

INFLUÊNCIA DA SECAGEM SOBRE O RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS COMPOSTOS VOLÁTEIS DAS RAÍZES DE *Piper piscatorum* Trel. & Yunck. (PIPERACEAE)

Flávio Araújo Pimentel*

Embrapa Agroindústria Tropical, 60511-110 Fortaleza – CE / Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, 37210-000 Lavras – MG, Brasil

Maria das Graças Cardoso, Milene Aparecida Andrade e Lidiany Mendonça Zacaroni

Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, 37210-000 Lavras – MG, Brasil

Luiz Gustavo de Lima Guimarães

Departamento de Química, Universidade Federal de Lavras, 37210-000 Lavras – MG / Colegiado de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Campus de Gurupi, Universidade Federal do Tocantins, 77402-970 Gurupi – TO, Brasil

Recebido em 17/5/11; aceito em 10/10/11; publicado na web em 4/1/12

INFLUENCE OF DRYING ON THE YIELD AND CHEMICAL COMPOSITION OF VOLATILE COMPOUNDS FROM ROOTS OF *Piper piscatorum* Trel. & Yunck. (PIPERACEAE). In this study, we evaluated the yield and chemical composition of volatile compounds obtained from fresh, dried at 30 and 40 °C respectively of *Piper piscatorum*, employing the technique of hydrodistillation. The volatile were chemically characterized by GC-MS and GC-FID. The main volatile compounds were selin-11-en-4-a-ol ($57,63 \pm 3,07\%$; $53,95 \pm 1,56\%$ and $56,20 \pm 0,43\%$) and benzyl benzoate ($15,40 \pm 0,36\%$; $16,32 \pm 0,85\%$ and $15,04 \pm 0,24\%$). The drying of the raw material reduced yield of volatile compounds, changing their chemical compositions.

Keywords: Piperaceae; volatile compounds; *Piper piscatorum*.

INTRODUÇÃO

No Brasil, plantas têm sido consumidas na sua maioria sem nenhum conhecimento fitoquímico e com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas.¹ Na Amazônia, onde se encontra a grande biodiversidade do planeta, a falta dessas informações também tem dificultado as pesquisas fitogenéticas e fitotécnicas, além de não proporcionar retorno econômico para a população local.²

Alguns pesquisadores têm-se preocupado com a qualidade da matéria-prima na área de plantas aromáticas e medicinais, pois os parâmetros essenciais para a qualidade da matéria-prima podem variar dependendo da procedência do material. Sendo assim, a origem geográfica, as condições de cultivo, o estágio de desenvolvimento, a colheita, secagem e o armazenamento devem ser conhecidos.³

A necessidade de redução imediata do teor de água logo após a colheita torna o processo de secagem uma etapa indispensável, pois permite a inibição da atividade enzimática e o desenvolvimento de micro-organismos, facilitando no armazenamento e transporte.^{4,5}

Estudos etnobotânicos que abordem plantas medicinais presentes na Amazônia, e mais especificamente no Estado do Acre, permitiram levantar centenas de espécies utilizadas pelas comunidades de colonos, seringueiros e indígenas sem nenhum conhecimento das suas composições químicas ou da manipulação adequada da matéria-prima. Entre as plantas utilizadas por estas populações, destaca-se o João-brandim (*Piper piscatorum* Trel. & Yunck.) pertencente à família Piperaceae, predominante na região. As raízes dessa espécie vêm sendo utilizadas principalmente como um veneno usado na pesca, como anestésico nas formas de emplastro, infusão ou pelo uso direto, no combate a dores em geral, com destaque para os problemas odontológicos, em substituição ao tabaco de mascar, muito empregado por vários grupos étnicos na Venezuela e no Brasil.⁶

Apesar dessa propriedade medicinal ser popularmente conhecida na região, e trabalhos publicados sobre *P. piscatorum* nativo da Amazônia Venezuelana⁵ e de outras espécies da família Piperaceae (*P. dariesensis*, *Ottonia corcovadensis*, *Ottonia martiana*, *Ottonia frutescens*, e *P. auritum*) associarem o efeito anestésico com a presença das amidas (pipercolosina, piperovatina, pipercolosidina e cefaradiona),^{7,8} são imprescindíveis estudos fitoquímicos, que envolvam a caracterização química de compostos voláteis e tratamentos da matéria-prima com a espécie *P. piscatorum* nativa do Estado do Acre, para as futuras pesquisas farmacológicas e genéticas.

Tendo em vista a importância dos compostos voláteis de espécies de Piperaceae nativas da região amazônica e do potencial farmacológico apresentados por estas espécies, este trabalho teve como objetivo caracterizar a composição química dos voláteis das raízes de *P. piscatorum* e avaliar o efeito da secagem sobre a mesma e, também, sobre o rendimento dos compostos voláteis.

PARTE EXPERIMENTAL

Coleta do material vegetal

O material genético foi coletado de população nativa de *P. piscatorum* (Trel. Yunck.), situada na Reserva Florestal da Embrapa Acre, localizada no município de Rio Branco, AC. A coleta foi realizada com a planta em estágio de produção contendo flores e frutos, no mês de janeiro/2005, entre 8-10 h da manhã, erradicando as plantas do solo. A temperatura local encontrava-se em torno de 25 °C. Após essa etapa, as plantas foram submetidas às operações de separação e seleção das raízes, descartando-se os materiais atacados por praga ou doenças. Em seguida, o material vegetal foi acondicionado em sacos plásticos colocados em caixas de isopor, sob refrigeração (gelo), sendo transportado via aérea para o Laboratório de Química Orgânica, da Universidade Federal de Lavras, MG. O material foi processado a 24 h da colheita. Para a confirmação da autenticidade da espécie coletada, uma excisada de número 10.473 foi submetida à identificação e o exemplar se encon-

*e-mail: flavio.pimentel@cpat.embrapa.br

tra arquivado no Herbário da Universidade Federal do Acre (UFAC). R. C. Posada, da Universidade de Antioquia, Medellín, Colômbia, foi o botânico que classificou a referida espécie.

Secagem

As raízes frescas de *P. piscatorum* foram submetidas à desidratação em secador de bandejas com circulação de ar, às temperaturas de 30 e 40 °C, por um período de 6 dias. As temperaturas foram selecionadas com base em dados de literatura relacionados à secagem de plantas medicinais e por apresentar nos ensaios de pesquisas preliminares baixíssima quantidade de compostos voláteis.⁹

Umidade

Para a determinação da umidade, utilizaram-se separadamente 5 g de raízes frescas e secas picadas, emergidas em 50 mL de ciclohexano, colocadas em balão volumétrico com capacidade para 250 mL, acoplado a um condensador, com *Dean stark*. O aquecimento foi realizado por meio de manta aquecedora, controlando-se a temperatura para 100 ± 5 °C. Após o processo de destilação, realizado em 3 h, quantificou-se o volume de água presente nas raízes. A umidade foi calculada levando-se o teor de água contido em 100 g da amostra.¹⁰

Extração do óleo essencial

A extração dos compostos voláteis foi realizada por hidrodestilação, utilizando um aparelho Clevenger modificado, acoplado a um balão de fundo redondo com boca esmerilhada com capacidade de 1 L. Nesse balão, foram colocadas separadamente 50 g de matérias-primas frescas e secas à 30 e 40 °C, respectivamente, juntamente com 500 mL de água destilada. O tempo de extração, determinado por meio de testes preliminares, foi de 4 h, contado a partir do momento de ebulição. Os compostos voláteis foram separados da fase aquosa utilizando-se diclorometano (3 x 30 mL). Reuniram-se as frações orgânicas, secou-se com sulfato de sódio anidro, filtrou-se e removeu-se o solvente sob pressão reduzida em evaporador rotatório a 35 °C. A massa de voláteis obtida foi determinada por pesagem em balança analítica com precisão de 0,1 mg. Os voláteis obtidos foram transferidos para frascos de vidro com tampas rosqueáveis (septos de silicone) e armazenados em geladeira a 2 °C, até o momento das análises.⁹⁻¹¹

Análises cromatográficas

As análises qualitativas dos compostos voláteis das raízes frescas e secas de *P. piscatorum* foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, MG, utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM), da marca Shimadzu, modelo QP 5050A. Para a identificação dos constituintes químicos, foi empregada uma coluna DB-5, da marca J & W Scientific, com 30 m de comprimento, d.i. de 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 µm, e hélio como gás carreador. As condições de operação do cromatógrafo a gás foram: pressão interna da coluna de 100 kPa, fluxo de gás na coluna de 1,8 mL min⁻¹, temperatura no injetor de 220 °C, temperaturas no detector ou na interface (CG-EM) de 240 °C. A temperatura inicial da coluna foi de 40 °C por 2 min, seguido de um incremento de 3 °C min⁻¹, até atingir 240 °C, sendo mantida constante por 25 min. A razão de *split* foi de 1:100. O espectrômetro de massas foi programado para realizar leituras em uma faixa de 29 a 600 Da, em intervalos de 0,5 s, com energia de ionização de 70 eV. Foi injetado 1 µL da amostra na concentração de 1%, dissolvida em diclorometano. A identificação dos constituintes

foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da literatura. Para o índice de retenção, foi utilizada a equação de van den Dool e Kratz¹² em relação à série homóloga de n-alcenos (nC8-nC18) e fez-se extrapolações para C19 e C20. Essa identificação também foi feita pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroscopia Willey, 7ª edição.¹³

A quantificação dos componentes foi realizada em um cromatógrafo a gás com detector de ionização de chama (CG-DIC) de marca Shimadzu, modelo GC-17A. As análises foram realizadas em triplicata nas mesmas condições descritas para a identificação dos constituintes, sendo a quantificação de cada constituinte obtida por meio de normalização de áreas (%).

Delineamento experimental e análise estatística

O experimento com compostos voláteis foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições. Utilizaram-se como tratamentos as matérias-primas fresca e seca a 30 e 40 °C. A variável analisada foi rendimento de compostos voláteis (g/100 g da matéria-prima em base seca). Os dados obtidos foram submetidos às análises de variâncias e aos testes de comparações múltiplas de médias (Tukey), utilizando o programa SISVAR.¹⁴ Na análise da composição química, foram determinados para cada constituinte a média e o desvio-padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As raízes frescas de *P. piscatorum* apresentaram teor de umidade de 40 ± 1%. Após 6 dias de secagem a 30 e 40 °C, a umidade foi reduzida para 7 ± 0,5 %.

São mostrados na Tabela 1 os rendimentos de compostos voláteis obtidos de raízes frescas e submetidas a diferentes temperaturas de secagem. Pelos dados, verificou-se a inviabilidade da secagem da matéria-prima para produção desses compostos voláteis com perda de rendimento de 0,25 para 0,12% a partir de 30 °C. Não foram encontrados na literatura dados referentes à influência do processo de secagem para a espécie *P. piscatorum*. No entanto, em várias pesquisas publicadas relatam-se os efeitos da secagem na perda de compostos voláteis. Entre os fatores descritos como causadores da redução estão a temperatura (40 °C) e o tempo de secagem (acima de 48 h) e características da estrutura celular onde os voláteis possam estar armazenados.

Entre as espécies pesquisadas, têm sido encontradas reduções no teor de voláteis com a desidratação - *P. hispidinervum* (25%), *Cymbopogon citratus* (44%), *Chamaemelum nobile* (53%) e *Aillanthus altissima* (76%).^{4,9,15}

No caso das raízes, a diminuição no teor de voláteis do material seco deve-se à perda dos compostos armazenados em estruturas internas, como cavidades secretoras ou células oleíferas, que podem ser arrastadas pelos vapores de água durante o processo de secagem, uma vez que a água pode atuar como solvente, possibilitando a difusão de compostos voláteis com o material seco, e o seu vapor pode atuar como agente carreador dos compostos lipofílicos voláteis.¹⁶ Por outro lado, o processo de secagem pode causar um impacto considerável nas estruturas físicas do material vegetal, o que pode ocasionar a ruptura de tecidos e, consequentemente, de estruturas secretoras, resultando no extravasamento dos compostos presentes em seu interior, incluídos os constituintes voláteis.¹⁷

Os teores e os compostos voláteis identificados de *P. piscatorum* obtidos de raízes frescas e submetidas a diferentes temperaturas de secagem estão apresentados na Tabela 1. Dos compostos voláteis de raízes frescas, foram identificados dezesseis componentes, entre monoterpenos, sesquiterpenos e ésteres, representando 98,69% da

Tabela 1. Rendimento e composição química de compostos voláteis de raízes de *Piper piscatorum* submetidas a diferentes temperaturas do ar de secagem (valores dos componentes expressos em percentual proporcional da área)¹

Componentes	Rendimento (% b.s.) ² IR ³	Tratamentos de secagem		
		Raízes frescas 0,25a	30 °C 0,12b	40 °C 0,12b
timol	1292	1,55 ± 0,21	0,16 ± 0,02	T ⁴
α-copaeno	1374	0,50 ± 0,41	0,42 ± 1,21	0,38 ± 1,33
(E)-cariofileno	1414	0,92 ± 0,15	1,06 ± 0,17	t
Germocreno D	1478	3,08 ± 1,09	2,09 ± 1,15	2,03 ± 1,01
δ-guaieno	1501	3,04 ± 0,20	2,16 ± 0,25	t
β-bisaboleno	1506	0,39 ± 0,08	0,21 ± 0,05	0,36 ± 0,02
(Z,E)-α-farneseno	1509	1,06 ± 0,09	1,10 ± 0,11	1,08 ± 0,14
γ-cadineno	1516	1,44 ± 0,24	1,77 ± 0,10	1,17 ± 0,15
espatulenol	1573	1,61 ± 0,07	2,36 ± 0,05	2,58 ± 0,20
epi-1-cubenol	1622	1,09 ± 0,12	1,37 ± 0,12	1,72 ± 0,14
gonossorol	1639	0,47 ± 0,04	0,09 ± 0,03	0,12 ± 0,02
epi-α-muurolol	1642	0,38 ± 0,03	0,28 ± 0,04	0,67 ± 0,04
epi-α-cadinol	1644	2,67 ± 0,28	3,15 ± 0,09	3,25 ± 0,15
selin-11-en-4-α-ol	1652	57,63 ± 3,07	53,95 ± 1,56	56,20 ± 0,43
heptadecano	1700	7,46 ± 4,05	7,09 ± 2,80	6,25 ± 1,95
benzoato de benzila	1760	15,40 ± 0,36	16,32 ± 0,85	15,04 ± 0,24
Total identificado		98,69 ± 2,32	93,58 ± 1,74	90,85 ± 1,11

¹Médias de três repetições seguidas dos desvios-padrão. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV(%) = 20,43; Média Geral = 0,16. ³Índices de retenção calculados,¹² em ordem crescente de eluição, usando uma coluna capilar apolar DB-5, 30 m. ⁴t –Quantidades traços (< 0,1%).

constituição volátil. Os principais constituintes encontrados foram selin-11-en-4-α-ol (57,63%) e benzoato de benzila (15,40%).

Apesar de não terem sido encontrados na literatura trabalhos com a composição química de compostos voláteis de *P. piscatorum*, a maioria dos constituintes aqui identificados foi encontrada também em outras espécies da família Piperaceae (*Ottonia corcovadensis*, *P. arboreum*, *P. dilatatum*).^{8,18}

Pouco se tem estudado a respeito de compostos voláteis provenientes das raízes de espécies do gênero *Piper*. Por outro lado, muitos estudos relatam a caracterização dos compostos voláteis das folhas de várias espécies de *Piper* encontradas na Floresta Amazônica. O constituinte selin-11-en-4-α-ol foi encontrado entre os compostos voláteis de *P. magnoliifolia* e *P. piresii*,¹⁹ enquanto que o benzoato de benzila foi identificado em *P. dilatatum*.²⁰ Facundo *et al.*²¹ estudando os compostos voláteis das folhas de *P. dumosum* e *P. aleyreanum*, coletadas na região sudeste da Floresta Amazônica, verificaram a presença dos componentes biclogermacreno (16,2%), (E)-cariofileno (15,9%), β-pineno (16,0%) e α-pineno (12,1%) como constituintes majoritários de *P. dumosum* e dos compostos β-pineno (14,4%), isocariofileno (17,5%) e (E)-cariofileno (18,6%) como constituintes majoritários de *P. aleyreanum*. Os compostos guaiol (13,9%), gemacreno D (13,8%), α-pineno (12,5%) e β-pineno (12,3%) foram encontrados como constituintes majoritários entre os compostos voláteis de *P. renitens*, nativa da Floresta Amazônica.²² Estudos com compostos voláteis dos frutos e das folhas de *P. divaricatum*, coletados em dois meses distintos, encontraram linalol (23,4-29,7%), β-pineno (19,9-25,3%) e α-pineno (9,0-18,8%) como constituintes majoritários das folhas de *P. divaricatum*.²³ Apesar de estas espécies apresentarem altos teores de monoterpenos, como α e β-pineno, verifica-se a presença de vários outros compostos como constituintes majoritários, demonstrando uma grande variação na

composição química de voláteis de espécies do gênero *Piper*, podendo ser encontrados compostos como monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides, ésteres entre outros.

Os tratamentos de secagem (a 30 e 40 °C) contribuíram para variações quantitativas da composição química, com pequenas oscilações nos teores dos componentes majoritários selin-11-en-4-α-ol e benzoato de benzila. Maiores perdas foram detectadas com a secagem da matéria-prima a 40 °C, sobre os constituintes minoritários, timol e (E)-cariofileno.

CONCLUSÕES

A realização da secagem de raízes de *P. piscatorum*, por um período de 6 dias com temperaturas até 40 °C, resultou em redução de 52% no teor de voláteis em relação ao obtido com matéria-prima fresca.

Na composição química verificou-se que os teores dos constituintes majoritários selin-11-en-4-α-ol e benzoato de benzila não obtiveram diferenças significativas com o processo de secagem.

Considerando os hábitos da população em utilizar as raízes frescas desta espécie nas formas de infusão e pelo uso direto no combate a problemas odontológicos, a presença do benzoato de benzila poderá trazer sérios problemas para os consumidores desta piperaceae. Este constituinte químico, que é indicado para tratamentos de escabiose, pediculose e fitiríase, pode provocar irritações de mucosas, pele e olhos. A sua ingestão ou inalação pode estimular o sistema nervoso central, provocando vertigens e convulsões.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa - Acre, ao Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento

Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Apoio à Pesquisa e Extensão de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo auxílio financeiro e bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

1. Maciel, M. A. M.; Pinto, A. C.; Veiga Junior, V. F.; Grynberg, N. F.; Echevaria, A.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 429; Veiga Junior, V. F.; Pinto, A. C.; *Quim. Nova* **2005**, *28*, 519.
2. Ming, L. C.; *Tese de Doutorado*, Universidade Estadual Julho de Mesquita Filho, Brasil, 1995.
3. Guerra, M. P.; Nodari, R. O. Em *Farmacognosia: da planta ao medicamento*; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; 5ª ed., UFSC/UFGRS: Porto Alegre, 2007, cap. 1.
4. Costa, L. C. B.; Corrêa, R. M.; Cardoso, J. C. W.; Pinto, J. E. B. P.; Bertolucci, S. K. V.; Ferri, P. H.; *Hort. Bras.* **2005**, *23*, 956.
5. Venskutonis, P. R.; *Food Chem.* **1997**, *59*, 219.
6. McFerren, M. A.; Rodríguez, E.; *J. Ethnopharmacol.* **1998**, *60*, 183; McFerren, M. A.; Cordova, D.; Rodriguez, E.; Rauh, J. J.; *J. Ethnopharmacol.* **2002**, *83*, 201.
7. Gupta, M. P.; *Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* **2004**, *70*, 839; Cunico, M. M.; Miguel, O. G.; Miguel, M. D.; Carvalho, J. L. S.; Peitz, C.; Auer, C. G.; Júnior, G.; *Visão Acad.* **2003**, *4*, 77; Makapugay, H. C.; Doejarto, D. D.; Kinghorn, A. D.; Bordas, E.; *J. Ethnopharmacol.* **1983**, *7*, 235; Lans, C.; Harper, T.; Georges, K.; Bridgewater, E.; *Complement. Altern. Med.* **2001**, *1*, 10.
8. Facundo, V. A.; Morais, S. M.; Braz-Filho, R.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 79.
9. Barbosa, F. F.; Barbosa, L. C. A.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1221.
10. AOCS Official Method Da2b-42.; *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society*, 4th ed., American Oil Chemists Society: Champaign, 1994; Pimentel, F. A.; Cardoso, M. G.; Salgado, A. P. S. P.; Aguiar, P. M.; Silva, V. F.; Morais, A. R.; Nelson, D. L.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 373.
11. Craveiro, A. A.; Fernandes, A. G.; Andrade, C. H. S.; Matos, F. J. A.; Alencar, J. W.; Machado, M. I. L.; *Óleos essenciais de plantas do Nordeste*, UFC: Fortaleza, 1981.
12. van den Dool, H.; Kratz, P. D. J.; *J. Chromatogr.* **1963**, *11*, 463.
13. Adams, R. P.; *Identification of essential oil components by Gas Chromatography Mass Spectroscopy*, 4th ed., Allured Publishing Corporation: Illinois, 2007.
14. Ferreira, D. F.; *Sistema para análise de variância para dados balanceados (SISVAR)*, UFPA: Lavras, 1999.
15. Lewinsohn, E.; Duda, I. N.; Tadmor, Y.; Katzir, I.; Ravid, U.; Utievsky, E.; Joel, D. M.; *Ann. Bot.* **1998**, *81*, 35; Mastelic, J.; Jerkoic, I.; *Croat. Chem. Acta* **2002**, *75*, 189; Braga, N. P.; Cremasco, M. A.; Valle, R. C. R.; *14th International Drying Symposium*, São Paulo, Brasil, 2004; Omidbaigi, R.; Selfd Kon, F.; Kazemi, F.; *Flav. Frag. J.* **2004**, *19*, 196; Radüinz, L. L.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 2004.
16. Figiel, A.; Szumny, A.; Gutiérrez-Ortiz, A.; Carbonell-Barrachina, A. A.; *J. Food Eng.* **2010**, *98*, 240.
17. Ratti, C.; *J. Food Eng.* **2001**, *49*, 311.
18. Machado, S. M. F.; Militão, J. S. L. T.; Facundo, V. A.; Ribeiro, A.; Morais, S. M.; Machado, M. I. L.; *J. Essent. Oil Res.* **1994**, *6*, 643; Cysne, J. B.; Canuto, K. M.; Pessoa, O. D. L.; Nunes, E. P.; Silveira, E. R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1378.
19. Maia, J. G. S.; Andrade, E. H. A.; *Quim. Nova* **2009**, *32*, 595.
20. Andrade, E. H. A.; Guimarães, E. F.; Maia, J. G. S.; *Variabilidade química em óleos de espécies de piper da Amazônia*, 1ª Ed., FEQ/UFPA: Belém, 2009.
21. Facundo, V. A.; Ferreira, S. A.; Morais, S. M.; *J. Essent. Oil Res.* **2007**, *19*, 165.
22. Soleane, H.; Azevedo, M. S.; Facundo, V. A.; Rover, M.; Anjos, O. S.; Slana, G. B. C. A.; Barreto, A. S.; *J. Essent. Oil Res.* **2007**, *19*, 557.
23. Almeida, J. G. L.; Silveira, E. R.; Pessoa, O. D. L.; Nunes, E. P.; *J. Essent. Oil Res.* **2009**, *21*, 228.