,41	0,57	0,47	0,38	0,46 ± 0,08
Dióxido de limoneno ^{b,c}	1271	1294 (θ)	2,85	2,70	1,94	3,09	2,65 ± 0,50
2-Undecanona ^{a,b,c}	1274	1296 (ι)	0,30	0,41	0,35	0,30	0,34 ± 0,05
Carvacrol ^{b,c}	1278	1298 (θ)	0,76	1,20	0,97	0,72	0,91 ± 0,22
p -Menta-1,4-dien-7-ol ^{b,c}	1298	1333 (θ)	0,23	0,24	0,31	0,22	0,25 ± 0,04
Metil-eugenol ^{a,b,c}	1369	1360 (θ)	1,45	2,05	1,73	1,63	1,71 ± 0,25
Cariofileno ^{b,c}	1399	1418 (θ)	0,10	0,23	0,24	0,15	0,18 ± 0,07
Aloaromadendreno ^{b,c}	1439	1461 (θ)	1,13	1,84	1,89	1,00	1,47 ± 0,47
δ -Cadineno ^b	1499	1524 (θ)	0,09	0,23	0,24	0,18	0,19 ± 0,07
Palustrol ^{b,c}	1538	1568 (θ)	0,16	0,32	0,39	0,21	0,27 ± 0,10

Nerolidol ^{b,c}	1543	1565 (θ)	0,93	2,03	1,74	1,51	1,55 ± 0,47
Espatulenol ^{b,c}	1545	1575 (θ)	0,87	1,57	1,80	1,17	1,35 ± 0,41
Óxido de cariofileno ^{b,c}	1548	1581 (θ)	0,40	0,69	0,70	0,48	0,57 ± 0,15
Epóxido de isoaromadendreno ^{b,c}	1573	1606 (ν)	2,93	6,07	4,74	3,44	4,30 ± 1,41
α-Cadinol ^{b,c}	1620	1644 (δ)	0,36	0,49	0,68	0,44	0,49 ± 0,14
Santalol ^{b,c}	1651	1660 (δ)	1,25	2,13	2,69	1,33	1,85 ± 0,69
Isolongifolol ^{b,c}	1771	1741 (η)	1,40	2,34	2,60	1,30	1,91 ± 0,66
Ácido palmítico ^{a,b,c}	1951	1950 (θ)	0,68	1,05	1,58	0,54	0,96 ± 0,46
Total			91,23	89,03	85,27	89,38	88,73 ± 2,50

^aIdentificado por coeluição com compostos voláteis padrões; ^bIdentificado pelos dados de espectrometria de massas; ^cIdentificado pela comparação do índice de Kovats (IK) calculado com o índice de Kovats teórico (disponível na literatura); IK – índice de Kovats modificado (VAN DEN DOOL AND KRATZ, 1963); M - média; DP - desvio padrão; nd – não detectado (considerado 0% para fins de cálculo de média e desvio padrão); Referências bibliográficas: α – ÖZEL et al., 2008; β – AZAR et al., 2011; δ - ORAV et al., 2006; η - NIST; θ – PHEROBASE; ι – FLAVORNET; κ – URZÚA et al., 2010; λ – NOUDOGBESSI et al., 2012; μ – NOUDOGBESSI et al., 2013; ν – CHEN et al., 2011, ξ – PETIGNY et al., 2014.

Table 4. Compostos voláteis e semi-voláteis identificados nos óleos essenciais provenientes das amostras de *Peumus boldus* Molina vendidas na cidade do Rio de Janeiro em sacos plásticos (grupo 2).

Composto	IK	IK literatura	ArmaZen (%)	Anequim (%)	Aroma de Cha (%)	M ± DP (%)
α -Tujeno ^{b,c}	919	920 (δ)	0,15	0,38	0,15	0,23 ± 0,13
α -Pinenos ^{b,c}	925	926 (θ)	1,31	1,78	1,07	1,39 ± 0,36
Canfeno ^{b,c}	935	943 (δ)	0,17	0,21	0,14	0,17 ± 0,04
Sabineno ^{b,c}	959	969 (δ)	1,37	0,88	1,82	1,36 ± 0,47
β -Pinenos ^{b,c}	962	964 (θ)	0,67	0,61	0,70	0,66 ± 0,05
β -Mirceno ^{b,c}	980	986 (δ)	0,28	0,46	0,22	0,32 ± 0,12
α -Felandreno ^{b,c}	992	999 (δ)	0,33	0,55	0,36	0,41 ± 0,12
δ -3-Careno ^{b,c}	1000	1004 (θ)	0,92	0,33	0,31	0,52 ± 0,35
p -Cimeno ^{b,c}	1015	1016 (θ)	11,06	10,34	10,38	10,59 ± 0,40
1,8-cineol (Eucaliptol) ^{a,b,c}	1020	1022 (δ)	16,50	8,33	18,45	14,43 ± 5,37
<i>D</i> -Limoneno ^{a,b,c}	1021	1024 (δ)	0,58	1,71	0,40	0,90 ± 0,71
<i>cis</i> - β -Ocimeno ^{b,c}	1036	1040 (θ)	0,21	0,07	0,22	0,17 ± 0,08
γ -Terpineno ^{b,c}	1045	1050 (δ)	1,06	0,87	1,33	1,09 ± 0,23
Fenchona ^{b,c}	1060	1071 (θ)	0,28	0,46	0,30	0,35 ± 0,10
2-Metil-1-propenil-benzeno ^{b,c}	1067	1071 (θ)	0,20	0,18	0,11	0,16 ± 0,05
2-Nonanona ^{a,b,c}	1070	1075 (θ)	0,12	0,07	0,13	0,11 ± 0,03
Terpinoleno ^{b,c}	1073	1080 (δ)	0,37	0,20	0,34	0,30 ± 0,09
Linalol ^{a,b,c}	1084	1085 (θ)	1,42	1,72	1,75	1,63 ± 0,18
Fenchol ^{b,c}	1091	1112 (θ)	0,38	0,34	0,45	0,39 ± 0,06
NI	1099	----	0,32	0,37	0,38	0,36 ± 0,03
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol ^{b,c}	1101	1112 (λ)	0,26	0,21	0,28	0,25 ± 0,04
Cânfora ^{b,c}	1110	1120 (θ)	0,17	0,31	0,12	0,20 ± 0,10
<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol ^{b,c}	1112	1122 (ι)	0,14	0,17	0,17	0,16 ± 0,02
<i>L-trans</i> -pinocarveol ^{b,c}	1115	1133 (ξ)	1,56	1,70	1,34	1,53 ± 0,18
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol ^{b,c}	1118	1140 (μ)	0,18	0,20	0,21	0,20 ± 0,02
Sabina cetona ^{b,c}	1119	1156 (θ)	0,24	0,17	0,33	0,25 ± 0,08
<i>cis</i> -Verbenol ^{b,c}	1122	1165 (θ)	0,13	nd	0,14	0,09 ± 0,08
Pinocarvona ^{b,c}	1129	1168 (θ)	1,09	0,98	1,01	1,03 ± 0,06
NI	1139	----	0,79	0,57	1,16	0,84 ± 0,30
Terpinen-4-ol ^{b,c}	1157	1177 (β)	5,13	5,05	4,82	5,00 ± 0,16
Mirtenal ^{b,c}	1160	1193 (θ)	0,42	0,47	0,47	0,45 ± 0,03
<i>p</i> -Cimen-8-ol ^{b,c}	1164	1196 (θ)	0,37	0,56	0,23	0,39 ± 0,17
α -Terpineol ^{a,b,c}	1172	1198 (θ)	1,13	0,85	1,38	1,12 ± 0,27
Mirtenol ^{b,c}	1179	1202 (θ)	0,40	0,53	0,57	0,50 ± 0,09
Ascaridol ^{b,c}	1217	1241 (θ)	22,65	26,20	19,82	22,89 ± 3,20
Óxido de piperitona ^{b,c}	1222	1251 (θ)	0,45	0,40	0,40	0,42 ± 0,03
NI	1223	----	0,19	0,18	0,23	0,20 ± 0,03
Derivado de ascaridol ^{b,c}	1226	1273 (κ)	1,00	0,87	0,87	0,91 ± 0,08
<i>p</i> -Cimen-7-ol ^{b,c}	1262	1288 (μ)	0,66	0,75	0,75	0,72 ± 0,05
Acetate de bornila ^{b,c}	1265	1285 (θ)	tr	nd	tr	0,00 ± 0,00
Timol ^{b,c}	1266	1290 (α)	0,30	0,20	0,22	0,24 ± 0,05
Dióxido de limoneno ^{b,c}	1271	1294 (θ)	2,66	2,86	2,26	2,59 ± 0,31
2-Undecanona ^{a,b,c}	1274	1296 (ι)	0,28	0,22	0,31	0,27 ± 0,05
Carvacrol ^{b,c}	1278	1298 (θ)	0,62	0,87	0,52	0,67 ± 0,18
<i>p</i> -Menta-1,4-dien-7-ol ^{b,c}	1298	1333 (θ)	0,24	0,18	0,29	0,24 ± 0,06
Metil-eugenol ^{a,b,c}	1369	1360 (θ)	1,64	2,41	1,41	1,82 ± 0,52
Cariofileno ^{b,c}	1399	1418 (θ)	0,40	0,36	0,43	0,40 ± 0,04
Aloaromadendreno ^{b,c}	1439	1461 (θ)	0,94	0,67	2,62	1,41 ± 1,06
δ -Cadineno ^b	1499	1524 (θ)	0,49	0,34	0,48	0,44 ± 0,08
Palustrol ^{b,c}	1538	1568 (θ)	0,27	0,23	0,20	0,23 ± 0,04

Nerolidol ^{b,c}	1543	1565 (θ)	0,51	nd	0,48	0,33 ± 0,29
Espatulenol ^{b,c}	1545	1575 (θ)	1,94	7,25	1,62	3,60 ± 3,16
Óxido de cariofileno ^{b,c}	1548	1581 (θ)	0,50	0,46	0,46	0,47 ± 0,02
Epóxido de isoaromadendreno ^{b,c}	1573	1606 (ν)	2,12	1,83	1,83	1,93 ± 0,17
α-Cadinol ^{b,c}	1620	1644 (δ)	0,79	0,77	0,55	0,70 ± 0,13
Santalol ^{b,c}	1651	1660 (δ)	1,45	1,13	0,89	1,16 ± 0,28
Isolongifolol ^{b,c}	1771	1741 (η)	1,24	1,04	1,02	1,10 ± 0,12
Ácido palmítico ^{a,b,c}	1951	1950 (θ)	0,68	0,34	0,63	0,55 ± 0,18
Total			91,73	91,19	89,53	90,82 ± 1,15

^aIdentificado por coeluição com compostos voláteis padrões; ^bIdentificado pelos dados de espectrometria de massas; ^cIdentificado pela comparação do índice de Kovats (IK) calculado com o índice de Kovats teórico (disponível na literatura); IK – índice de Kovats modificado (VAN DEN DOOL AND KRATZ, 1963); M - média; DP - desvio padrão; nd – não detectado (considerado 0% para fins de cálculo de média e desvio padrão); tr – traço (< 0,03%) (também considerado 0% para fins de cálculo de média e desvio padrão) Referências bibliográficas: α – ÖZEL et al., 2008; β – AZAR et al., 2011; δ - ORAV et al., 2006; η - NIST; θ – PHEROBASE; ι – FLAVORNET; κ – URZÚA et al., 2010; λ – NOUDOGBESSI et al., 2012; μ – NOUDOGBESSI et al., 2013; ν – CHEN et al., 2011, ξ – PETIGNY et al., 2014.

Table 5. Comparação entre os grupos 1 (caixas com sachês) e 2 (sacos plásticos).

Composto	IK	M ± DP (Grupo 1) (%)	M ± DP (Grupo 2) (%)	p (ANOVA)	Classificação
<i>α</i> -Tujeno ^{b,c}	919	0,13 ± 0,02	0,23 ± 0,13	0,199464	M
<i>α</i> -Pinenos ^{b,c}	925	1,03 ± 0,07	1,39 ± 0,36	0,098903	M
Canfeno ^{b,c}	935	0,16 ± 0,02	0,17 ± 0,04	0,421827	M
Sabineno ^{b,c}	959	1,04 ± 0,06	1,36 ± 0,47	0,221133	M
<i>β</i> -Pinenos ^{b,c}	962	0,55 ± 0,03 ^A	0,66 ± 0,05 ^B	0,009447	M
<i>β</i> -Mirceno ^{b,c}	980	0,18 ± 0,04	0,32 ± 0,12	0,076933	M
<i>α</i> -Felandreno ^{b,c}	992	0,22 ± 0,08 ^A	0,41 ± 0,12 ^B	0,046882	M
<i>δ</i> -3-Careno ^{b,c}	1000	0,46 ± 0,12	0,52 ± 0,35	0,75388	M
<i>p</i> -Cimeno ^{b,c}	1015	11,36 ± 1,96	10,59 ± 0,40	0,546571	M (CA)
Eucaliptol (1,8-cineol) ^{a,b,c}	1020	13,19 ± 1,88	14,43 ± 5,37	0,678884	MO
<i>D</i> -Limoneno ^{a,b,c}	1021	0,95 ± 0,12	0,90 ± 0,71	0,89572	M
<i>cis-β</i> -Ocimeno ^{b,c}	1036	0,11 ± 0,05	0,17 ± 0,08	0,300647	M
<i>γ</i> -Terpineno ^{b,c}	1045	0,96 ± 0,08	1,09 ± 0,23	0,329066	M
Fenchona ^{b,c}	1060	0,31 ± 0,10	0,35 ± 0,10	0,666941	MO
2-Metil-1-propenil-benzeno ^{b,c}	1067	0,24 ± 0,02 ^A	0,16 ± 0,05 ^B	0,035236	CA
2-Nonanona ^{a,b,c}	1070	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,03	0,845671	C
Terpinoleno ^{b,c}	1073	0,25 ± 0,03	0,30 ± 0,09	0,31617	M
Linalol ^{a,b,c}	1084	1,88 ± 0,45	1,63 ± 0,18	0,40976	MO
Fenchol ^{b,c}	1091	0,60 ± 0,09 ^A	0,39 ± 0,06 ^B	0,016378	MO
NI	1099	0,30 ± 0,10	0,36 ± 0,03	0,346215	---
<i>cis-p</i> -Ment-2-en-1-ol ^{b,c}	1101	0,27 ± 0,08	0,25 ± 0,04	0,71647	MO
Cânfora ^{b,c}	1110	0,13 ± 0,06	0,20 ± 0,10	0,308972	MO
<i>trans-p</i> -Menta-2,8-dien-1-ol ^{b,c}	1112	0,17 ± 0,03	0,16 ± 0,02	0,724798	MO
<i>L-trans</i> -pinocarveol ^{b,c}	1115	1,44 ± 0,20	1,53 ± 0,18	0,535018	MO
<i>trans-p</i> -Ment-2-en-1-ol ^{b,c}	1118	0,22 ± 0,05	0,20 ± 0,02	0,411812	MO
Sabina cetona ^{b,c}	1119	0,25 ± 0,08	0,25 ± 0,08	0,989732	MO
<i>cis</i> -Verbenol ^{b,c}	1122	0,16 ± 0,02	0,09 ± 0,08	0,134541	MO
Pinocarvona ^{b,c}	1129	0,84 ± 0,10 ^A	1,03 ± 0,06 ^B	0,034594	MO
NI	1139	0,94 ± 0,10	0,84 ± 0,30	0,55634	---
Terpinen-4-ol ^{b,c}	1157	4,12 ± 0,70	5,00 ± 0,16	0,089948	MO
Mirtenal ^{b,c}	1160	0,46 ± 0,22	0,45 ± 0,03	0,975975	MO
<i>p</i> -Cimen-8-ol ^{b,c}	1164	0,37 ± 0,27	0,39 ± 0,17	0,930092	MO (CA)
<i>α</i> -Terpineol ^{a,b,c}	1172	0,94 ± 0,25	1,12 ± 0,27	0,397821	MO
Mirtenol ^{b,c}	1179	0,64 ± 0,41	0,50 ± 0,09	0,592262	MO
Ascaridol ^{b,c}	1217	20,05 ± 6,52	22,89 ± 3,20	0,523994	MO
Óxido de piperitona ^{b,c}	1222	0,51 ± 0,14	0,42 ± 0,03	0,309372	MO
NI	1223	0,26 ± 0,24	0,20 ± 0,03	0,698856	---
Derivado de ascaridol ^{b,c}	1226	0,84 ± 0,29	0,91 ± 0,08	0,694075	MO
<i>p</i> -Cimen-7-ol ^{b,c}	1262	0,53 ± 0,23	0,72 ± 0,05	0,230706	MO (CA)
Acetate de bornila ^{b,c}	1265	0,23 ± 0,27	0,00 ± 0,00	0,203291	MO
Timol ^{b,c}	1266	0,46 ± 0,08 ^A	0,24 ± 0,05 ^B	0,011423	MO (CA)
Dióxido de limoneno ^{b,c}	1271	2,65 ± 0,50	2,59 ± 0,31	0,881292	MO
2-Undecanona ^{a,b,c}	1274	0,34 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,125082	C
Carvacrol ^{b,c}	1278	0,91 ± 0,22	0,67 ± 0,18	0,183101	MO (CA)
<i>p</i> -Menta-1,4-dien-7-ol ^{b,c}	1298	0,25 ± 0,04	0,24 ± 0,06	0,725788	MO
Metil-eugenol ^{a,b,c}	1369	1,71 ± 0,25	1,82 ± 0,52	0,735159	CA
Cariofileno ^{b,c}	1399	0,18 ± 0,07 ^A	0,40 ± 0,04 ^B	0,003981	S
Aloaromadendreno ^{b,c}	1439	1,47 ± 0,47	1,41 ± 1,06	0,928121	S
<i>δ</i> -Cadineno ^b	1499	0,19 ± 0,07 ^A	0,44 ± 0,08 ^B	0,007087	S
Palustrol ^{b,c}	1538	0,27 ± 0,10	0,23 ± 0,04	0,591287	DO
Nerolidol ^{b,c}	1543	1,55 ± 0,47 ^A	0,33 ± 0,29 ^B	0,010727	SO

Espatuleno ^{b,c}	1545	1,35 ± 0,41	3,60 ± 3,16	0,205427	SO
Óxido de cariofileno ^{b,c}	1548	0,57 ± 0,15	0,47 ± 0,02	0,34307	SO
Epóxido de isoaromadendreno ^{b,c}	1573	4,30 ± 1,41 ^A	1,93 ± 0,17 ^B	0,036634	SO
α -Cadinol ^{b,c}	1620	0,49 ± 0,14	0,70 ± 0,13	0,096028	SO
Santalol ^{b,c}	1651	1,85 ± 0,69	1,16 ± 0,28	0,166405	SO
Isolongifolol ^{b,c}	1771	1,91 ± 0,66	1,10 ± 0,12	0,094207	SO
Ácido palmítico ^{a,b,c}	1951	0,96 ± 0,46	0,55 ± 0,18	0,212504	AC
Total		88,73 ± 2,50	90,82 ± 1,15	0,243007	----

AC – Ácido carboxílico; C – Cetona; CA – Composto aromático; M – Monoterpeno; MO – Monoterpeno oxigenado; S – Sesquiterpeno; SO – Sesquiterpeno oxigenado; DO – Diterpeno oxigenado. ^aIdentificado por coeluição com compostos voláteis padrões; ^bIdentificado pelos dados de espectrometria de massas; ^cIdentificado pela comparação do índice de Kovats (IK) calculado com o índice de Kovats teórico (disponível na literatura); IK – índice de Kovats modificado (Van den Dool and Kratz, 1963); M - média; DP - desvio padrão; Em uma mesma linha, valores com letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

6- CONCLUSÕES

A composição química dos óleos essenciais de sete amostras de boldo-do-chile comercializadas na cidade do Rio de Janeiro na forma de sachês (4) ou sacos plásticos (3) para a confecção de chás foi caracterizada. Dos cinquenta e cinco (55) compostos identificados, seis (*cis*- β -ocimeno, δ -cadineno, palustrol, epóxido de isoaromadendreno, santalol e isolongifolol) foram indicados pela primeira vez como constituintes desse tipo de matriz. O perfil químico dos óleos essenciais provenientes das amostras de sachês (grupo 1) mostrou-se qualitativamente e quantitativamente muito semelhante ao dos óleos essenciais oriundos das amostras comercializadas em sacos plásticos (grupo 2). Essa semelhança de perfil químico entre esses óleos essenciais pode indicar uma única origem para as plantas utilizadas na produção dessas amostras comerciais. A presença (em concentrações elevadas) de três importantes marcadores químicos dos óleos essenciais do boldo-do-chile (ascaridol, 1,8-cineol e *p*-cimeno) sugere que as amostras analisadas não são fraudadas. O 1,8-cineol, o *p*-cimeno e o terpinen-4-ol possuem potencial para serem caracterizados como compostos de odor ativo nessas amostras.

7- REFERÊNCIAS

AGGARWAL, K. K., KHANUJA, L. S. P. S., ATEEQUE AHMAD, KUMAR, S., GUPTA, T. R., VIVEK, K. & KUMAR, S. Antimicrobial activity profiles of the two enantiomers of limonene and carvone isolated from the oils of *Mentha spicata* and *Anethum sowa*. **Flavour Fragrance Journal**, v.17, p.59–63, 2002.

AGUAYO, G., I., S. Actividade de polvo, extractos, oleo esencial De *Peumus boldus* Molina SOLOS Y EN MEZCLA CON *Bacillus Thuringiensis* Berliner CONTRA *Spodoptera fugiperda* (J.E. Smith) y *Helicoverpa zea* (Boddie). 2010. 163 f. Tese apresentada como requisito para obtenção de grau de doctor em ciencias- Instituto de ensino de Ciencias Agrícolas- Campus Montecillo, México, 2010.

AGOSTINI, F., SANTOS, A.C.A, ROSSATO, M., ZATTERA, F., WASUM, R. & SERAFINI, L.A. Estudo do óleo essencial de algumas espécies do gênero *Baccharis* (Asteraceae) do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.15, n.3, p.215-220, 2005.

ALMEIDA, E.R., MELO, A.M., XAVIER, H. Toxicological evaluation of the hydro-alcohol extract of the dry leaves of *Peumus boldus* and boldine in rats. **Phytotherapy Research**, v.14, p.99-102, 2000.

ASTANI, A., SCHNITZLER, P. Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. **Iranian journal of Microbiology**, v.6, n.3, p.149-155, 2014.

APEL, M.A., SOBRAL, M. & HENRIQUE, A.T. Composição química do óleo volátil de *Myrcianthes* nativas da região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.16, n.3, p.402-407, jul./set. 2006.

AZAR, P.A., NEKOEI, M., RIAHI, S., GANJALI, M.R. & ZARE, K. A quantitative structure–retention relationship for the prediction of retention indices of the essential oils of *Ammoidesatlântica*. **Journal of the Serbian Chemical Society**, v.76, n.6, p.891–902, 2011.

BACKHOUSE, N., DELPORTE, C., GIVERNAU, M., CASSELS, B. K., VALENZUELA, A., & SPEISKY, H. Anti-inflammatory and antipyretic effects of boldine. **Agents Actions**, v.42, p.114–117, 1994.

BANDEIRA, J. M. Composição do óleo essencial de quatro espécies do gênero *Plectranthus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu**, v.13, n.2, p.157-164, 2011.

BARBOSA-FILHO, J.M., PIUVEZAM, M.R, MOURA, M.D, SILVA, M.S, LIMA, K.V.B., CUNHA, E.V.L., FECHINE, I.M., TAKEMURA, O.S. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty century review. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.16, p.109-139, 2006.

BASILA, D., YUAN, C-S. Effects of dietary supplements on coagulation and platelet function. **Thrombosis Research**, v.117, n.1-2, p.49-53, 2005.

BEKELE, J. & HASSANALI, A. Blend effects in toxicity of essential oil constituents of ocimum kilimandscharicum and ocimum kenyense (Labiataea) on two post-harvest insect pests. **Phytochemistry**, v.57, p.385-391, 2001.

BITTNER, M., MILENKO, A., AGUILERA, HERNÁNDEZ, V., ARBERT, C., BECERRA, J., CASANUEVA, M. E. fungistatic activity of essential oils extracted from peumus boldus mol., laureliopsis philippiana (looser) schodde and laurelia sempervirens (ruiz & pav.) tul. (chilean monimiaceae). **Chilean Journal Of Agricultural Research**, v.69, n.1, p.30-37, 2009.

BLANK, A.F., de SOUZA, E.M., BLANK, M.F.A., de PAULA, J.W.A. & ALVES, P.B. Maria Bonita: cultivar de manjeriçao tipo linalol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.12, p.1811-1813, 2007.

BLUMA, R., LANDA, M.F., ETCHEVERRY, M. Impact of volatile compounds generated by EOs on Aspergillus section Flavi growth parameters and aflatoxin accumulation. **Journal of the Sciences and Food Agriculture.**, v.89, p.1473–1480, 2009.

BOLAND, D. J., BROPHY, J. J., HOUSE, A. P. N. Eucalyptus Leaf Oils: Use, Chemistry, Distillation and Marketing. Melbourne: **Inkata Press.**, p.6, 1991.

BOONBUMRUNG, S., TAMURA, H., MOOKDASANIT, J., NAKAMOTO, H., ISHIHARA, M., YOSHIKAWA, T. & VARANYANOND, W. Characteristic Aroma Components of the Volatile Oil of Yellow Keaw Mango Fruits Determined by Limited Odor Unit Method. **Food Science Technology Research**, v.7, n.3, p.200–206, 2001.

BRANDÃO, M.G.L., COSENZA, G.P., MOREIRA, R.A., MONTE-MOR, R.L.M., Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.16, n.3, p.408-420, 2006.

BRASIL, POLÍTICA NACIONAL DE FITOTERÁPICOS E O IMPACTO NAS FARMÁCIA (MINISTÉRIO DA SAÚDE). 2008. Disponível em: http://bvmsms.saude.gov.br/bvs/palestras/cancer/politica_nacional_fititerapicos.pdf, acesso em 15 de Novembro de 2013.

BUTTERY, R.C.; BLACK, D.R.; GUADAGNI, D.G.; LING, L.C.; CONNOLLY, G. & TERANISHI, R. California Bay Oil. I. Constituents, Odor Properties. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.22, n.5, p.773 – 777, 1974.

BUTTERY, R.G. & TAKEOKA, G.R. Cooked Carrot Volatiles. AEDA and Odor Activity Comparisons Identification of Linden Ether as an Important Aroma Component. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.61, p.9063–9066, 2013.

CAMPÊLO, L.M.L., ALMEIDA, A.A.C., FREITAS, R.L.M., SOUZA, G.F., SALDANHA, G.B., FEITOSA, C.M., FREITAS, R.M. Antioxidant and antinociceptive effects of Citrus limon essential oil in mice. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.2011, p.1-8, 2011a.

CAMPÊLO, L.M.L.; SÁ, C.G., ALMEIDA, A.A.C., COSTA, J.P., MARQUES, T.H.C., FEITOSA, C.M., SALDANHA, G.B., FREITAS, R.M. Sedative, anxiolytic and antidepressant activities of Citrus limon (Burn) essential oil in mice. **Die Pharmazie**, v. 66, n. 8, p.1-5, 2011b.

CHAGAS, A.C.S., PASSOS, W.M., PRATES, H.T., LEITE, R.C., FURLONG, J. & FORTES, I.C.P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n.5, p.247-253, 2002.

CHEN, H., YANG, Y., XUE, J., WEI, J., ZHANG, Z. Comparison of Compositions and Antimicrobial Activities of Essential Oils from Chemically Stimulated Agarwood, Wild Agarwood and Healthy Aquilariasinensis(Lour.) Gilg Trees. **Molecules**, v.16, p.4884-4896, 2011.

CHOI, H.S., SAWAMURA, M. & KONDO, Y. Characterization of the Key Aroma Compounds of *Citrus flaviculpus* Hort. ex Tanaka by Aroma Extraction Dilution Analysis. **Journal of Food Science**, v.67, n.5, p.1713 - 1718, 2002.

COSENTINO, S., TUBEROSO, C.I.G., PISANO, B., SATTA, M., MASCIA, V., ARZEDI, E. & PALMAS, F. *In-vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. **Letters in Applied Microbiology**, v.29, p.130–135, 1999.

COUNCIL OF EUROPE. Opinion of the scientific committee on food on estragol (1-allyl- 4-methoxybenzene). Strasbourg: **Committee of Experts on Flavouring Substances**, Adopted on 26 September, 2001.

DEL VALLE, J.M., ROGALINSKI, T., ZETZL, C. BRUNNER, G. Extraction of boldo (*Peumus boldus* M.) leaves with supercritical CO₂ and hot pressurized water. **Food Research International**, v.38, p.203–213, 2005.

DEMBITSKY, V., SHKROBB, I., HANUS, L.O. Ascaridole And Related Peroxides From The Genus *Chenopodium*. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub**, v.152, n.2, p.209–215, 2008.

DORMAN, H. J. D. & DEANS, S. G . Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal Application Microbiology**, v. 88, p.308-316, 2000.

EFFERTH, T., OLBRICH, A., SAUERBREY, A., ROSS, D.D., GEBHART, E., NEUGEBAUER, M. Activity of ascaridol from the anthelmintic herb *Chenopodium anthelminticum* L. Against sensitive and multidrug resistant tumor cells. **Anticancer Research**, v.22, n.6, p.4221–4224, 2002.

ESTANISLAU, A. A., BARROS, F.A.S, PENHA, A.P., SANTOS, S.C., FERRI, P.H., PAULA, J.R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *Eucalyptus* cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, n.2, p.95-100, 2001.

FAHAL, A. H. Mycetoma thorn on the flesh. Review article. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.98, p.3-11, 2004.

FANARO, G.B., DUARTE, R.C., ARAÚJO, M.M., PURGATTO, E. & VILLAVICENCIO A.L.C.H. Evaluation of γ -radiation on green tea odor volatiles. **Radiation Physics and Chemistry**, v.80, p.85–88, 2011.

FAZZALARI, F. A., editor, Compilation of odor and taste threshold data, ASTM Data Series DS 48 A (1978).

FLAVORNET. <http://www.flavornet.org/flavornet.html> Acesso em agosto de 2014.

FRANCO, J., NASHIMA, T. & BOLLER, C. Composição química e atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Eucalyptus cinerea* F. Mull. ex Benth., Myrtaceae, extraído em diferentes intervalos de tempo. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.15, n.3, p.191-194, 2005.

GADANO, A., GURNI, A., LOPEZ, P., FERRARO, G., CARBALLO, M. In vitro genotoxic evaluation of the medicinal plant *Chenopodium ambrosioides*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.81, n.1 p.11–16, 2002.

GELAIN, D.P. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes (+)-Camphene, *p*-Cymene, and Geranyl Acetate in Experimental Models. **ISRN Toxicology**, v.2013, p.11, 2013.

GOTTELAND, M., ESPINOZA, J., CASSELS, B.K., SPEISKY, H. Effect of a dry boldo extract on oro-cecal intestinal transit in healthy volunteers. **Revista Medica do Chile**, v.123, p.955–960, 1995.

GUERIN, J. Antifungal activity of plants extracts used in therapy. I. Estudy of 41 plants extracts against 9 fungus species. **The annals of pharmacotherapy française**, v.42, n.6, p.553-9, 1984.

JAIN, R., AHMAD, M. AND LIMAYE, D., Antiinflammatory Principles from Natural Sources. **Hamdard-Medicus**, v.36, n.3, 16p, 1993.

JANZANTTI, N.S., MACORIS, M.S., GARRUTI, D. S., MONTEIRO, M. Influence of the cultivation system in the aroma of the volatile compounds and total antioxidant activity of passion fruit, **LWT - Food Science and Technology**, v.46, p.511 – 518, 2012.

JOMAA, S., RAHMO, A., ALNORI, A. S., CHATTY, M. E. The Cytotoxic Effect of Essential Oil of Syrian Citrus limon Peel on Human Colorectal Carcinoma Cell Line (Lim1863). **Middle East Journal of Cancer**, v.3, n.1, p.15-21, 2012.

JORGE NETO, J., VALENTIM, R. L., MANCINI, B. Análise cromatográfica do óleo essencial do Boldo do Chile: determinação quantitativa / Chromatographic analysis of essential oil of Boldo do Chile: quantitative determination. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.11, p.181-187, 1989.

JUERGENS, U., ENGELEN, T., RACKÉ, K., STÖBER, M., GILLISSEN, A.; VETTER, H. "Inhibitory Activity of 1,8-Cineol (Eucalyptol) on Cytokine Production in Cultured Human Lymphocytes and Monocytes". **Pulmonary Pharmacology & Therapeutics**, v.17, n.5, p.281–287, 2004.

KARR, L.L., COATS, J.R. Insecticidal properties of d-limonene. **Journal of Pesticide Science**, v.13, n.2, p.287-290, 1988.

KESEN, S., KELEBEK, H. & SELLI, S. Characterization of Potent Odorant Compounds in Turkish Olive Oils by GC-MS-Olfactometric Techniques. **International Journal of Food Studies**, v.3, p.248-257, 2014.

KLOCKE, J. A.; DARLINGTON, M. V., BALANDRIN, M. F.. "8-Cineole (Eucalyptol), a Mosquito Feeding and Ovipositional Repellent from Volatile Oil of *Hemizonia fitchii* (Asteraceae)". **Journal of Chemical Ecology**, v.13, n.12, p.2131, 1987.

LEE, B. H., P. ANNIS, F. TUMAALII AND S. LEE. The potential of 1,8-cineole as a fumigant for stored wheat. in: Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference, Canberra. 25-27 June 2003. **Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO)**, Canberra, Austrália. p.230-234, 2003.

LEITE, A.M., LIMA, E.O., SOUZA, E.L., DINIZ, M.F.F.M., TRAJANO, V.N. & MEDEIROS, I.A. Inhibitory effect of b-pinene, a-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.1, p. 121-126, 2007.

LEWIS, R. J., LEWIS, R. J. (SR.) Hazardous Chemicals Desk Reference. **Wiley-Interscience**, p. 114, 2008.

LI, X., YU, B., CURRAN, P. LIU, S.-Q. Chemical and Volatile Composition of Mango Wines Fermented with Different *Saccharomyces cerevisiae* Yeast Strains, **S. American Journal of Enology and Viticulture.**, v.32, n.1, 2011.

LIMA, C. C., CRIDDLE, D. N., COELHO-DE-SOUZA, A. N., MONTE, F. J. Q., JAFFAR, M., LEAL-CARDOSO, J. H. Relaxant and antispasmodic actions of methyleugenol on guinea-pig isolated ileum. **Planta Medica**, v.66, n.5, p.408-411, 2000.

LIMBERGER, R.P, SOBRAL, M. & HENRIQUES, A.T. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do rio grande do sul. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

MACDONALD, D., VANCREY, K., HARRISON, P., RANGACHARI, P.K., ROSENFELD, J., WARREN, C., SORGER, G. Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocide(s) that is(are) not toxic to mammalian smooth muscle. **Journal of Ethnopharmacology**, v.92, n.2, p.215-221, 2004.

MAGALHÃES, P. J. C., CRIDDLE, D. N., TAVARES, R. A., MELO, E. M., MOTA, T. L., LEAL-CARDOSO, J. H. Intestinal myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil

of *Croton nepetaefolius* and its constituents cineole, methyleugenol and terpineol. **Phytotherapy Research**, v.12, n.8, p.172–177, 1998.

MATERIAL SAFETY DATA SHEET - Cineole MSDS". **ScienceLab**. 2012.

MAZUTTI, M. J., MOSSI, R. L., CANSIAN, M. L., CORAZZA, C., DARIVA AND J. V. OLIVEIRA. Chemical Profile and antimicrobial activity of boldo (*Peumus boldus* MOLINA) extracts obtained by compressed carbon dioxide extraction. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.25, n.2, p. 427-434, 2008.

MELO, J. G., Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata-de-vaca (*Bauhinia* spp.) e gínco (*Ginkgo biloba* L.). **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.14, n.2, 2004.

MENDES, B.G, MACHADO, M.J, FALKENBERG, M. Triagem de glicolípídios em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v16, n.4, p.568-575, 2006.

MENDONÇA, P. M. L., efeito do metileugenol na excitabilidade nervosa em nervo ciático de rato. 2006. 68 f. Trabalho de conclusão de curso (especialização) - Universidade Estadual Do Ceará – **Uece Centro De Ciências Da Saúde, Mestrado Acadêmico Em Ciências Fisiológicas, Fortaleza-Ceará**, 2006.

MILLER, J.A., THOMPSON, A., HAKIM, I.A., CHOW, H.H.S. & THOMSON, C.A. d-Limonene: a bioactive food component from citrus and evidence for a potential role in breast cancer prevention and treatment. **Oncology Review**, v.5, p.31–42, 2010.

MIRALDI, E., FERRI, S., FRANCHI, G. G. & GIORGI, G. *Peumus boldus* essential oil: New constituents and comparison of oils from leaves of different origin. **Fitoterapia**, v.67, p.227-230, 1996.

MONTES, M., & WILKOMIRSKY, T. In *Medicina Tradicional Chilena*, editorial, Universidad de Concepcion, Concepcion, Chile, 1985. Kreitmalr, H., **Pharmazie**, v.7. 507p., 1952.

MOOKDASANIT, J., TAMURA, H., YOSHIZAWA, T., TOKUNAGA, T. & NAKANISHI, K. Trace Volatile Components in Essential Oil of *Citrus sudachi* by Means of Modified Solvent Extraction Method. **Food Science Technology Research**, v.9, n. 1, p.54–61, 2003.

MORAIS, S.M., DANTAS, J.D.P., SILVA, A.R.A., MAGALHÃES, E.F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, v.15, n.2, p.169-177, 2005.

MORAIS, S.M, CANTUNDA-JUNIOR, F.E.A., SILVA, A.R.A., MARTINS, N.J.S. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de *Croton* do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v.29, p.907-910, 2006.

MUCURY, C. Etnofarmacologia e o período gestacional: os constituintes químicos e suas respectivas atividades biológicas. 2008. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso

(especialização) – Escola de Saúde do Exército, Programa de Pós-Graduação em Aplicações Complementares às Ciências Militares – Rio de Janeiro, 2008.

NATIONAL TOXICOLOGY, PROGRAM "NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of d-Limonene (CAS No. 5989-27-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies)". **National Toxicology Program technical report series**, v.347. p.1–165, 1990.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM (NTP). Toxicology and carcinogenesis studies of methyleugenol (CAS No. 93–15–12) in F344/n rats and B6C3F1 mice (gavage studies). **DRAFT NTP-TR-491, NIH Publication**, No. 98–3950, 2000.

NEGAHBAN, M., MOHARRAMIPOUR, S. & SEFIKDON, F. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-products insects. **Journal of stored products research**, v.43, n.2, p.123-128, 2007.

NELSON, E. K. "A Chemical Investigation of the Oil of *Chenopodium*". **Journal of the American Chemical Society**, v.33, n8, pp.1404–1412, 1911.

NELSON, E. K. "A Chemical Investigation of the Oil of *Chenopodium*. II". **Journal of the American Chemical Society**, v.35, p.84–90, 1913.

NIST, (<http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C821556&Units=SI&Mask=3069#Gas-Chrom>).

NOUDOGBESSI, J. P., YEDOMONHAN, H., ALITONOU, G. A., CHALARD, P., FIGUEREDO, G., ADJALIAN, E., AVLESSI, F., CHALCHAT, J.C., SOHOUNHLOUÉ, D.C.K. Physical characteristics and chemical compositions of the essential oils extracted from different parts of *Siphonochilusaethiopicus*(Schweinf.) B. L. Burt (Zingiberaceae) harvested in Benin. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.4, n.11, p.4845-4851, 2012.

NOUDOGBESSI, J.P., ALITONOU, G.A. DJÈNONTIN, T., AVLESSI, F., FIGUEREDO, G. CHALARD, P., CHALCHAT, J.C. & SOHOUNHLOUE, D.C.K. Chemical Compositions and Physico-chemical Properties of Three Varieties Essential oils of *Cymbopogongiganteus* Growing to the Spontaneous State in Benin. **Oriental Journal Of Chemistry**, v.29, n.1, p. 59-67, 2013.

OBENG-OFORI, D., REICHMUTH, C.H. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. **International Journal of Pest Manage**, v.43, n.89, p.94, 1997.

O'BRIEN, P., CARRASCO-POZO, C., SPEISKY, H. Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. **Chemico-Biological Interactions**, v.159, pp.1–17, 2006.

ORAV, A., RAAL, A., ARAK, E., MÜÜRSEPP, M. & KAILAS, T. Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium*L. of different geographical origin. **Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry**, v.55, n.3, p.155–165, 2006.

ÖZEL, M.Z., GÖGÜS, F., & LEWIS, A.C. Composition of *Eucalyptus camaldulensis* Volatiles Using Direct Thermal Desorption Coupled with Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography–Time-of-Flight–Mass Spectrometry. **Journal of Chromatographic Science**, v.46, p.157 – 161, 2008.

PARE, P.W., ZAJICEK, J., FERRACINI, V.L., MELO, I.S. Antifungal terpenoids from *Chenopodium ambrosioides*. **Biochemistry Systematics and Ecology**, v.21, n.6, p.649-653, 1993.

PARK, H.M. "Limonene, a natural cyclic terpene, is an agonistic ligand for adenosine A(2A) receptors.". **Biochemistry Biophysics Research Community** p.345–8, 2011.

PASSONE, M.A., ETCHEVERRY, M. Antifungal impact of volatile fractions of *Peumus boldus* and *Lippia turbinata* on *Aspergillus* section *Flavi* and residual levels of these oils in irradiated peanut. **International Journal of Food Microbiology** , v168, p.17–23, 2014.

PAULA, J.A.M., PAULA, J.R., BARA, M.T.F., REZENDE, M.H., FERREIRA, H.D. Estudo farmacognóstico das folhas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L.R. Landrum – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognósia**, , v.18, p.265-278, 2008.

PAULA JAM. Fitoquímica e atividades biológicas de *Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) L.R. Landrum –Myrtaceae, 2011.

PETIGNY, L., PÉRINO, S., MINUTI, M., VISINONI, F., WAJSMAN, J., CHEMAT, F. Simultaneous Microwave Extraction and Separation of Volatile and Non-Volatile Organic Compounds of Boldo Leaves. From Lab to Industrial Scale. **International Journal of Molecular Sciences**, v.15, p.7183-7198, 2014.

PHEROBASE. www.pherobase.com, acesso em 23/08/2014.

PIETTA, P., MAURI, P., MANERA, E., & CEVA, P. Determination of isoquinoline alkaloids from *Peumus boldus* by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v.457, p.442–445, 1988.

PISCAGLIA, F., LEONI, S., VENTURI, A., GRAZIELLA, F., DONATI, G., BOLONDI, L. Caution in the use of boldo in herbal laxatives: a case of hepatotoxicity. **Scandinavian Journal Gastroenterol**, v.40, p.236-239, 2005.

PRATES, H.T., SANTOS, J.P., WAQUIL, J.M., FABRIS, J.D., OLIVEIRA, A.B. & FOSTER, J.E. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, v.23, n.4, p.243-249, 1998.

QUEZADA, N., ASECIO, M., DEL VALLE, J.M., AGUILERA, J.M., GOMEZ, B. Antioxidant activity of crude extract, alkaloid fraction, and flavonoid fraction from boldo (*Peumus boldus* Mol.) leaves. **Journal of Food Science**, v.69, n.5, p.371–376, 2004.

QUINTANS-JÚNIOR, L., MOREIRA, J.C.F., PASQUALI, M.A.B., RABIE, S.M.S., PIRES, A.S., SCHRÖDER, R., RABELO, T.K., SANTOS, J.P.A., LIMA, P.S.S., CAVALCANTI,

S.C.H., ARAÚJO, A.A.S., QUINTANS, J.S.S., & GELAIN, D.P. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes (+)-Camphene, *p*-Cymene, and Geranyl Acetate in Experimental Models. **ISRN Toxicology**, v.2013, 11p, 2013.

RIMADA R.S., JEANDUPEUX, R. & CAFFERATA LAZARO, F.R. Thermal stability of ascaridole in aqueous solution. Its relevance in the pharmacological action. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, p.115-118, 2007.

RIVOLI, J. Mitos e Realidades no Uso de Plantas Medicinais. Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar – Centro Universitário de Maringá. Maringá – Paraná – Brasil, 23 a 26 de outubro de 2007.

RODRIGUEZ, R., MATTHEI, O.S., QUESADA, M.M. Flora Arborea de Chile, 1st ed., **Editorial de la Universidad de Concepción, Concepción, Chile**, 1983.

RUBIOLO, P.; BELLIARDO, F.; CORDEIRO, C.; LIBERTO, E.; SGORBINI, B. & BICCHI, C. Headspace–Solid-phase Microextraction Fast GC in Combination with Principal Component Analysis as a Tool to Classify Different Chemotypes of chamomile flower-heads (*Matricaria recutita* L.). **Phytochemical Analysis**, v.17, p.217-225, 2006.

RUIZ, A. L. T. G., TAFARRELO, D., Souza, V.H.S., CARVALHO, J.E. Farmacologia e toxicologia de *Peumus boldus* e *Baccharis genistelloides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.2, 2008.

SÁ, C.G., CARDOSO, K.M.F., FREITAS, R.M., FEITOSA, C.M. Efeito do tratamento agudo do óleo essencial de *Citrus sinensis* (L) Osbeck na aquisição da memória espacial de ratos avaliada no labirinto aquático de Morris. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, p. 211-215, 2012.

SAFAYHI, H., SABIJERAJ, J., SAILER, E.R. & AMMON, H.P. Chamazulene: an antioxidant type inhibitor of leukotriene B4 formation. **Planta Medica**, v.60, pp.410–413, 1994.

SAYYAH, M., VALIZADEH, J., KAMALINEJAD, M. Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole and maximal electroshockinduced seizures. **Phytomedicine**, v.9, n.3, p.212–216, 2002.

SANTOS, L.M., SENS, R. C. V., DIAS, J. F.G., BORSATO, A.V., MIGUEL, O.G., MIGUEL, M.D. Contribuição ao Estudo Alelopático de Água Recuperada de [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert]. **Visão Acadêmica**, v.12, n.1, 2011.

SANTOS, F. A., RAO, V. S. "Antiinflammatory and Antinociceptive Effects of 1,8-Cineole, a Terpenoid Oxide Present in many Plant Essential Oils". **Phytotherapy Research**, v.14 , n.4, p. 240–244, 2000.

SANTOS, F.A. & RAO, V.S.N. 1,8-Cineol, a Food Flavoring Agent, Prevents Ethanol-Induced Gastric Injury in Rats. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 46, n.2, p.331–337, 2001.

SANTOS, P. J., PRATES, H. T., WAQUIL, J. M., OLIVEIRA, A. B. Avaliação de substâncias de origem vegetal no controle de pragas de grãos armazenados. **Pesquisa em andamento, Embrapa, centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo**, v.19, 1997.

SARGENTI, S. R., & LANCAS, F. M. Supercritical fluid extraction of *Peumus boldus* (Molina). **Journal of High Resolution Chromatography**, v.20, pp.511–515, 1997.

SCHMEDA-HIRSCHMANN, G., RODRIGUEZ, J.A., THEODULOZ, C., ASTUDILLO, S.L., FERESIN, G.E., TAPIA, A. Free radical scavengers and antioxidants from *Peumus boldus* Mol. (Boldo). **Free Radicals Research**, v.37, n.4, p.447–452, 2003.

SCHIESTL, F. P., ROUBIK, D. W. "Odor Compound Detection in Male Euglossine Bees". **Journal of Chemical Ecology**, v.29, n.1, p.253–257, 2004.

SCHWANZ, M. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de boldina em *Peumus boldus* Molina (Monimiaceae) e avaliação preliminar de sua estabilidade. 2006. 105 f. Trabalho de conclusão do programa de pós-graduação em Ciências farmaceuticas- Porto Alegre, 2006.

SELL, A. B., CARLINI, E. A. Anesthetic action of methyleugenol and other eugenol derivatives. **Pharmacology**, v.14, n.4, p.367-377, 1976.

SIBANDA, S.; CHIGWADA, G.; POOLE, M.; GWEBU, E.T.; NOLETTO, J.A.; SCHIMIDT, J.M.; REA, A.I. & SATZER, W.N. Composition and bioactivity of the leaf essential oil of *Heteropyxis dehniae* from Zimbabwe. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 107–111, 2004.

SILVA, L.D. Ação Antiespasmódica do Trans-Cariofileno e o Bloqueio de Canais para Ca²⁺ em Músculo Liso Traqueal de Rato. 2010, 95f. Dissertação de Mestrado (Ciências Fisiológicas) - Universidade Estadual do Ceará.

SIMIRGIOTIS, M.J., SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Direct identification of phenolic constituents in Boldo Folium (*Peumus boldus* Mol.) infusions by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v.1217, n.4, pp.443–449, 2010.

SPEISKY, H., CASSELS, B.K. Boldo and boldine: an emerging case of natural drug development. **Pharmacological Research**, v.29, n.1, p.1–10, 1994.

STOJKOVIĆ, D., SOKOVIĆ, M., GLAMOČLIJA, J., DŽAMIĆ, A., RISTIĆ, M., FAHAL, A., KHALID, S., DJUIĆ, I. & PETROVIĆ, S. Susceptibility of three clinical isolates of *Actinomodura madurae* to α -pinene, the bioactive agent of *Pinus pinaster* turpentine oil. **Archives of Biological Science**, v.60, n.4, p.697-701, 2008.

SUN, J "d-Limonene: safety and clinical applications". Alternative medicine review: a **journal of clinical therapeutic**, v.12, n.3, p.259–64, 2007.

TAMURA, H., PADRAYUTTAWAT, A. & TOKUNAGA, T. Seasonal change of volatile compounds of *Citrus sudachi* during maturation. **Food Science Technology Research**, v.5, p.156–160, 1999.

TORRES, M. C. M. Composição química e atividades larvicida, nematocida e antitumoral do óleo essencial das folhas de *Croton regelianus*. **Sociedade Brasileira de Química, USP, São Paulo**, fev. 2007.

TSUDA, H., OHSHIMA, Y., NOMOTO, H., FUJITA, K-I., MATSUDA, E., IIGO, M., TAKASUKA, N., MOORE, M. A. "Cancer Prevention by Natural Compounds". **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v.19, n.4, p.245–63, 2004.

URZÚA, A., SANTANDER, R., ECHEVERRÍA, J., VILLALOBOS, C., PALACIOS, S. M. & ROSSI, Y. Insecticidal Properties of *Peumus boldus* Mol. Essential Oil on the House Fly, *Musca domestica* L., **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.9, n.6, pp.465 – 469, 2010.

VAN DEN DOOL, H. & KRATZ, P.D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471, 1963.

VERDEGUER, M., GARCÍA-RELLÁN, D., BOIRA, H., PÉREZ, E., GANDOLFO, S., & BLÁZQUEZ, M., A. Herbicidal Activity of *Peumus boldus* and *Drimys winterii* Essential Oils from Chile. **Molecules**, v.16, pp.403-411, 2011.

VIANA, M.P. & AVELAR, W.E.P. Ocorrência da espécie invasora *Corbicula fluminea* (Bivalvia, Corbiculidae) no rio Sapucaí (São Paulo, Brasil). **Revista Biotemas**, v.23, n.3, p. 59-66, 2010.

VILA, R., VALENZUELA, L., BELLO, H., CANIGUERAL, S., MONTES, M., & ADZET, T. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Peumus boldus* leaves. **Planta Medica**, v.65, pp.178-179, 1991.

VILA, R., SANTANA A. I., PÉREZ-ROSÉS R.; VALDERRAMA A., CASTELLI M. V., MENDONÇA S., ZACCHINO S., GUPTA M. P. & CAÑIGUERAL S. Composition and biological activity of the essential oil from leaves of *Plinia cerrocampaensis*, a new source of α -bisabolol. **Bioresource Technology**, v.101, pp.2510 – 2514, 2010.

VOGEL, H., GONZÁLEZ, B., RAZMILIC, I. Boldo (*Peumus boldus*) cultivated under different light conditions, soil humidity and plantation density. **Industrial Crops Products**, v.34, p.1310–1312, 2011.

VOGEL, H., RAZMILIC, I., MUNOZ, M., DOLL, U., & SAN MARTIN, J. Studies of genetic variation of essential oil and alkaloid content in boldo (*Peumus boldus*). **Planta Medica**, v.65, p.90–91, 1999.

ZELLNER, B.D., AMORIM, A.C.L., DE MIRANDA, A.L.P., ALVES, R.J.V., BARBOSA, J.P., DA COSTA. G.L. & REZENDE, C.M. Screening of the Odour-Activity and Bioactivity

of the Essential Oils of Leaves and Flowers of *Hyptis Passerina* Mart. from the Brazilian Cerrado. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p.322-332, 2009.